

**Ana Margarida Mendes Romão**

**Relação entre a Alpha-fetoproteína, Doença  
Hepática Crónica e Carcinoma Hepatocelular, e  
estudo imagiológico tumoral**

**Tese de Mestrado em Medicina  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Universidade da Beira Interior**

Orientador: Dr. Carlos Manuel Casteleiro Alves  
Professor Associado na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira  
Interior  
Director do Serviço de Gastrenterologia do CHCB – Pêro da Covilhã

Junho 2009

*“What the mind of man can conceive and believe, it can achieve.”*

Napoleon Hill, (1883 – 1970)

## **Abstract**

Gastrointestinal illnesses are among the most common diseases worldwide. According to the Centre of Prevention and Control of Illnesses of the United States of America, the incidence of gastrointestinal tumors is very raised (105,3 cases for 100.000 habitants), being this device only surpassed by the tumors in the masculine genital system (151,6 cases for 100.000 habitants), for the year of 2004. <sup>(1)</sup>

Hepatocellular carcinoma is the commonest primary malignant tumor of the liver and one of the most common tumors in the world; it's the fifth most common cancer in men and the eighth most common in women, and it ranks fourth in annual cancer mortality rates. It has a clear geographic distribution, related with the incidence of the infection for the hepatitis B virus. Men are generally more susceptible than women; male predominance is more obvious in populations at high risk for the tumor (mean male-to-female ratio, 3.7:1.0) than those at low or intermediate risk (mean male-to-female ratio, 2.4:1.0). <sup>(2)</sup>

Cirrhosis is the irreversible final result of continuous hepatic aggressions, of diverse nature and cause, that had had, most of the time, chronic course; is marked by inflammatory and hepatocellular degenerative alterations, with septal formation and fibrosis. In Portugal is mainly caused by continued and chronic intake of alcohol. In its true essence, it has a nodular parenchymal transformation, with vascular alterations. <sup>(3)</sup>

Alpha-fetoprotein is normally formed by immature hepatic cells in the embryo; at birth, children have relatively high levels of this protein, that fall for normal levels of the adult (inferior than 10 ng/ml), per the first year of life. In adults, high levels (superior than 500 ng/ml) are seen in cases of hepatocellular carcinoma, tumors of the germinative cells (testicules and ovaries) and hepatic metastasis.

With this research work, it was intended to correlate and evaluate the circulating value of alpha-fetoprotein with the shown tumoral size (hepatic ultrasonography, computerized tomography or nuclear magnetic resonance) at the moment of the diagnosis; to demonstrate that the structure of the circulating alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma is different from that finding in patients with chronic hepatic disease. The main goals had been 1) to evaluate the value of the circulating alpha-fetoprotein in people with hepatocellular carcinoma, in the region, 2) to correlate the circulating value of alpha-fetoprotein with the tumoral size visualized by image techniques at the moment of diagnosis and 3) to evaluate if the circulating alpha-fetoprotein in the people with hepatocellular carcinoma possess superior percentages of some fractions (AFP L3 e AFP P4+P5) in relation to people with chronic hepatic disease without hepatocellular carcinoma. It was also intended to make one brief theoretical revision on these pathologies. To do so, an electronic research was made, using Pub Med, Medline, Medscape, Google Scholar and Cochrane, from which some articles were selected for the elaboration of this thesis. Still a bibliographical research in the main books of the specialty was made. After careful evaluation, the main results were that alpha-fetoprotein is raised in about 75% of the people with hepatocellular carcinoma. <sup>(2)</sup> It was intended to make a qualitative analysis of the alpha-fetoprotein, by ways that it could be possible to predict which of these pathologies would develop, being able to act precociously, before the complete development of these.

### **Key Words**

Alpha-fetoprotein, hepatocelular carcinoma, chronic hepatic disease, L. culinaris agglutinin A-reactive alpha-fetoprotein (alpha-fetoprotein L3), Erythroagglutinating phytohemagglutinin- reactive alpha-fetoprotein (alpha-fetoprotein P4+P5).

## Resumo

As doenças do aparelho gastrointestinal estão entre as mais frequentes, a nível mundial. Segundo o Centro de Prevenção e Controlo de Doenças dos Estados Unidos da América, a incidência de tumores gastrointestinais é muito elevada (105,3 casos por 100.000 habitantes), sendo este aparelho apenas superado pelos tumores no sistema genital masculino (151,6 casos por 100.000 habitantes), para o ano de 2004. <sup>(1)</sup>

O carcinoma hepatocelular é o tumor maligno primário do fígado mais comum e um dos tumores mais comuns no mundo; é o quinto tumor mais frequente nos homens e o oitavo mais frequente nas mulheres, residindo em quarto em relação às taxas de mortalidade anuais por cancro. Tem uma clara distribuição geográfica, relacionada com a incidência da infecção pelo vírus da hepatite B. Este tumor atinge mais frequentemente os homens, sendo esta predisposição mais óbvia em populações de alto risco (razão homem-mulher, 3.7:1.0) do que em populações de risco baixo ou intermédio (razão homem-mulher, 2.4:1.0). <sup>(2)</sup>

A cirrose é o resultado final irreversível de contínuas agressões hepáticas, de natureza e causa diversas, que tiveram, na maioria das vezes curso crónico; é marcada por alterações degenerativas hepatocelulares e inflamatórias, com a formação de fibrose e septos. Em Portugal é maioritariamente causada pela ingestão contínua e crónica de álcool. Na sua verdadeira essência, há uma transformação nodular do parênquima, com alterações vasculares. <sup>(3)</sup>

A alpha-fetoproteína é normalmente formada por células hepáticas imaturas no feto; ao nascimento as crianças têm níveis relativamente altos desta proteína, que caem para níveis normais do adulto (inferior a 10 ng/ml), pelo primeiro ano de vida. Em adultos, níveis elevados (superior a 500 ng/ml) são vistos em casos de carcinoma hepatocelular, tumores das células germinativas (testículos e ovários) e metástases hepáticas.

Com este trabalho de investigação, pretendeu-se relacionar e avaliar o valor de alpha-fetoproteína circulante com o tamanho tumoral exibido imagiologicamente (ecografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética nuclear hepáticas), no momento do diagnóstico; pretendeu-se ainda demonstrar que a estrutura da alpha-fetoproteína circulante em pacientes com hepatocarcinoma é diferente daquela encontrada em pacientes com doença hepática crónica. Os principais objectivos foram 1) avaliar o valor da alpha-fetoproteína circulante em doentes com carcinoma hepatocelular, na região, 2) relacionar o valor de alpha-fetoproteína circulante com o tamanho tumoral visualizado imagiologicamente no momento do diagnóstico e 3) avaliar se a alpha-fetoproteína circulante nos doentes com carcinoma hepatocelular, possui percentagens superiores de determinadas fracções (AFP L3 e AFP P4+P5) em relação aos doentes com doença hepática crónica sem carcinoma hepatocelular. Pretendeu-se ainda fazer uma breve revisão teórica sobre estas patologias. Para isso, efectuou-se uma pesquisa electrónica no PubMed, Medline, Medscape, Google Scholar e Cochrane, tendo-se seleccionado alguns artigos para a elaboração desta tese. Foi ainda feita uma pesquisa bibliográfica nos principais livros da especialidade. Após análise destes, observou-se que a alpha-fetoproteína está elevada em cerca de 75% dos doentes com carcinoma hepatocelular. <sup>(2)</sup> Pretendeu-se fazer uma análise qualitativa da alpha-fetoproteína, de modo que fosse possível prever qual destas patologias se iria desenvolver, podendo actuar precocemente, antes do completo desenvolvimento destas.

### **Palavras-chave**

alpha-fetoproteína, carcinoma hepatocelular, doença hepática crónica, L. culinaris agglutinin A-reactive alpha-fetoprotein (alpha-fetoprotein L3), Erythroagglutinating phytohemagglutinin-reactive alpha-fetoprotein (alpha-fetoprotein P4+P5)

## AGRADECIMENTOS

- **Ao Dr. Carlos Casteleiro Alves**, professor na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade da Beira Interior, director do Serviço de Gastrenterologia do Centro Hospitalar Cova da Beira, Licenciado pela Faculdade de Medicina de Lisboa, por toda a dedicação, disponibilidade, interesse e tempo dispendido na realização desta tese.
- **Ao Dr. José Luís**, microbiologista no Centro Hospitalar Cova da Beira, por todo o empenho e ajuda prestados.
- **À Dr.<sup>a</sup> Célia Vicente**, assistente de Gastrenterologia no Centro Hospitalar Cova da Beira, pela disponibilidade e simpatia demonstradas.
- **Ao Dr. Rui Ramos**, médico interno de Gastrenterologia, e **Dra. Joana Mascarenhas**, nutricionista, no Centro Hospitalar Cova da Beira, pela dedicação, simpatia e disponibilidade que sempre demonstraram.
- **Ao secretariado do serviço de Gastrenterologia do CHCB**, por toda a simpatia, disponibilidade e ajuda que prestaram ao longo de todos estes meses de trabalho.
- **Aos meus amigos e colegas de curso**, em particular à Magda Madeira e ao Nuno Azevedo, por serem aqueles amigos sempre presentes, incondicionalmente.
- **Aos meus pais**, que sempre foram a minha força interior, sempre me apoiaram e me inculcaram pensamentos positivos e estiveram “ao meu lado” não só durante a realização desta tese, como em todos os momentos da minha vida.
- **Ao meu namorado João**, que é e sempre foi o meu porto seguro nesta cidade até então desconhecida, pela compreensão, paciência e ajuda intermináveis.

## ABREVIATURAS USADAS

- AFP – Alpha-fetoproteína
- AFP L3 – Alpha-fetoproteína L. culinaris agglutinin A-reactive
- AFP P4+P5 – Alpha-fetoproteína Erythroagglutinating phytohemagglutinin-reactive
- ALT – Alanina Aminotransferase
- AST – Aspartato Aminotransferase
- CAF – Cirrose Alcoólica do Fígado
- CHC – Carcinoma Hepatocelular
- EGF – Factor de Crescimento Epidermóide
- FA – Fosfatase Alcalina
- GGT –  $\gamma$ -Glutamiltransferase
- GOT – Transaminase Glutâmica-oxaloacética
- GPT – Transaminase Glutâmica-pirúvica
- IGF – Factor de Crescimento tipo Insulina
- PDGF – Factor de Crescimento Derivado das Plaquetas
- PT – Tempo de Protrombina
- PTT – Tempo de Tromboplastina Parcial
- RMN – Ressonância Magnética Nuclear
- TC – Tomografia Computorizada
- TGF- $\alpha$  – Factor de Crescimento Tumoral  $\alpha$
- TGF- $\beta$ 1 – Factor de Crescimento Tumoral  $\beta$ 1
- VHB – Vírus da Hepatite B
- VHC – Vírus da Hepatite C

## ÍNDICE ANALÍTICO

<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>1</b>
<b>ABREVIATURAS USADAS</b>	<b>2</b>
<b>ÍNDICE ANALÍTICO</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS</b>	<b>4</b>
<b>I. INTRODUÇÃO</b>	<b>6</b>
<b>I.A. Relevância do tema e justificação do título</b>	<b>6</b>
<b>I.B. Objectivos da tese</b>	<b>6</b>
<b>II. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>8</b>
<b>III. DESENVOLVIMENTO</b>	<b>10</b>
<b>III.A. Doença Hepática Crônica (Cirrose)</b>	<b>10</b>
1. Epidemiologia	10
2. Etiologia e Patogenia	11
3. Quadro Clínico	14
4. Diagnóstico	16
5. Tratamento e Prognóstico	19
<b>III.B. Carcinoma Hepatocelular</b>	<b>24</b>
1. Epidemiologia	24
2. Etiologia e Patogenia	26
3. Quadro Clínico	30
4. Diagnóstico	33
5. Tratamento e Prognóstico	39
<b>III.C. Alpha-fetoproteína (AFP)</b>	<b>42</b>
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>43</b>
<b>V. DISCUSSÃO</b>	<b>62</b>
<b>VI. CONCLUSÕES</b>	<b>65</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>68</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	<b>71</b>

## ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1. Patogénese da fibrose hepática. (5)	13
Tabela 1. Características clínicas importantes na doença hepática crónica.	14
Tabela 2. Relação entre as manifestações clínicas e as alterações funcionais na doença hepática crónica. (8)	15
Tabela 3. Classificação de Child-Pugh no prognóstico da cirrose. (5)	22
Tabela 4. Sobrevivência na cirrose relacionada com o grau na Classificação de Child-Pugh e dano hepático. (5)	23
Figura 2. Incidência de CHC em diferentes partes do mundo. (2)	24
Tabela 5. Factores de risco no desenvolvimento de CHC. (2)	26
Tabela 6. Sinais e sintomas mais frequentes no CHC (2)	31
Tabela 7. Sensibilidade, especificidade e comentários sobre os marcadores tumorais utilizados no diagnóstico de CHC (2)	35
Tabela 8. Classificação de Barcelona no estadiamento de CHC. (9)	38
Tabela 9. Opções terapêuticas no âmbito do CHC. (2)	40
Tabela 10. Dados relativos a doentes com CHC, no CHCB, entre 2003 e 2008.	45
Tabela 11. Distribuição por sexo dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	46
Gráfico 1. Distribuição por sexo dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	46
Tabela 12. Distribuição por idade dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	46
Gráfico 2. Distribuição etária dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	47
Tabela 13. Valores de AFP nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	47
Gráfico 3. Valores de AFP nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	48
Tabela 14. Etiologias mais frequentes nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	48
Gráfico 4. Distribuição das etiologias mais frequentes dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	49
Tabela 15. Tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	49
Gráfico 5. Tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	50
Tabela 16. Relação entre os valores de AFP e a etiologia tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	50
Gráfico 6. Relação entre os valores de AFP e a etiologia tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	51

Tabela 17. Relação entre os valores de AFP e a dimensão tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	51
Gráfico 7. Relação entre os valores de AFP e o tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	52
Tabela 18. Relação entre os valores de AFP e o tamanho tumoral em doentes com CHC, entre 2003 e 2008.	52
Tabela 19. Dados relativos a doentes com CAF em 2008.	53
Tabela 20. Distribuição por sexo dos doentes com CAF, no ano de 2008.	55
Gráfico 8. Distribuição por sexo dos doentes com CAF, em 2008.	55
Tabela 21. Distribuição etária relativa a doentes com CAF, em 2008.	55
Gráfico 9. Distribuição etária dos doentes com CAF, no ano de 2008.	56
Tabela 22. Valores de AFP em doentes com CAF, em 2008.	56
Gráfico 10. Valores de AFP em doentes com CAF, em 2008.	57
Tabela 23. Relação dos valores de AFP com a presença de CHC ou de CAF.	58
Gráfico 11. Relação entre os valores de AFP e a presença de CHC ou CAF.	59
Tabela 24. Relação entre as faixas etárias e a presença de CHC ou CAF.	59
Gráfico 12. Relação entre as faixas etárias e a presença de CHC ou CAF.	60
Tabela 25. Relação entre género e presença de CHC ou CAF.	60
Gráfico 13. Relação entre género e presença de CHC ou CAF.	61

## **I. Introdução**

### **I.A. Relevância do tema e justificação do título desta tese**

Actualmente sabe-se que a grande maioria (75%) dos doentes com carcinoma hepatocelular (CHC) possui níveis elevados de alfafetoproteína sérica (AFP > 10 ng/ml), mesmo antes da lesão ser imagiologicamente evidente.

Com o desenvolvimento deste trabalho, cujo título é “Relação entre Alpha-fetoproteína, Doença Hepática Crónica e Carcinoma Hepatocelular, e estudo imagiológico tumoral”, pretendeu-se relacionar o tamanho tumoral visualizado imagiologicamente com o valor apresentado de AFP circulante; pretendeu-se ainda avaliar se a cadeia de AFP circulante nos pacientes com doença hepática crónica é diferente daquela que circula nos doentes com CHC.

### **I.B. Objectivos da tese**

Com a realização deste trabalho de investigação pretende-se:

- (1) Avaliar a relação entre os níveis de AFP sérica e o consequente desenvolvimento de doença hepática crónica;
- (2) Estabelecer uma relação entre os níveis de AFP sérica e o consequente desenvolvimento de CHC;
- (3) Relacionar o tamanho tumoral visualizado imagiologicamente com o valor apresentado de AFP circulante;

- (4) Avaliar se determinadas fracções de AFP circulante (L3 e P4+P5) são diferentes consoante a patologia seja doença hepática crónica ou CHC.

Além destes objectivos, pretende-se ainda:

- (5) Realizar uma breve revisão teórica sobre:
- a. Doença Hepática Crónica;
  - b. Carcinoma Hepatocelular;
  - c. Alpha-fetoproteína.

## II. Materiais e Métodos

Foi efectuada uma pesquisa electrónica em várias bases de dados: PubMed, Medline, Medscape e Google Scholar. A pesquisa foi realizada utilizando essencialmente as palavras: Doença Hepática Crónica, Cirrose, Carcinoma Hepatocelular e Alphafetoproteína.

Na base de dados Google Scholar foi encontrado um artigo sobre “Early Recognition of Hepatocellular Carcinoma based on altered profiles of alphafetoproteína”, o qual serviu de base para o início de desenvolvimento desta tese.

Foi realizada uma pesquisa electrónica no site do jornal de Gastroenterologia do Instituto AGA, onde foi também encontrado um estudo subordinado ao tema “Alpha-fetoprotein, Des-gamma Carboxyprothrombin, and Lectin-Bound Alpha-fetoprotein in Early Hepatocellular Carcinoma: AFP, DCP, and AFP-L3 in Hepatocellular carcinoma”. É de realçar o contributo do orientador no acesso a artigos mais completos, aos quais não se tem acesso directo.

Foi pedida autorização para a consulta de processos clínicos no Serviço de Gastreenterologia do Centro Hospitalar Cova da Beira. Foram analisados 135 processos relativos a doentes com as patologias descritas anteriormente, sendo 35 relativos a doentes com diagnóstico de CHC e os restantes 100 relativos a doentes com Cirrose Alcoólica do Fígado (CAF).

Foram colhidos dados relativos à idade e sexo dos pacientes com as referidas patologias, de modo a ser feito um estudo estatístico.

Com a análise dos processos, pretendeu-se avaliar os níveis de AFP sérica circulante nestes pacientes; sempre que os dados estavam disponíveis, foram colhidos valores antes e depois do diagnóstico ter sido efectuado. Além disso, foram pesquisados os meios imagiológicos realizados antes do diagnóstico de carcinoma hepatocelular (ecografia, TC ou RMN abdominais) e recolhidos os respectivos tamanhos tumorais, de modo a correlacioná-los com o valor de AFP circulante, no momento do diagnóstico.

Foi ainda colhido sangue a 2 doentes com o diagnóstico de carcinoma hepatocelular e outros 6 com diagnóstico de cirrose hepática; estas amostras foram centrifugadas e armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ , sendo posteriormente enviadas para o laboratório da Wako Chemicals, em Neuss na Alemanha. Este laboratório dispôs-se a realizar a análise qualitativa da AFP sérica destes 8 doentes (seguem em anexo os respectivos e-mails).

Quanto aos **métodos estatísticos** utilizados, os dados recolhidos dos processos clínicos relativos a idade, sexo, valor de AFP, tamanho tumoral e etiologia tumoral, foram introduzidos no programa *Epi Info*<sup>®</sup> de modo a realizar um estudo estatístico dos mesmos. Foram posteriormente introduzidos no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>, para o tratamento gráfico dos dados.

## III. DESENVOLVIMENTO

### III.A. Doença Hepática Crónica (Cirrose)

#### 1. Epidemiologia

A cirrose é a nona principal causa de morte por doença nos Estados Unidos sendo responsável por 1,2% de todas as mortes nesse país (35.000 mortes/ano).<sup>(4)</sup>

De uma forma geral, as doenças hepáticas são causas muito comuns de morbidade e de mortalidade mundiais. Tem uma incidência superior nos homens, com excepção da cirrose biliar primária e da ocasionada por hepatite crónica auto-imune, nas quais o predomínio é feminino.<sup>(5)</sup> O consumo crónico de álcool e a infecção pelo vírus da hepatite C (VHC) são, actualmente, as causas mais frequentes de doença hepática crónica, nos Estados Unidos<sup>(4)</sup>; verifica-se o mesmo em Portugal, embora haja um claro predomínio da etiologia associada ao álcool.

O vírus da hepatite B (VHB) é uma das infecções virais crónicas mais comuns no Mundo, sendo responsável por um a dois milhões de mortes anuais. Nos países desenvolvidos é relativamente pouco comum.<sup>(6)</sup>

Cerca de 2,7 milhões de pessoas nos EUA têm infecção crónica pelo VHC. Ao contrário do VHB, a infecção com hepatite C não está essencialmente confinada aos países em desenvolvimento, com 0,3 a 0,7 % da população do Reino Unido infectada.<sup>(7)</sup>

## 2. Etiologia e Patogenia

De uma forma geral, qualquer condição que leve à lesão persistente ou recorrente dos hepatócitos pode levar ao desenvolvimento de cirrose; estas condições podem ser denominadas dos seguintes modos:

- Infecções
  - Hepatite a vírus B ou C
  - Sífilis congénita
- Drogas e agentes químicos
  - Ingestão contínua de álcool
  - Metotrexato, venenos vegetais, halotano
- Obstrução biliar
- Cirrose biliar secundária
- Congestão passiva
  - Cirrose congestiva (Síndrome de Budd-Chiari)
- Distúrbios nutricionais
- Congénitas
  - Telangiectasia hemorrágica hereditária (Rendu-Osler-Weber)
  - Erros metabólicos congénitos
    - Doença de Wilson
    - Deficiência de alfa-1-antitripsina
    - Galactosemia
    - Glicogenose tipo IV
    - Tirosinémia
    - Intolerância à frutose
    - Hipermetioninemia
    - Cirrose biliar incompleta secundária à fibrose quística
    - Hemocromatose
    - Talassémia
- Etiologia desconhecida
  - Cirrose criptogénica
  - Cirrose biliar primária
  - Cirrose sarcóide

A cirrose também pode ser causada por doença hepática gorda não alcoólica; em todo o mundo as causas mais frequentes são a ingestão acentuada e crónica de álcool e as infecções virais. <sup>(3)</sup>

Em relação à patogenia, a cirrose origina-se a partir de lesões hepáticas de natureza e causa diversas, as quais tiveram, na maioria das vezes curso crónico, marcado por alterações degenerativas hepatocelulares e inflamatórias, durante o qual se foram formando septos. Esses septos vão unindo espaços portais e veias centrolobulares, dissecando o parênquima e dividindo-o em partes isoladas. O impulso regenerativo leva a um crescimento concêntrico destas partes isoladas, completando-se a transformação nodular do parênquima, verdadeira essência da cirrose. As veias aferentes e eferentes englobadas nos septos, comunicam-se por vasos anastomóticos que as unem, roubando parte do sangue portal ao parênquima. Os nódulos comprimem as veias eferentes, estenosando-as, contribuindo para a hipertensão portal. Estas alterações circulatórias importantes respondem muitas vezes pelas suas manifestações e até pela sua incurabilidade. <sup>(3)</sup>

Durante a patogénese da fibrose hepática (figura 1) há uma activação das células hepáticas estreladas em células tipo miofibroblasto activadas; a activação destas células estreladas ocorre por influência de factores celulares (citocinas) libertados por diferentes tipos celulares. Os hepatócitos lesados libertam produtos lipídicos de peróxido, factor de crescimento tipo insulina (IGF) e factor de crescimento tumoral  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ); as plaquetas activadas libertam o factor de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), o factor de crescimento tumoral  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) e o factor de crescimento epidermóide (EGF). As células de Kupffer activadas também libertam PDGF e TGF- $\beta$ 1, tal como um factor ainda não caracterizado de 5000 mw, que activa as células estreladas.



### 3. Quadro Clínico

Há uma grande variabilidade clínica, podendo a cirrose ser completamente assintomática ou manifestar-se apenas com hepatomegália. Como manifestações clínicas frequentes podemos destacar: fraqueza, fadiga, espasmos musculares, perda de peso e sintomas digestivos não específicos (anorexia, náuseas, vômitos, desconforto e distensão abdominais). As características clínicas mais importantes são expostas na tabela 1.

<b><u>Características Clínicas Importantes</u></b>
Hepatomegália (embora o tamanho possa ser reduzido com a fibrose progressiva)
Icterícia (hiperbilirrubinemia)
Ascite (hipoalbuminemia)
Alterações circulatórias (aranhas vasculares, eritema palmar, cianose)
Alterações endócrinas (perda da libido, perda de cabelo)
<ul style="list-style-type: none"><li>• Homens: ginecomastia, atrofia testicular, impotência</li><li>• Mulheres: atrofia mamária, alterações menstruais, amenorreia</li></ul>
Tendência a hemorragias (hematomas, púrpura, epistaxis, menorragia)
Hipertensão Portal (esplenomegália, vasos colaterais, hemorragia de varizes esofágicas)
Encefalopatia Hepática (portossistêmica)
Outras: pigmentação, prurido, febrícula, dedos em baqueta de tambor

Tabela 1. Características clínicas importantes na doença hepática crônica.

As manifestações clínicas devem-se essencialmente à insuficiência hepática e à hipertensão portal. <sup>(5)</sup>

Podemos relacionar as manifestações clínicas apresentadas com as alterações funcionais típicas da doença hepática crónica. <sup>(8)</sup>

<b>Sinais e Sintomas</b>	<b>Patogénese</b>
<b><u>Constitucionais</u></b> Fadiga, anorexia, perda de peso	Disfunção hepática
<b><u>Cutâneos</u></b> Aranhas vasculares, eritema palmar, icterícia	Alteração no metabolismo dos estrogénios/androgénios Diminuição da excreção de bilirrubina
<b><u>Endócrinos</u></b> Ginecomastia, atrofia testicular, diminuição da libido	Alteração no metabolismo dos estrogénios/androgénios
<b><u>Gastrointestinais</u></b> Dor abdominal Distensão abdominal Hemorragia Gastrointestinal	Hepatomegália, CHC Ascite Hemorragia das varizes
<b><u>Hematológicos</u></b> Anemia, leucopenia, trombocitopenia, equimoses	Hiperesplenismo Diminuição na síntese de factores de coagulação
<b><u>Neurológicos</u></b> Alteração no padrão do sono, sonolência, confusão, asterixis	Encefalopatia Hepática

Tabela 2. Relação entre as manifestações clínicas e as alterações funcionais na doença hepática crónica. <sup>(8)</sup>

De uma forma geral são estas as manifestações mais tipicamente apresentadas, podendo ocorrer outras menos frequentemente, tais como: derrames pleurais, diarreia, náuseas e vómitos. <sup>(3)</sup>

#### 4. Diagnóstico

O diagnóstico deve ser guiado pela presença de factores de risco e confirmado pelo exame objectivo, análises sanguíneas e técnicas imagiológicas. Quando há sinais de hepatomegália, fluxo sanguíneo hepático diminuído ou ascite, deve ser pedida uma ecografia abdominal, uma Tomografia Computorizada (TC) ou uma Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A biópsia confirma o diagnóstico mas nem sempre é necessária. Esta é realizada quando o resultado pode ter impacto no tratamento. <sup>(3)</sup>

Um importante auxílio é dado pelos testes de função e lesão hepáticas, testes estes precisos e sensíveis. Um painel hepático típico de testes para a avaliação inicial inclui:

- Transaminase Glutâmica-oxaloacética (GOT), Aspartato aminotransferase (AST);
- Transaminase Glutâmica-pirúvica (GPT), Alanina aminotransferase (ALT);
- Fosfatase alcalina (FA);
- $\gamma$ -Glutamyltransferase (GGT);
- Bilirubina sérica total e directa;
- Proteínas, albumina;
- Tempo de Protrombina (PT);
- Tempo de Tromboplastina parcial (PTT);
- Contagem de plaquetas.

A GOT ou AST eleva-se mais frequente e significativamente que a GPT ou ALT, embora ambas possam conservar-se normais em qualquer fase da doença. As transaminases têm mais tendência a elevar-se na cirrose de etiologia infecciosa (hepatite).

A FA encontra-se elevada na grande maioria dos casos, geralmente de forma moderada.

Esta elevação pode ser devida, muitas vezes, à associação com carcinoma hepatocelular.

A GGT eleva-se na maioria dos casos de cirrose, não raramente de forma acentuada; tal como as transaminases, a elevação da GGT não é indicativa da gravidade da doença.

A hiperbilirrubinémia traduz, muitas vezes, deficit funcional hepático podendo, no entanto, depender da colestase ou hemólise, presentes em muitos casos.

A albuminémia está diminuída na maioria dos casos descompensados, tendo alto valor prognóstico.

O PT e o PTT estão habitualmente aumentados, podendo o grau de comprometimento destas provas reflectir a intensidade da insuficiência hepática; são importantes no diagnóstico e prognóstico. Está habitualmente presente algum grau de trombocitopenia, que reflecte o grau de hiperesplenismo.

Uma outra alteração frequente é a presença de anemia no hemograma; também é muito comum a presença de leucopenia. Leucopenia, trombocitopenia e anemia são, habitualmente, expressões do hiperesplenismo, tão comum na cirrose.

A determinação de electrólitos no soro é muito importante no seguimento dos pacientes, estando a hiponatrémia dilucional e a hipocalcémia entre os distúrbios mais frequentes.

A AFP sérica pode revelar um aumento moderado, correlacionado com a actividade regenerativa. Quando o aumento é superior a 400 ng/ml é sugestivo de carcinoma hepatocelular.

O exame bioquímico, citológico, bacteriológico e até a simples inspecção do líquido ascítico, são da maior importância. Nos casos não complicados, a ascite tem carácter de transudado, com teor proteico inferior a 2,5 g/dl. A probabilidade diagnóstica aumenta quando se observa uma elevação acentuada de polimorfonucleares neutrófilos no esfregaço. <sup>(3)</sup>

A ecografia abdominal superior e a TC podem determinar, pelo diâmetro aumentado da veia porta e de seus ramos principais, a presença de hipertensão portal, sendo ainda capazes de revelar a existência de ascite de volume insuficiente para ser detectado clinicamente. Não são, no entanto, capazes de firmar o diagnóstico de cirrose, embora possam sugerir a sua possibilidade, por irregularidades no contorno do fígado.

A biopsia hepática é um exame de maior utilidade já que permite firmar o diagnóstico, estudar o tipo morfológico de cirrose e o seu grau de desenvolvimento e actividade. Quando conjugada à laparoscopia, permite a observação da superfície hepática, que é muitas vezes suficiente para afirmar a existência de cirrose. <sup>(3)</sup>

## **5. Tratamento e Prognóstico**

O tratamento da doença hepática crónica depende da causa desta e da presença de eventuais complicações.

O tratamento específico da cirrose é baseado em vários pontos:

- Estado de saúde geral e história médica;
- Extensão da doença;
- Tolerância pessoal a fármacos e procedimentos médicos;
- Prognóstico;
- Preferência pessoal do doente.

Os objectivos do tratamento são o abrandamento da progressão de formação de tecido fibrótico no fígado e a prevenção ou tratamento das complicações associadas. No âmbito destas complicações pode ser necessário o internamento hospitalar. As principais complicações possivelmente associadas são:

- Hemorragias gastrointestinais (varizes esofágicas);
- Ascite, que se pode complicar com peritonite bacteriana espontânea;
- Encefalopatia hepática;
- Síndrome hepatorenal;
- Síndrome hepatopulmonar;
- Carcinoma hepatocelular.

➤ Tratamento geral

- Inclui medidas que favoreçam as condições gerais e nutricionais;
- É importante o aconselhamento de repouso, nos pacientes francamente descompensados (podendo esta medida ser decisiva no tratamento da ascite); numa fase posterior, abolir apenas a actividade física exagerada;
- A dieta deve ser rica e equilibrada; na iminência de retenção hídrica, torna-se importante a restrição de sódio; na encefalopatia e na insuficiência renal, deve ser aconselhada a redução drástica da ingestão de proteínas;
- Muitos doentes podem beneficiar-se da administração de suplementos nutritivos, vitaminas (essencialmente vitamina B), ácido fólico e anabolizantes. <sup>(3)</sup>

➤ Tratamento etiológico

- Na cirrose alcoólica, a abolição do uso de bebidas alcoólicas pode ser extremamente eficaz, especialmente quando a doença ainda não está muito avançada;
- Quando a etiologia é a doença de Wilson, a penicilamina tem uma acção eficaz na lesão hepática, promovendo um balanço negativo do cobre;
- No que se refere à hemocromatose, o tratamento pode ser efectuado com desferroxamina ou flebotomias repetidas;
- Na cirrose biliar secundária é importante proceder à desobstrução cirúrgica, que pode ser seguida de apreciável regressão de processos críticos ainda incipientes. <sup>(3)</sup>

O transplante hepático é habitualmente considerado quando já se atingiram os limites do tratamento médico; é realizado em pacientes com cirrose causada pela infecção crónica pelo vírus da hepatite B (VHB), infecção crónica pelo vírus da hepatite C (VHC) cirrose de etiologia alcoólica, cirrose biliar primária, colangite esclerosante primária e doença hepática crónica por hepatite auto-imune. Outras indicações incluem a falência hepática fulminante, a cirrose causada por doença hepática gorda não-alcoólica e hemocromatose. Quando a etiologia é alcoólica, os doentes têm de demonstrar capacidade de abstinência. Alguns sinais de insuficiência hepática apontam para a necessidade de transplante, tais como:

- Icterícia mantida (bilirrubina > 100 mmol/l em doença colestática);
- Ascite ou encefalopatia hepática que não responde a tratamento médico;
- Hipoalbuminémia (< 30 g/l).

Outras indicações incluem fadiga ou letargia que afectam a qualidade de vida, prurido que não responde ao tratamento médico e varizes sangrantes recorrentes.

As principais contra indicações ao transplante são sepsis; síndrome de imunodeficiência adquirida; doenças malignas extra-hepáticas; resultado na classificação de Child-Pugh inferior a 7; falência hepática fulminante com Pressão Intracraniana (PIC) mantida acima de 50 mmHg ou pressão de perfusão cerebral abaixo de 40 mmHg; uso actual de álcool ou outras substâncias e marcada disfunção cardiorespiratória. <sup>(2)</sup>

As taxas de sobrevivência aumentaram nos últimos anos muito pelo desenvolvimento de fármacos imunossupressores. A sobrevivência 1 ano após o transplante é de 80%, com bom prognóstico. <sup>(5)</sup>

De uma forma geral, o prognóstico na cirrose é mau. Apenas 25% dos pacientes sobrevivem 5 anos após o diagnóstico. O prognóstico é mais favorável quando a causa subjacente pode ser corrigida, como na etiologia alcoólica, hemocromatose e doença de Wilson. Uma deterioração da função hepática, traduzida por icterícia, ascite ou encefalopatia, indica um pior prognóstico. Um aumento da bilirrubina plasmática, uma descida na albumina plasmática ou uma concentração de albumina < 30 g/l, hiponatremia marcada (< 120 mmol/l sem terapêutica diurética) e um tempo de protrombina prolongado, são sinais de mau prognóstico (tabela 3).

<u>CLASSIFICAÇÃO CHILD-PUGH NO PROGNÓSTICO DA CIRROSE</u>			
Score	1	2	3
Encefalopatia	Ausente	Moderada	Marcada
Bilirrubina ( $\mu\text{mol/l}$ )			
• Cirrose biliar 1 <sup>a</sup>	<34	34-50	>50
• Colangite esclerosante	<68	68-170	>170
Albumina (g/l)	>35	28-35	<28
Tempo de protrombina (seg)	<4	4-6	>6
Ascite	Ausente	Moderada	Marcada
Somam-se os resultados individuais:			
<7 = Child's A	7-9 = Child's B	>9 = Child's C	

Tabela 3. Classificação de Child-Pugh no prognóstico da cirrose. <sup>(5)</sup>

Após obter um resultado na Classificação de Child-Pugh (A, B ou C), é possível estimar a sobrevivência provável, em 1, 5 e 10 anos (Tabela 4).

<u>Grau Child-Pugh</u>	<u>SOBREVIVÊNCIA</u>			Dano hepático %*
	Sobrevivência %			
	1ano	5anos	10anos	
A	82	45	25	43
B	62	20	7	72
C	42	20	0	85

\*Inclui insuficiência hepática, hemorragia gastro-intestinal e CHC

Tabela 4. Sobrevivência na cirrose relacionada com o grau na classificação de Child-Pugh e dano hepático. <sup>(5)</sup>

É possível constatar que à medida que nos aproximamos do Grau C, o dano hepático é substancialmente maior, reflectindo-se em diminuições drásticas da probabilidade de sobrevivência. <sup>(5)</sup>

## III.B. Carcinoma Hepatocelular

### 1. Epidemiologia

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno primário do fígado mais comum, respondendo por 85 a 90% dos tumores hepáticos primário <sup>(2)</sup>; é responsável por mais de um milhão de mortes por ano. <sup>(9)</sup> É o quinto tumor mais frequente em homens e o oitavo mais frequente em mulheres, residindo em quarto nas taxas de mortalidade anuais por cancro. <sup>(2)</sup> Portugal é apresentado como um país de baixa incidência, com números inferiores a 5.8/100.000 habitantes; calcula-se, no entanto, que haja um subdiagnóstico, podendo alguns casos estar englobados na causa de morte por cirrose hepática. <sup>(10)</sup> Nos países em desenvolvimento, especialmente na África Subsaariana, o CHC é subdiagnosticado e subdeclarado, por vezes em até 50% dos casos. Apesar disso, é possível estabelecer que este carcinoma tem uma clara distribuição geográfica (figura 2). <sup>(2)</sup>

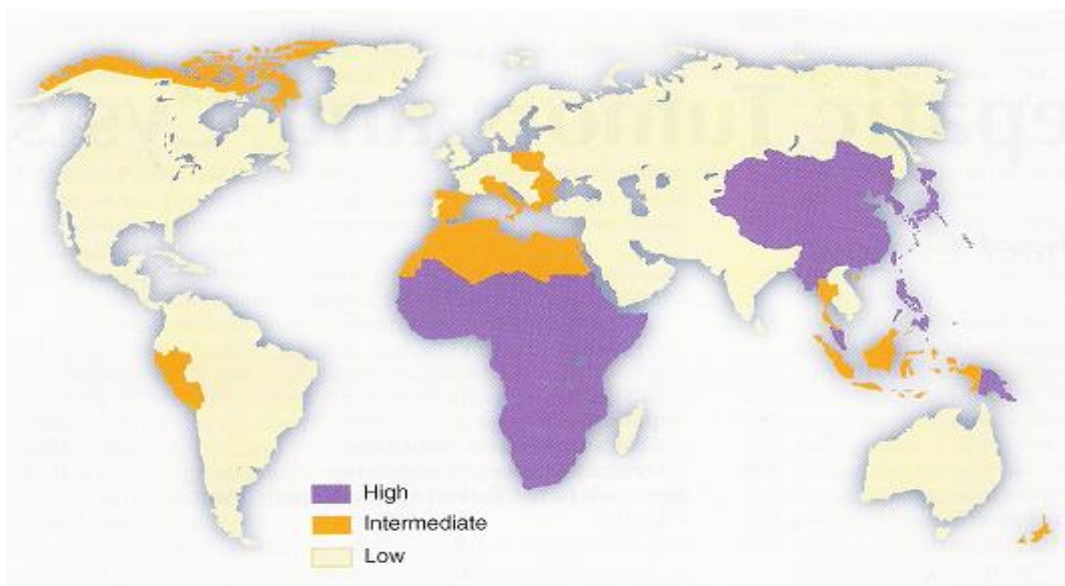


Figura 2. Incidência de CHC em diferentes partes do mundo. Regiões de alta incidência - taxas ajustadas para a idade superiores a 15 casos por 100.000 habitantes; regiões de incidência intermédia - taxas ajustadas à idade entre 5 e 15 casos por 100.000

habitantes; regiões de baixa incidência - taxas ajustadas à idade inferiores a 5 casos por 100.000 habitantes. <sup>(2)</sup>

Emigrantes vindos de países com baixa incidência de CHC para zonas de alta incidência, habitualmente preservam o baixo risco de desenvolvimento de CHC, mesmo após várias gerações neste novo ambiente. Por outro lado, as consequências para os emigrantes vindos de países com incidência elevada para zonas de baixa incidência de CHC, dependem dos factores de risco de CHC no seu país de origem (por exemplo: infecção crónica pelo vírus da hepatite B).

Este tumor atinge mais frequentemente os homens, sendo esta predisposição mais óbvia em populações de alto risco (razão homem-mulher, 3.7:1.0) do que em populações de risco baixo ou intermédio (razão homem-mulher, 2.4:1.0). Em países industrializados (considerados de alto risco), o número de homens e mulheres com CHC na ausência de cirrose, é quase o mesmo. <sup>(2)</sup>

A incidência de CHC aumenta progressivamente com a idade, em todas as populações, embora tenda a estabilizar ou mesmo diminuir nos idosos; é raro em crianças. A maioria dos casos ocorre entre a terceira e a quinta décadas de vida. <sup>(11)</sup>

## 2. Etiologia e Patogenia

O CHC é de etiologia multifactorial; existem quatro factores de risco *major* e vários factores de risco *minor* (tabela 5).

### **Factores de Risco para o Carcinoma Hepatocelular**

#### **Factores de Risco Major**

Infecção crónica pelo vírus da hepatite B  
Infecção crónica pelo vírus da hepatite C  
Cirrose  
Exposição dietética a aflatoxina B<sub>1</sub>

#### **Factores de Risco Minor**

Contraceptivos orais  
Tabagismo  
Excesso de ferro na dieta em pessoas de ascendência negra  
Hemocromatose hereditária  
Doença de Wilson  
Deficiência de  $\alpha$ 1-antitripsina  
Tirosinémia hereditária tipo I  
Doença de armazenamento do glicogénio tipo I e II  
Hipertriturinémia  
Telangiectasia-ataxia  
Obstrução membranosa da veia cava inferior

Tabela 5. Factores de risco no desenvolvimento de CHC. <sup>(2)</sup>

#### **Algumas considerações sobre os principais factores de risco:** <sup>(2)</sup>

- Vírus da hepatite B (VHB) – existem actualmente 387 milhões de pessoas portadoras do VHB e em cerca de 25% destas, irá desenvolver-se CHC. Esta

infecção crónica antecede o desenvolvimento neoplásico em muitos anos. Existe, desde há 30 anos, uma vacina eficaz contra o VHB e nos países onde esta foi inserida no plano de vacinação durante um período de tempo significativo, o estado de portador crónico entre as crianças diminuiu na ordem das 10 vezes. Este vírus actua directa e indirectamente na carcinogénese.

- Vírus da hepatite C (VHC) – aproximadamente 170 milhões de pessoas no mundo estão cronicamente infectados pelo VHC, correndo um risco acrescido do desenvolvimento de CHC. Em países como o Japão, Itália e Espanha, este vírus é responsável por 83% dos casos de CHC; está muitas vezes correlacionado com o uso abusivo de bebidas alcoólicas. Pacientes com CHC causado pelo VHC são habitualmente mais velhos que os pacientes com CHC causado pelo VHB. Quase todos os CHC com etiologia no VHC ocorrem em fígados com cirrose prévia; algumas excepções ocorrem na presença de hepatite crónica o que sugere fortemente que esta infecção crónica desempenha um papel fundamental no desenvolvimento tumoral.
- Cirrose – em todos os países, o CHC frequentemente coexiste com a cirrose. Em algumas zonas, como na China e em África, a cirrose é quase sempre atribuída à infecção crónica pelo VHB, enquanto que noutras regiões, a cirrose é especialmente causada pela infecção crónica pelo VHC, abuso de bebidas alcoólicas ou ambas. A cirrose promove o desenvolvimento tumoral essencialmente por agir como um potente promotor tumoral.

- Aflatoxina B<sub>1</sub> – a exposição dietética a esta toxina, derivada dos fungos *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, é um importante factor de risco no desenvolvimento de CHC em algumas zonas de África e Ásia. Esta toxina actua sinergicamente com o VHB na patogénese do CHC.
- Hemocromatose – o CHC desenvolve-se em até 45% dos doentes com hemocromatose. O excesso de ferro livre nos tecidos pode actuar como carcinogénio, pelo aparecimento de espécies reactivas de oxigénio. A transformação maligna ocorre, mais frequentemente, na presença concomitante de cirrose.
- Doença de Wilson – ocasionalmente há o desenvolvimento de CHC em pacientes com doença de Wilson mas apenas na presença de cirrose. O desenvolvimento tumoral pode ser atribuído à cirrose mas também ao stress oxidativo provocado pelo excesso de cobre no fígado.
- Contraceptivos orais – uma forte correlação estatística entre o uso de contraceptivos orais e o desenvolvimento de CHC foi estabelecida em países onde a incidência de CHC é baixa e não estavam presentes outros factores de risco tumoral. O risco aumenta com o uso prolongado desta medicação e persiste após 10 anos da sua interrupção.
- Tabagismo – o risco de desenvolver CHC é 50% menor em não fumadores. O sistema enzimático do citocromo P450, responsável pela activação metabólica de inúmeros carcinogénios químicos, é altamente induzível pelo tabaco.

- Obstrução membranosa da veia cava inferior – o CHC desenvolve-se em aproximadamente 40% dos pacientes com esta patologia; ciclos contínuos de necrose dos hepatócitos seguidos de regeneração, pela congestão venosa severa e intermitente, levam à susceptibilidade celular aos oncogénios ambientais e a mutações espontâneas.

A patogenia do CHC é complexa dada a multiplicidade de factores que o podem causar.

Existem, no entanto, alguns aspectos importantes da carcinogénese do CHC:

- a) É um processo multifásico, constituído pela indução (irreversível, na qual o hepatócito adquire as alterações do genoma necessárias à transformação), pela promoção (os hepatócitos sofrem alterações que favorecem a transformação e selecção dos clones transformados) e pela progressão (na qual os clones transformados proliferam, formando a massa tumoral);
- b) O alvo do carcinogénio é o DNA celular ou o material que o regula e a acção sobre este é que leva ao descontrolo no processo de diferenciação celular. O excesso de oncogénios ou a alteração destes processos de diferenciação levam à transformação maligna.
- c) A célula que origina o CHC é o hepatócito diferenciado.

### **3. Quadro Clínico**

A apresentação clínica e a evolução dependem das características do carcinoma e da presença ou não de doença hepática crónica coexistente. <sup>(12)</sup>

Numa fase tardia da evolução do CHC, os pacientes apresentam sinais e sintomas típicos, sendo o diagnóstico evidente. Antes de atingirem esta fase, o reconhecimento clínico pode ser difícil, uma vez que o fígado ainda não é facilmente palpável. Além disso, pela reserva hepática funcional que apresentam, os sinais de disfunção hepática, como a icterícia, só são visíveis quando uma grande porção do fígado está já substituída por massa tumoral.

Uma circunstância que deve alertar para este diagnóstico é a alteração clínica súbita e inexplicável num doente com cirrose: queixas de dor abdominal ou perda de peso; aumento do volume ascítico, volume ascítico hemorrágico ou dificuldade no tratamento da ascite; aumento rapidamente progressivo do tamanho do fígado ou auscultação de sopro arterial; insuficiência hepática. <sup>(2)</sup>

O sintoma mais comum e frequentemente o primeiro a ser notado é dor no hipocôndrio direito ou epigástrica. É, habitualmente, uma dor contínua que aumenta de intensidade nos estágios subsequentes da doença; pode ser acompanhada de fraqueza e perda de peso.

Os sinais e sintomas mais comuns são apresentados na tabela 6. <sup>(2)</sup>

<b>Sinais e Sintomas no Carcinoma Hepatocelular</b>			
Sintomas	Frequência (%)	Sinais	Frequência (%)
Dor abdominal	59-95	Hepatomegália	54-98
Perda de peso	34-71	Sopro hepático	6-25
Fraqueza	22-53	Ascite	35-61
Distensão abdominal	28-43	Esplenomegália	27-42
Outros sintomas GI*	25-28	Icterícia	4-35
Icterícia	5-26	Emagrecimento	25-41
		Febre	11-54

Tabela 6. Sinais e sintomas mais frequentes no CHC. \*GI – Gastro-intestinais. <sup>(2)</sup>

Queixas menos frequentes são: anorexia, sensação de saciedade precoce ou desconforto pós-prandial, sensação de distensão abdominal generalizada, diarreia e obstipação.

É raro a icterícia ser um sinal inicial. Muito raramente o CHC manifesta-se como “abdómen agudo”, pelo rompimento tumoral causando um hemoperitoneu. Outras manifestações iniciais raras são: dores ósseas por metástases ósseas, paraplegia súbita por destruição vertebral, tosse ou dispneia por metástases pulmonares múltiplas ou um aumento marcado do hemidiafragma direito. <sup>(2)</sup>

Habitualmente, numa fase avançada da doença, nota-se ao exame físico um aumento do tamanho do fígado; este é, muitas vezes, doloroso à palpação; pode notar-se irregularidades na sua superfície, muitas vezes com nódulos, e ser duro à palpação; pode ser audível um sopro arterial à auscultação, notório na sístole e não se alterando com a posição do doente. Embora não seja patognomónico, este sopro orienta para o diagnóstico de CHC.

A ascite é habitualmente resultado de uma cirrose com muitos anos de evolução e hipertensão portal; por vezes pode ser causada por invasão do peritoneu pelo tumor primário ou por metástases (neste caso o líquido ascítico é xantocrómico). Se estiver presente esplenomegália, apoia a existência de cirrose e hipertensão portal. Pode estar presente, por vezes, um grau leve a moderado de febre, intermitente ou remitente. Raramente pode estar presente o nódulo de Virchow-Trosier, o nódulo de Irmã Maria José ou um nódulo linfático axilar. <sup>(2)</sup>

## 4. Diagnóstico

Os testes de função hepática convencionais não distinguem o CHC de outras lesões tumorais hepáticas ou da cirrose. Embora não seja específico, ocorre um aumento do colesterol sérico em 11 a 38% dos doentes com CHC. Este aumento deve-se à produção deste composto pelos hepatócitos mutados, pela ausência nestas células do feedback negativo normal pela enzima  $\beta$ -metilglutaril-coenzima A redutase. <sup>(2)</sup>

### Marcadores serológicos tumorais

- **AFP** – Um aumento dos seus níveis séricos sugere o diagnóstico de CHC; isto é especialmente verdade em áreas de elevada prevalência deste tumor. Em zonas de alta incidência, os valores médios de AFP em doentes com CHC são de 60.000 a 80.000 ng/ml; em zonas de incidência baixa ou intermédia, estes valores baixam para 8000 ng/ml. Resultados falsos positivos podem ocorrer no âmbito de doenças hepáticas benignas e cirrose. Consideram-se valores aumentados os superiores a 10 ng/ml e valores diagnósticos superiores a 500 ng/ml; no entanto, muitos pacientes apresentam-se com CHC e com valores inferiores a 500 ng/ml. Um valor progressivamente crescente de AFP, mesmo que inferior a 500 ng/ml, é altamente sugestivo de CHC.

A síntese de AFP pelo tumor é dependente da idade do paciente: quanto mais jovem, maior a quantidade segregada e maior o nível sérico de AFP atingido; é também dependente do tamanho tumoral: pequenos tumores não sintomáticos estão associados a valores baixos de AFP sérica. <sup>(2)</sup>

- **AFP fucosilada** – a AFP tem uma estrutura heterogénea; esta microheterogenicidade resulta de diferenças nas cadeias de oligossacarídeos o que leva a diferentes afinidades pelas glicoproteínas das lectinas. A AFP segregada pelos hepatócitos mutados contem uma cadeia de açúcar complexa e incomum, não encontrada na AFP produzida por hepatócitos normais. <sup>(2)</sup>

Vários estudos demonstraram a eficácia da reactividade da AFP com a *Lens culinaris* agglutinin A na diferenciação entre CHC e doença parenquimatosa benigna. <sup>(13,14)</sup> Esta análise é especialmente importante quando os valores de AFP sérica são inferiores a 500 ng/ml.

- **Des-y-Carboxy Protrombina** – As concentrações séricas de Des-y-Carboxy Protrombina estão aumentadas na maioria dos pacientes com CHC. Em zonas de baixa incidência de CHC, é muitas vezes um melhor marcador que a AFP, podendo ser utilizado como marcador tumoral de primeira linha. <sup>(2)</sup>
- **$\alpha$ -L-Fucosidase** – inicialmente a  $\alpha$ -L-Fucosidase era dada como tendo uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 90% no diagnóstico de CHC; num estudo subsequente, este marcador falhou na distinção entre CHC e cirrose. <sup>(2)</sup>

Na tabela 7 estão expostos os marcadores tumorais apresentados, bem como as respectivas sensibilidades, especificidades e alguns comentários sobre a sua realização.

(2)

<b>Marcadores Tumorais no Diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular</b>			
Marcador	Sensibilidade %	Especificidade %	Comentários
AFP	Alta incidência: 80-90 Baixa incidência: 50-70	90	Rápido e fácil; relativamente caro.
Des-y-carboxy protrombina	58-91	84	Rápido e fácil; muito mais caro que AFP
$\alpha$ -L-Fucosidase	75	70-90	Rápido e fácil; barato

Tabela 7. Sensibilidade, especificidade e comentários sobre os marcadores tumorais utilizados no diagnóstico de CHC. (2)

#### Alterações hematológicas (2)

- É comum os doentes se apresentarem com algum grau de anemia;
- Leucocitose leve ou moderada pode estar presente.

#### Alterações bioquímicas (12)

- Dependem do estado hepático subjacente;
- A maioria das actividades enzimáticas séricas está aumentada: aumento da FA sérica; os valores séricos da AST são quase sempre superiores aos da ALT; aumento da LDH e da GGT séricas;
- O valor de bilirrubina está elevado, a albumina e a protrombina estão diminuídas;
- Há frequentemente a presença de dislipidémia.

**Imagiologia hepática** <sup>(2)</sup>

- **Ecografia** – detecta a maioria dos CHC mas não o distingue de outras lesões sólidas do fígado. Vantagens incluem a sua segurança, disponibilidade e relação custo-benefício; como desvantagens o facto de ser um exame não estandardizado e dependente do operador. Aproximadamente dois terços dos CHC são uniformemente hiperecogénicos; tumores pequenos são uniformemente hipoeecogénicos. A imagem ecográfica é influenciada pela presença de gordura, cálcio e necrose. Quando associada ao Doppler, tem a vantagem de mostrar a patência da veia cava inferior, veia porta, veias hepáticas e árvore biliar.
- **Ecografia hepática com contraste** – os avanços no desenvolvimento de agentes de contraste para ecografia, permitiram o acesso a padrões de imagens hepáticas contrastadas. Os agentes de contraste utilizados na ecografia diagnóstica são estruturalmente constituídos por micro-bolhas de gás com uma baixa solubilidade. Estas micro-bolhas têm entre 3 a 5 mm e quando injectadas intravenosamente, permanecem no compartimento vascular por vários minutos, sendo pequenas o suficiente para evitar a filtração pulmonar e demasiado grandes para entrar no líquido intersticial. Permitem a captura de imagens de forma contínua, em tempo real. Permitem a visualização e definição de três fases vasculares – a fase arterial, a fase venosa portal e uma fase tardia – durando até a sua clearance do parênquima hepático. Efeitos secundários mínimos destes agentes foram reportados em menos de 5% dos casos e incluem tipicamente um desconforto transitório no local de administração intravenosa, alterações gustativas e distúrbios vasovagais. Não são nefrotóxicos. <sup>(15)</sup>

- **Tomografia Computorizada (TC)** – A TC helicoidal multifásica e a TC realizada durante a portografia arterial, são as técnicas imagiológicas de primeira linha no diagnóstico de CHC. O tumor aparece hipervascularizado durante a fase arterial hepática. Esta técnica é especialmente útil na definição da extensão do tumor dentro e fora do fígado e na demonstração do calibre, curso e patência dos vasos sanguíneos. O Lipiodol (óleo extraído das sementes da papoila) é concentrado e retido no tecido do CHC; a injeção desta substância no final da arteriografia hepática pode ser utilizada em conjunto com a TC, na detecção de pequenas massas tumorais.
- **Ressonância Magnética Nuclear (RMN)** – a maior parte dos tumores tem uma fraca intensidade de sinal em T1 e uma hiperintensidade em T2. A utilização de agentes de contraste aumenta a acuidade do exame, especialmente na detecção de CHC pequenos em fígados cirróticos e na distinção entre CHC pequenos e hemangiomas.

Um diagnóstico definitivo de CHC depende da demonstração de características histológicas típicas. Amostras adequadas podem ser obtidas através de **biópsia percutânea ou punção aspirativa com agulha fina (PAAF)**. A segurança do procedimento pode aumentar se for feito com o auxílio da ecografia; alternativamente, pode ser realizada uma biópsia dirigida laparoscopicamente. Muitos autores defendem que se o tumor for operável, este procedimento não deve ser realizado pelo risco de disseminação tumoral. <sup>(2)</sup>

Existem critérios de estadiamento do CHC sendo a Classificação de Barcelona uma das mais utilizadas.

<b><u>Classificação de Barcelona (BCLC)</u></b>	
Estadio A	Estadio precoce, 50-75% sobrevivência a 5 anos <ul style="list-style-type: none"><li>• Tamanho do tumor <math>\leq 5</math> cm</li><li>• <math>\leq 3</math> lesões, <math>&lt; 3</math> cm</li></ul>
Estadio B	Estadio intermédio, 50% sobrevivência a 3 anos <ul style="list-style-type: none"><li>• Tumor <math>&gt; 5</math> cm</li><li>• <math>&gt; 3</math> lesões</li><li>• Ausência de invasão vascular</li><li>• Status funcional da OMS = 0 (PST 0)</li></ul>
Estadio C	Estadio avançado, 10% sobrevivência a 3 anos <ul style="list-style-type: none"><li>• PST <math>\leq 2</math></li><li>• Invasão vascular e/ou metastização extra-hepática</li></ul>
Estadio D	Estadio terminal <ul style="list-style-type: none"><li>• PST <math>&gt; 2</math></li><li>• Invasão vascular e/ou metastização extra-hepática</li><li>• Classe Child-Pugh C</li></ul>

Tabela 8. Classificação de Barcelona no estadiamento do CHC. <sup>(10)</sup>

O Sistema de estadiamento de Barcelona-Clinic-Liver-Cancer (BCLC) foi desenvolvido com base na combinação de dados de diversos estudos independentes, representando diferentes estádios da doença e/ou modalidades de tratamento. Inclui variáveis relacionadas com o estádio do tumor, estado funcional do fígado e sintomas relacionados com a neoplasia. A sua principal vantagem é associar o estadiamento à estratégia terapêutica e à esperança de vida. Identifica os indivíduos com CHC precoce que podem beneficiar-se de terapêutica curativa; os que apresentam doença em estádio intermédio ou avançado que podem beneficiar-se de terapêutica paliativa e os doentes em estádio terminal, com escassa esperança de vida. <sup>(10)</sup>

## 5. Tratamento e Prognóstico

O tratamento do CHC depende da extensão da doença, da presença ou ausência de cirrose e do grau de disfunção hepática.

### ➤ Tratamento com intenção curativa

- **Ressecção Cirúrgica** – É a que oferece as melhores chances de cura do CHC. Para ser considerada esta opção terapêutica, o tumor tem de estar confinado a um lobo do fígado, favoravelmente localizado e, idealmente, o restante tecido hepático deve ser não cirrótico. De qualquer forma, a ressecção pode ser considerada se o tumor estiver limitado ao lobo esquerdo e se a disfunção hepática pela cirrose não for muito severa. É realizável em apenas 15% dos pacientes; tem uma taxa de mortalidade associada de 5% em doentes não cirróticos e de 10 a 15% em doentes com cirrose concomitante. Infelizmente está associado a altas taxas de recorrência.
- **Transplante Hepático** – é realizado em pacientes nos quais o tumor não é ressecável mas está confinado ao fígado ou nos quais a cirrose avançada ou a função hepática precária limitam a ressecção. Relativamente poucos pacientes são adequados para o transplante hepático. Pela disseminação tumoral não detectada antes do transplante, a taxa de recorrência mantém-se alta.

### ➤ Tratamento com intenção paliativa

- **Ablação e embolização** – adequadas para pequenos tumores irressecáveis pela sua multiplicidade ou inacessibilidade, ou por disfunção hepática severa. A primeira técnica utilizada foi a injeção de etanol, efectiva e segura, e ainda utilizada

actualmente. Mais recentemente foi desenvolvida a ablação tumoral por radiofrequência, sendo efectiva e agora largamente utilizada. A embolização arterial e a quimioembolização são métodos paliativos utilizados em pacientes seleccionados. São também utilizados na redução do tamanho tumoral para posterior ressecção.

- **Quimioterapia** – Um largo espectro de drogas anti-cancerígenas, tais como agentes alquilantes, foram utilizadas no tratamento de CHC mas as taxas de resposta são inferiores a 20%.

Na tabela 9 estão expostos os métodos terapêuticos apresentados.

<b>Opções Terapêuticas no Carcinoma Hepatocelular</b>	
Modalidade	Comentários
Ressecção Cirúrgica	Oferece as melhores chances de cura Raramente possível em tumores sintomáticos Altas taxas de recorrência tumoral
Transplante Hepático	Bem sucedido em pacientes seleccionados e centros de referência Altas taxas de recorrência tumoral Dispendioso
Injecção de etanol ou ablação por radiofrequência	Tratamento paliativo em tumores pequenos irressecáveis
Quimioembolização	Utilizado na diminuição tumoral para posterior ressecção
Quimioterapia	Unicamente paliativo Toxicidade elevada

Tabela 9. Opções terapêuticas no âmbito do CHC. <sup>(2)</sup>

O CHC tem um prognóstico muito pobre, com taxas de incidência e mortalidade anuais virtualmente idênticas. As principais razões para este mau prognóstico são a extensão tumoral no momento do diagnóstico e a frequência elevada de cirrose e disfunção hepática associadas. É um tumor de progressão rápida, com aumento progressivo da hepatomegália, dor abdominal, emagrecimento e icterícia. Em populações africanas e chinesas a morte ocorre frequentemente ao fim de 4 meses após o diagnóstico; em países industrializados, tem habitualmente um curso mais indolente, com taxas de sobrevivência maiores. <sup>(2)</sup> Já foram reportados alguns casos de regressão tumoral espontânea. <sup>(16)</sup>

### III.C. Alpha-fetoproteína (AFP)

A alpha-fetoproteína é uma  $\alpha$ -1-globulina plasmática, constituída por 590 aminoácidos, produzida pelo saco vitelino e pelo fígado fetal. O nível de AFP sérica diminui gradualmente após o nascimento, atingindo os valores normais do adulto (inferior a 10 ng/ml) entre os 8 a 12 meses de idade. A AFP não desempenha nenhuma função conhecida em adultos saudáveis. Níveis elevados (superior a 500 ng/ml) são vistos em casos de carcinoma hepatocelular (podendo inclusive, ser demonstrada no tecido tumoral por imunofluorescência indirecta), tumores das células germinativas (testículos e ovários) e metástases hepáticas.

Consideram-se valores aumentados os superiores a 10 ng/ml e valores diagnósticos superiores a 500 ng/ml; no entanto, muitos pacientes apresentam-se com CHC e com valores inferiores a 500 ng/ml. Um valor progressivamente crescente de AFP, mesmo que inferior a 500 ng/ml, é altamente sugestivo de CHC.

A síntese de AFP pelo tumor é dependente da idade do paciente: quanto mais jovem, maior a quantidade segregada e maior o nível sérico de AFP atingido; é também dependente do tamanho tumoral: pequenos tumores não sintomáticos estão associados a valores baixos de AFP sérica. <sup>(2)</sup> É utilizada rotineiramente na monitorização de pacientes portadores de doença hepática crónica com alto risco de desenvolvimento de CHC, como a cirrose por VHB e hemocromatose. <sup>(3)</sup>

A AFP-L3, uma isoforma da AFP que se liga a aglutinina *Lens culinaris*, pode ser particularmente importante na identificação precoce do CHC. Vários estudos demonstraram a eficácia da reactividade da AFP com a aglutinina A *Lens culinaris* na diferenciação entre CHC e doença parenquimatosa benigna. <sup>(13)</sup> <sup>(14)</sup> Esta análise é especialmente importante quando os valores de AFP sérica são inferiores a 500 ng/ml.

## **IV. Resultados**

Foram consultados 135 processos clínicos no Serviço de Gastrenterologia do Centro Hospitalar Cova da Beira, sendo 35 relativos a doentes com o diagnóstico de CHC e os restantes 100 relativos a doentes com Cirrose Alcoólica do Fígado (CAF). Destes 135 processos, apenas 78 foram utilizados no tratamento estatístico (28 relativos a CHC e 50 relativos a CAF); esta redução deveu-se à dificuldade em encontrar dados importantes em muitos destes processos (valor de AFP ou tamanho tumoral). Foram colhidos dados relativos à idade e sexo dos pacientes com as referidas patologias; foram também colhidos dados relativos à etiologia do CHC, aos valores de AFP na altura em que foi efectuado o diagnóstico de CHC e o tamanho tumoral detectado imagiologicamente. Relativamente aos doentes com CAF, foram colhidos dados relativos à sua idade, sexo e valor de AFP no momento do diagnóstico. Estes dados foram trabalhados estatisticamente utilizando o programa *Epi Info*<sup>®</sup>.

## **Resultados relativos a doentes com o diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular (2003 a 2008)**

Foram considerados os seguintes intervalos de AFP:

- Normal (valores iguais ou inferiores a 7 ng/ml);
- Elevado (valores compreendidos entre 7 e 21 ng/ml);
- Muito Elevado (valores superiores a 21 ng/ml).

Neste estudo e com base nos dados presentes nos processos clínicos, valores de AFP superiores a 7 ng/ml, foram considerados elevados.

Relativamente ao tamanho tumoral, foram considerados 3 grupos, consoante o tamanho visualizado imagiologicamente (ecografia, TC ou RMN abdominais):

- Tamanho Pequeno (tumor inferior a 3 cm);
- Tamanho Médio (tumor compreendido entre 3 e 5 cm);
- Tamanho Grande (tumor superior a 5 cm).

Quanto às idades dos pacientes, consideraram-se 3 grupos:

- Até aos 50 anos de idade;
- Entre os 50 e os 70 anos de idade;
- Com idades superiores a 70 anos.

Os dados recolhidos estão expostos na seguinte tabela (tabela 10).

<b>Dados relativos a doentes com diagnóstico de CHC</b>				
<b><u>Sexo</u></b>	<b><u>Idade (anos)</u></b>	<b><u>Etiologia</u></b>	<b><u>Valor de AFP (mg/ml)</u></b>	<b><u>Tamanho tumoral (cm)</u></b>
M	72	A	1	5
M	68	A	2	12
M	89	A	2	12
M	60	NE	2	5
M	80	NE	3	3
M	76	NE	5	3
M	64	A	8	3
M	59	A	11	1,8
M	84	A	14	2,7
M	84	A	14	2,7
M	67	A	16	1
M	64	A	19	5
M	56	VHC	20	1,8
M	56	VHC	23	9
M	73	A	31	8
M	70	A	45	4
M	70	A	70	3
M	75	A	160	11
F	64	VHC	413	4
M	88	A	934	3
M	66	A	1210	4
M	78	VHB	1292	4
M	73	A	3475	5
M	79	A	4869	15
F	63	A	6143	4
M	75	VHB	7955	10
M	53	A	12672	5,5
M	87	A	18015	11

Tabela 10. Dados relativos a doentes com CHC, no CHCB, entre 2003 e 2008. M – Masculino; F – Feminino; A – Álcool; VHB – vírus da hepatite B; VHC – vírus da hepatite C; NE – não especificado.

De um total de 28 doentes com o diagnóstico de CHC, foram definidos os intervalos referidos anteriormente para o valor da AFP, tamanho tumoral e idade. Foram ainda colhidos dados relativamente ao sexo dos pacientes e à etiologia tumoral.

Destes 28 doentes, 93% são homens e apenas 7% são mulheres (tabela 11).

Sexo	Nº Pacientes	Percentagem
Feminino	2	7,1%
Masculino	26	92,9%
Total	28	100,0%

Tabela 11. Distribuição por sexo dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Com estes dados foi possível construir o gráfico 1.

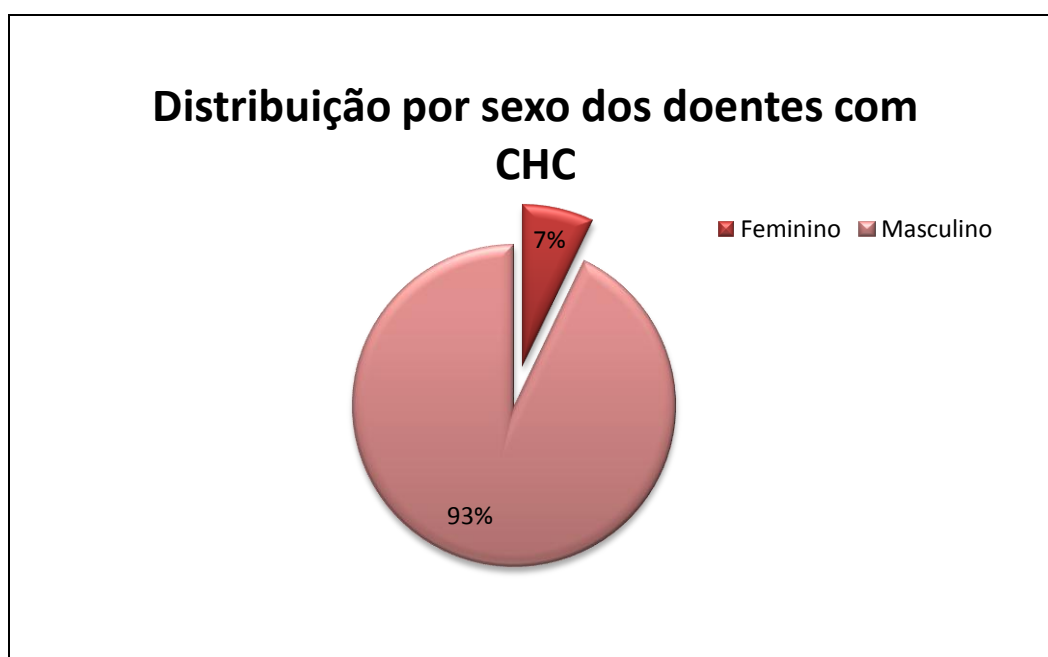


Gráfico 1. Distribuição por sexo dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Quanto à distribuição etária, 57% dos doentes apresentavam idade igual ou superior a 70 anos e 43% encontravam-se entre os 50 a 70 anos de idade. Nenhum destes 28 doentes tinha menos de 50 anos. (Tabela 12)

Idade	Nº Pacientes	Percentagem
Até 50 anos	0	0%
De 50 a 70 anos	12	42.9%
≥ 70 anos	16	57.1%
Total	28	100%

Tabela 12. Distribuição por idade dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

O gráfico 2 é representativo da distribuição etária.

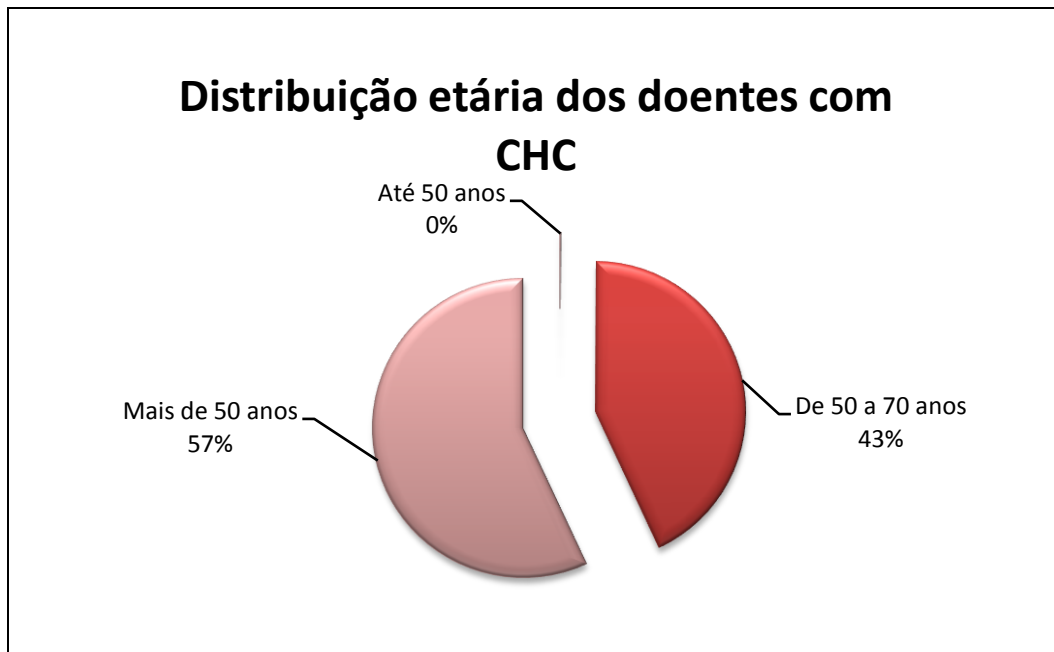


Gráfico 2. Distribuição etária dos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Relativamente aos valores de AFP apresentados por estes doentes no momento do diagnóstico tumoral, 54% destes apresentavam valores de AFP muito elevado (superior a 21 ng/ml), 25% apresentavam valores elevados de AFP (superior a 7 ng/ml e inferiores a 21 ng/ml) e 21% apresentavam valores de AFP normais (inferiores a 7 ng/ml). (tabela 13)

AFP	Nº Pacientes	Percentagem
Normal	6	21.4%
Elevada	7	25%
Muito Elevada	15	53.6%
<b>TOTAL</b>	<b>28</b>	<b>100%</b>

Tabela 13. Valores de AFP nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Estes valores podem ser facilmente visualizados no gráfico 3.

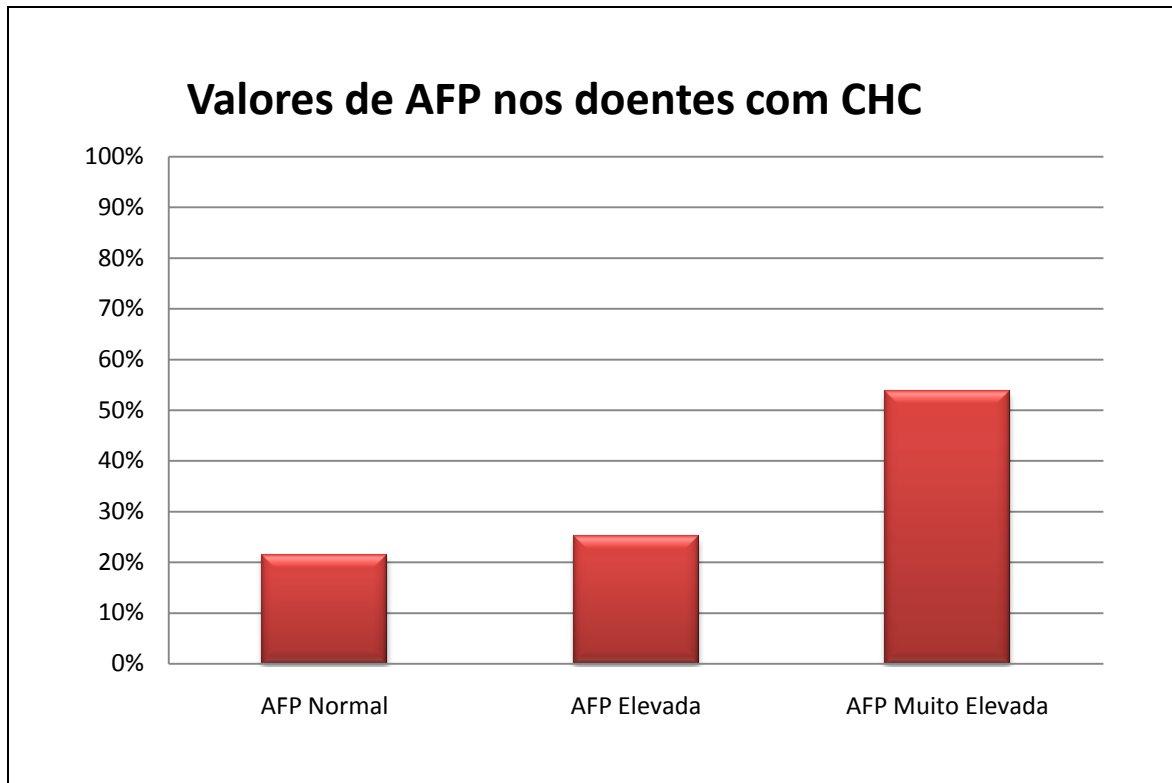


Gráfico 3. Valores de AFP nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Foi também possível recolher dados referentes à etiologia tumoral destes 28 doentes. Assim, em 71% dos casos (20 doentes) o desenvolvimento tumoral estava associado ao consumo crónico e contínuo de álcool, em 11% dos doentes estava associado ao VHC, em outros 11% a etiologia era não especificada e 7% dos casos estavam relacionados com o VHB. (tabela 14)

<b>Etiologia</b>	<b>Nº Pacientes</b>	<b>Percentagem</b>
<b>Álcool</b>	20	71,4%
<b>VHB</b>	2	7,1%
<b>VHC</b>	3	10,7%
<b>Não Especificado</b>	3	10,7%
<b>Total</b>	28	100,0%

Tabela 14. Etiologias mais frequentes nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

No gráfico 4 é possível observar esta distribuição.

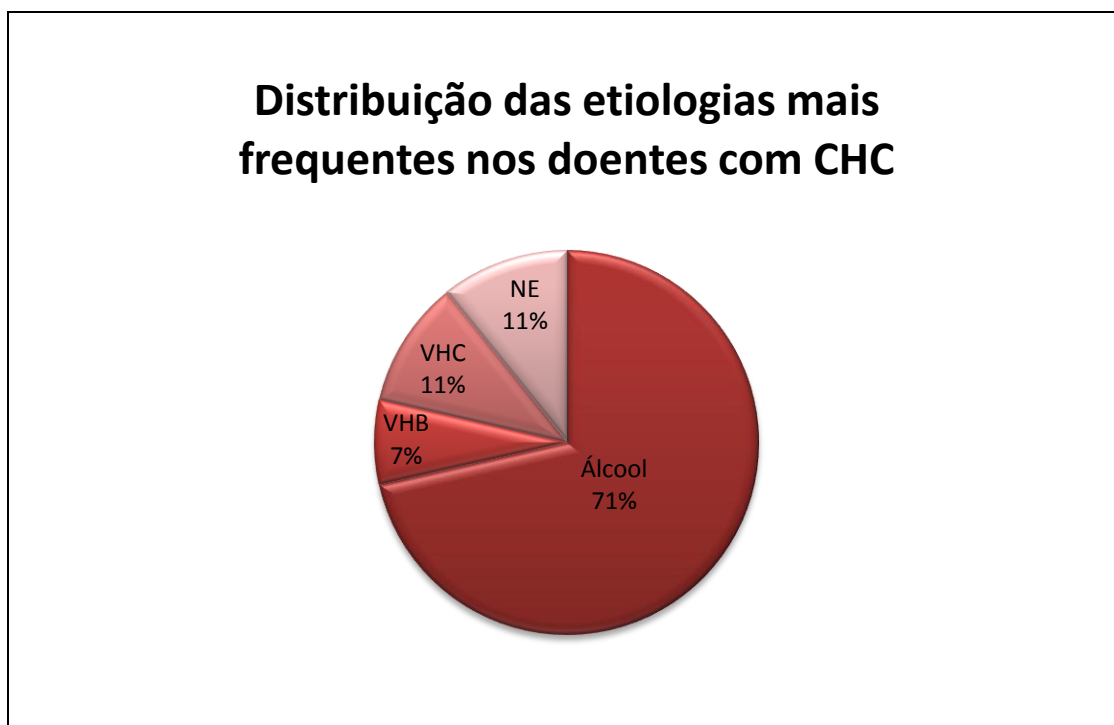


Gráfico 4. Distribuição das etiologias mais frequentes nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008. NE – Não Especificado.

Foram consultados os tamanhos tumorais apresentados por estes 28 doentes no momento do diagnóstico. Estes tamanhos foram retirados de relatórios de exames imagiológicos (ecografia, TC ou RMN abdominais) realizados no momento do diagnóstico. Em 64% destes doentes o tumor apresentava tamanho superior a 3 cm.

(Tabela 15)

Tamanho Tumoral	Nº Pacientes	Percentagem
≤ 3 cm	10	35,7%
> 3 cm	18	64,3%
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>100%</b>

Tabela 15. Tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

O gráfico 5 é representativo das variações no tamanho tumoral em doentes com CHC.

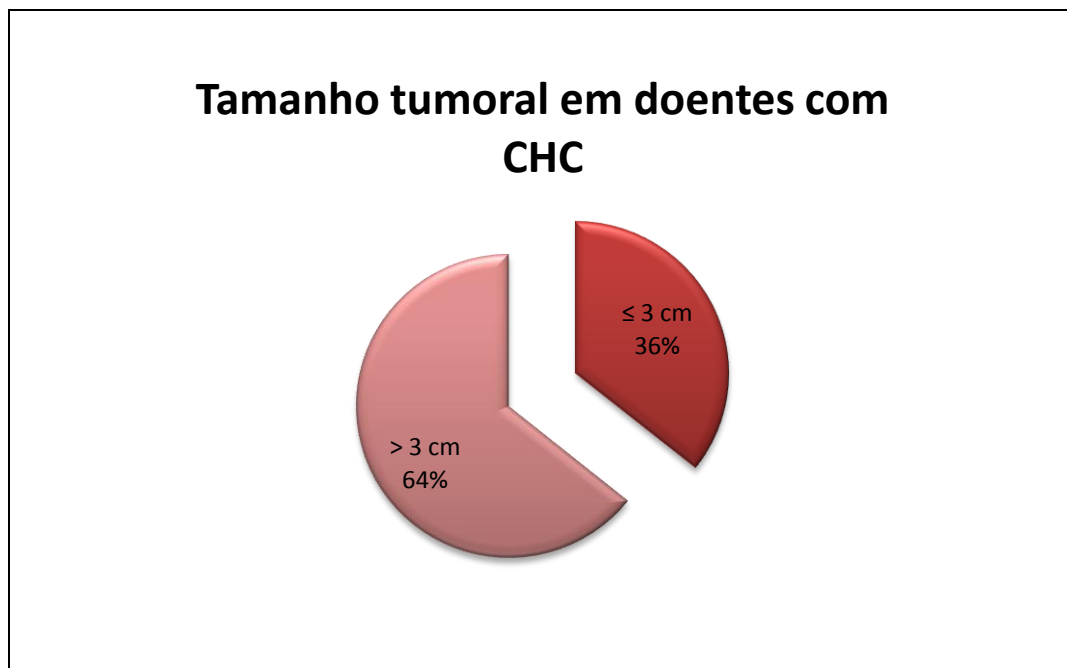


Gráfico 5. Tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

Após a recolha de dados foi possível realizar um estudo estatístico; na tabela 16 é possível observar a relação entre a etiologia tumoral nestes 28 doentes e os respectivos valores de AFP apresentados no momento do diagnóstico. Dos 20 doentes com CHC causado pelo consumo crónico e contínuo de álcool, 17 apresentam valores de AFP fora dos parâmetros normais sendo que 11 destes apresentam valores muito elevados ( $\geq 21$  ng/ml). Dos 5 CHC causados pela infecção crónica pelo VHB ou VHC, nenhum apresenta valores normais de AFP, sendo que 4 destes apresentam mesmo valores muito elevados. (gráfico 6)

Etiologia \ AFP	Normal	Elevada	Muito Elevada	Total
VHB	0	0	2	2
VHC	0	1	2	3
Álcool	3	6	11	20
Não Especificada	3	0	0	3
<b>Total</b>	6	7	15	28

Tabela 16. Relação entre os valores de AFP e a etiologia tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

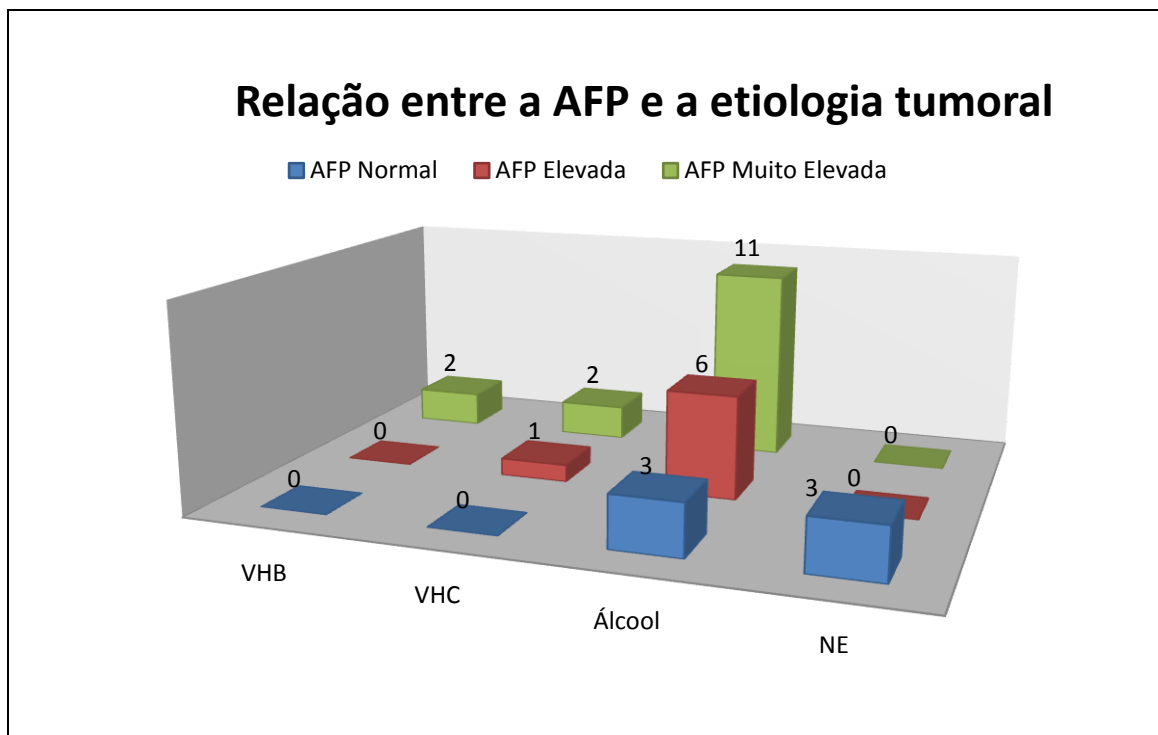


Gráfico 6. Relação entre os valores de AFP e a etiologia tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008. NE – Não Especificado.

Uma outra relação que pôde ser aferida foi entre os valores de AFP e a dimensão tumoral no momento do diagnóstico (Tabela 17). Nos tumores com dimensão igual ou inferior a 3 cm (10 casos), em apenas 2 casos se registaram valores de AFP muito elevada; por outro lado nos tumores com dimensão superior a 3 cm (18 casos), valores muito elevados de AFP foram os que mais se registaram (13 casos).

AFP \ Dimensão	≤ 3cm	> 3cm	Total
<b>Normal</b>	2	4	6
<b>Elevada</b>	6	1	7
<b>Muito Elevada</b>	2	13	15
<b>Total</b>	10	18	28

Tabela 17. Relação entre os valores de AFP e a dimensão tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

No gráfico 7 visualiza-se esta relação entre a AFP e o tamanho tumoral.

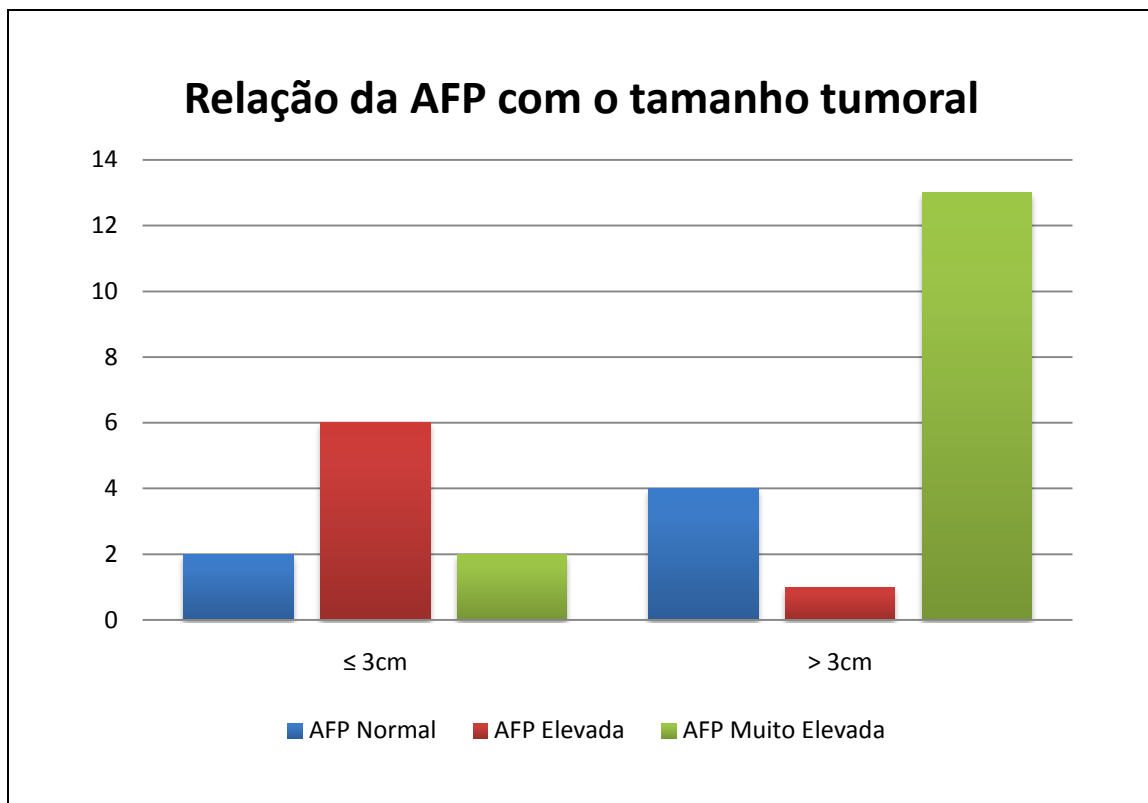


Gráfico 7. Relação entre os valores de AFP e o tamanho tumoral nos doentes com CHC, entre 2003 e 2008.

De modo a tornar o estudo realizado estatisticamente significativo, foi calculado no programa *Epi Info* o valor de *p value* referente à relação entre o valor de AFP e o tamanho tumoral. Para tal procedeu-se à divisão dos valores de AFP em dois grandes grupos: normal, para valores iguais ou inferiores a 7 ng/ml, e elevado, para valores superiores a 7 ng/ml. Foi obtida a seguinte tabela:

AFP \ Tamanho tumoral	≤ 3cm	> 3cm
Normal (≤ 7 ng/ml)	2	4
Elevado (> 7 ng/ml)	8	14

Tabela 18. Relação entre os valores de AFP e o tamanho tumoral em doentes com CHC entre 2003 e 2008. *p value* = 0.89.

O valor de *p value* obtido não é estatisticamente significativo.

## **Resultados relativos a doentes com o diagnóstico de Cirrose Alcoólica do Fígado (2008)**

Neste estudo foram usados 50 doentes.

Foram considerados os seguintes intervalos de AFP:

- Normal (valores iguais ou inferiores a 7 ng/ml);
- Elevado (valores compreendidos entre 7 e 21 ng/ml);
- Muito Elevado (valores superiores a 21 ng/ml).

Quanto às idades dos pacientes, consideraram-se 3 grupos:

- Até aos 50 anos de idade;
- Entre os 50 e os 70 anos de idade;
- Com idades iguais ou superiores a 70 anos.

Os dados recolhidos estão expostos na tabela 19.

<b>Dados relativos a doentes com diagnóstico de CAF</b>			
<b>Sexo</b>	<b>Idade</b>	<b>Etiologia</b>	<b>AFP</b>
M	65	A	4
M	71	A	3
M	61	A	4
M	57	A	5
M	65	A	4
M	45	A	3
M	44	A	3
M	65	A	10
M	90	A	1
M	73	A	4
M	66	A	3
M	60	A	2
M	66	A	19

M	73	A	1
M	82	A	2
M	52	A	3
M	46	A	4
M	49	A	9
M	56	A	6
M	51	A	4
M	67	A	2
M	59	A	2
M	73	A	1
M	54	A	8
M	63	A	4
M	82	A	1
M	69	A	2
M	51	A	4
M	62	A	3
M	62	A	3
M	66	A	1210
M	77	A	4
F	52	A	4
M	48	A	5
M	88	A	17713
M	71	A	3
M	57	A	5
M	74	A	3
M	82	A	2
M	51	A	9
M	56	A	3
M	53	A	12
M	67	A	3
M	65	A	1
M	69	A	2
M	70	A	3
M	74	A	8
M	69	A	2
M	60	A	1
F	42	A	2

Tabela 19. Dados relativos a doentes com CAF, em 2008. M – Masculino; F – Feminino; A – Álcool.

De um total de 50 doentes com o diagnóstico de CAF, foram definidos os intervalos referidos anteriormente para o valor da AFP e idade. Foram ainda colhidos dados relativamente ao sexo dos pacientes.

Após a análise de dados relativamente à distribuição por sexo dos doentes com CAF, constata-se que 96% dos doentes são do sexo masculino. (Tabela 20)

<b>Sexo</b>	<b>Nº Pacientes</b>	<b>Percentagem</b>
<b>Feminino</b>	2	4,0%
<b>Masculino</b>	48	96,0%
<b>Total</b>	50	100,0%

Tabela 20. Distribuição por sexo dos doentes com CAF, no ano de 2008.

Esta distribuição pode ser visualizada no gráfico 8.

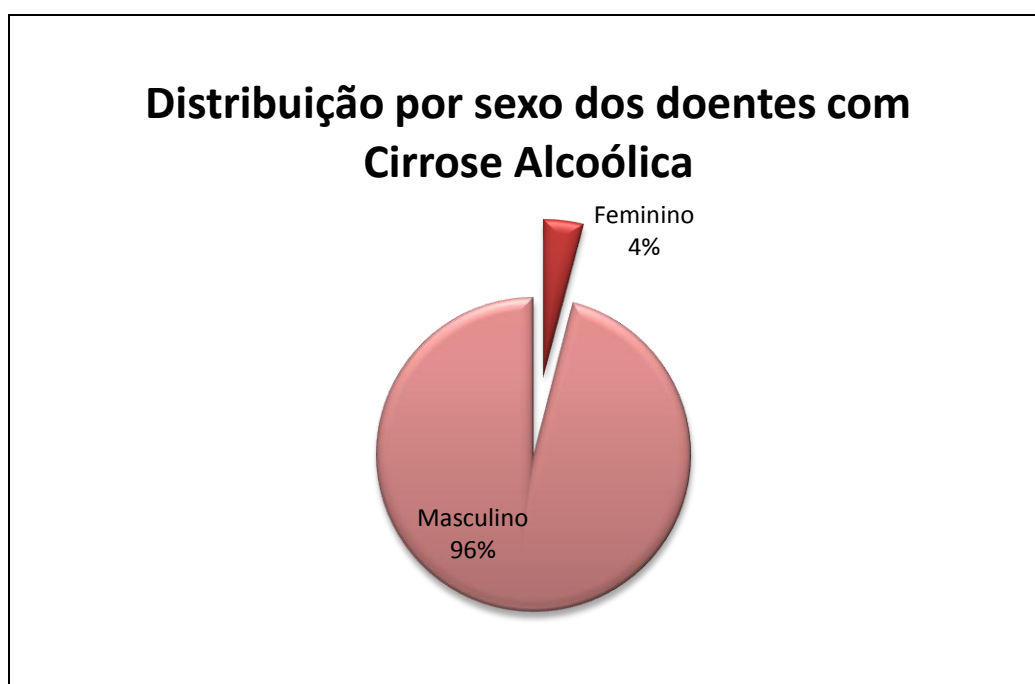


Gráfico 8. Distribuição por sexo dos doentes com CAF, em 2008.

Foram também estudados estatisticamente os grupos etários dos pacientes diagnosticados com CAF. Apenas 12% dos doentes tinham idade inferior a 50 anos, sendo que 60% dos doentes estavam entre os 50 e os 70 anos de idade. (Tabela 21)

<b>Idade</b>	<b>Nº Pacientes</b>	<b>Percentagem</b>
<b>≤ 50 anos</b>	6	12%
<b>De 50 a 70 anos</b>	30	60%
<b>≥ 70 anos</b>	14	28%
<b>Total</b>	50	100%

Tabela 21. Distribuição etária relativa a doentes com CAF, em 2008.

No gráfico 9 facilmente se visualiza esta distribuição.

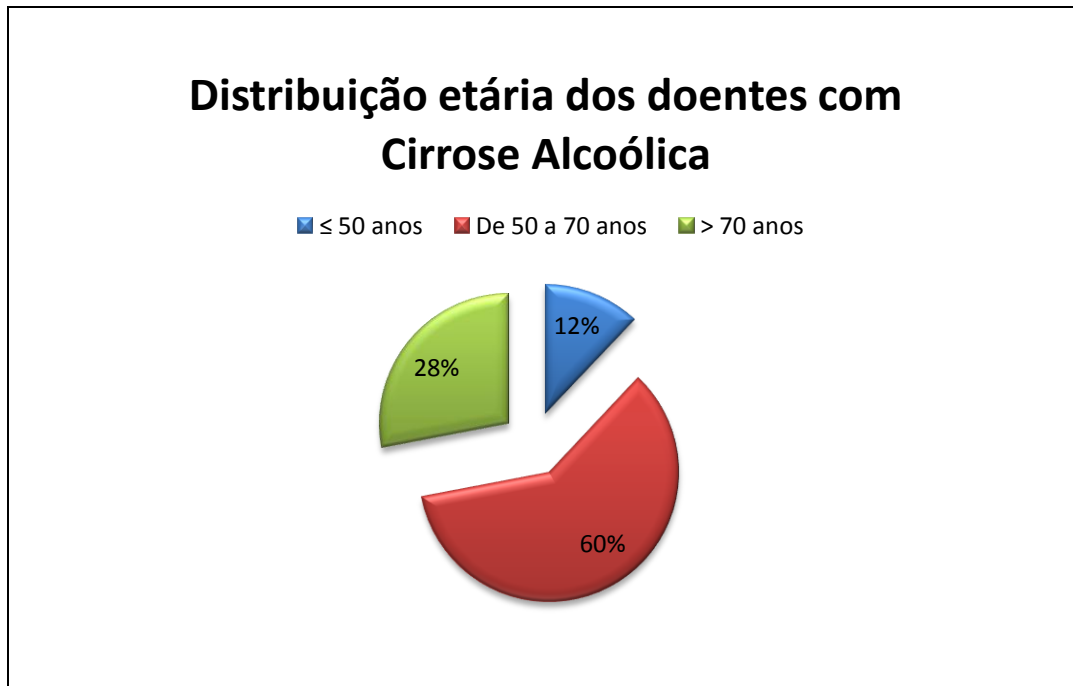


Gráfico 9. Distribuição etária nos doentes com CAF, no ano de 2008.

Relativamente aos valores de AFP apresentados por estes doentes no momento do diagnóstico, 82% destes apresentavam valores de AFP normais (iguais ou inferiores a 7 ng/ml), 14% apresentavam valores elevados de AFP (superior a 7 ng/ml e inferiores a 21 ng/ml) e apenas 4% apresentavam valores de AFP muito elevados (superiores a 21 ng/ml). (tabela 22)

AFP	Nº Pacientes	Percentagem
Normal	41	82%
Elevada	7	14%
Muito Elevada	2	4%
Total	50	100%

Tabela 22. Valores de AFP em doentes com CAF, em 2008.

Os valores de AFP nos doentes com CAF podem ser observados no gráfico 10.

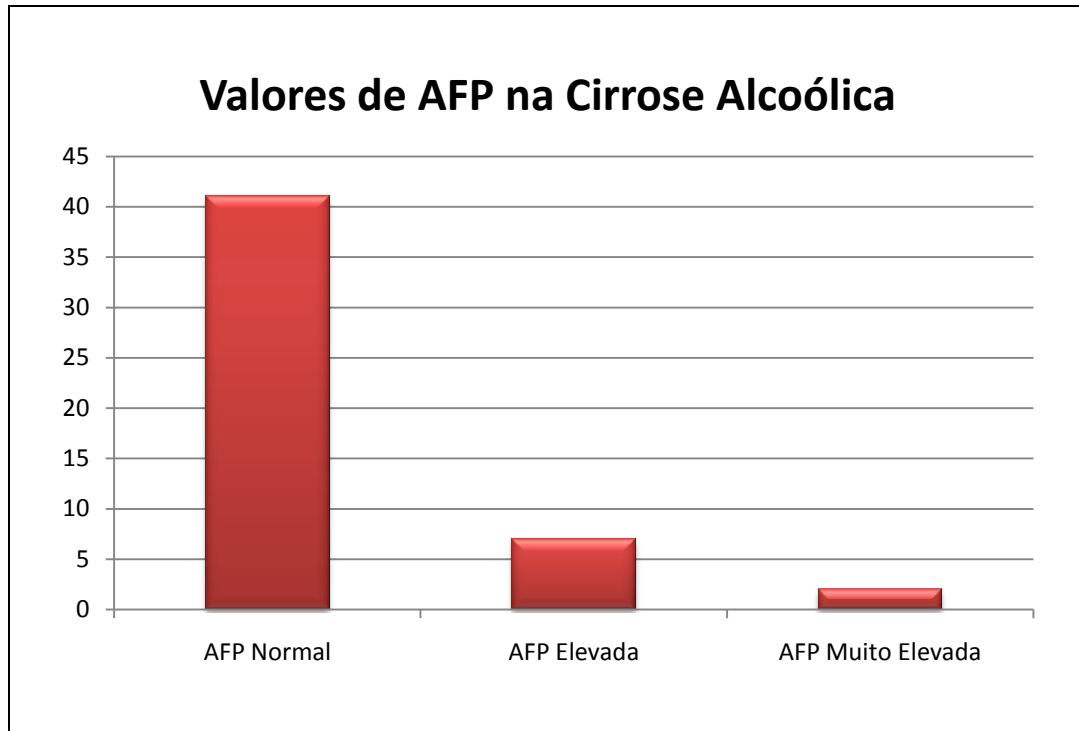


Gráfico 10. Valores de AFP em doentes com CAF, em 2008.

### **Relações estatísticas efectuadas entre dados de doentes com o diagnóstico de CHC e CAF**

Neste estudo foram usados 78 doentes, 28 com diagnóstico de CHC e 50 com diagnóstico de CAF.

Foram considerados os seguintes intervalos de AFP:

- Normal (valores iguais ou inferiores a 7 ng/ml);
- Elevado (valores compreendidos entre 7 e 21 ng/ml).

Quanto às idades dos pacientes, consideraram-se 2 grupos:

- Inferior a 65 anos de idade;
- Com idades iguais ou superiores a 65 anos.

#### **Relação da AFP com a presença de CHC ou CAF**

Foi realizado um estudo estatístico onde se relacionaram os valores de AFP (normal ou elevado) com a presença de CHC ou de CAF. (Tabela 23)

<b>AFP</b>	<b>Presença de CHC</b>	<b>Presença de CAF</b>	<b>Nº pacientes</b>
<b>Elevado</b>	22	9	31
<b>Normal</b>	6	41	47
<b>Nº pacientes</b>	28	50	78

Tabela 23. Relação dos valores de AFP com a presença de CHC ou de CAF. *p value* = 0.0000002.

Os valores de AFP estão elevados em 22 dos 28 pacientes com diagnóstico de CHC; por outro lado, em 41 dos 50 pacientes com diagnóstico de CAF, os valores de AFP encontram-se dentro dos parâmetros normais. (Gráfico 11)

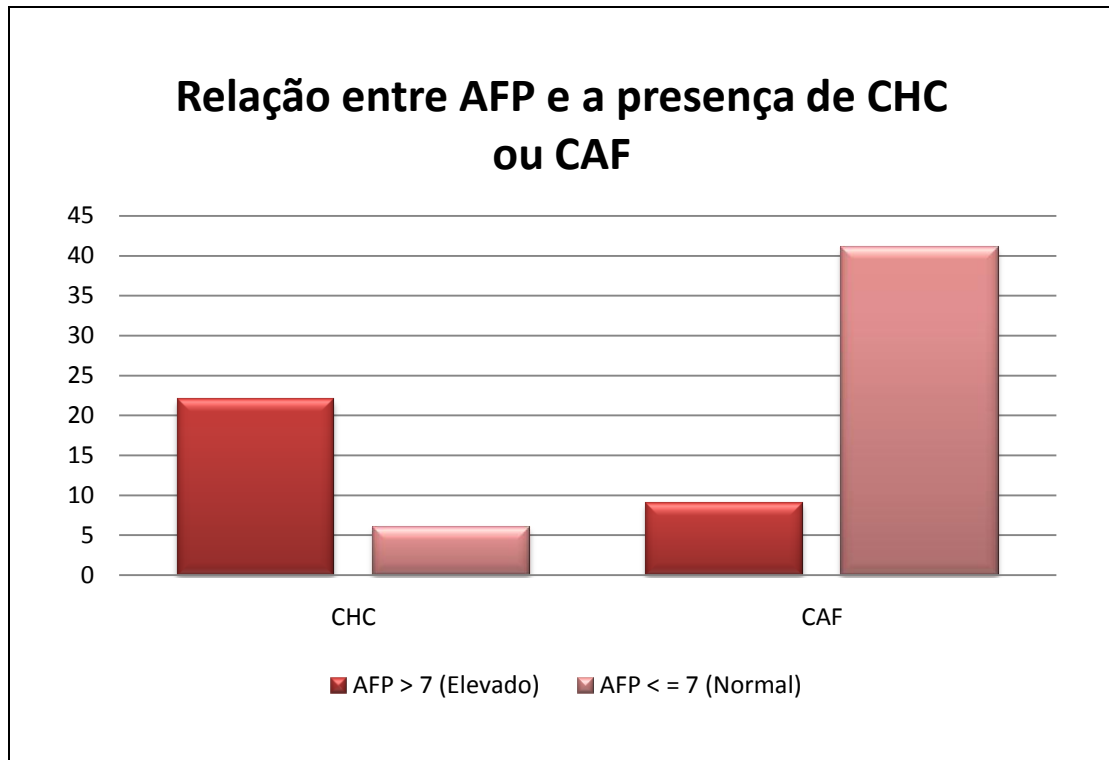


Gráfico 11. Relação entre os valores de AFP e a presença de CHC ou CAF.

Este estudo obteve um *p value* de 0.0000002, o que significa que é estatisticamente significativo.

### **Relação entre a idade e a presença de CHC ou CAF**

Foi realizado um estudo estatístico onde se relacionaram as faixas etárias com a presença de CHC ou de CAF. (Tabela 24)

Idade	Presença de CHC	Presença de CAF	Nº pacientes
< 65 anos	9	24	33
≥ 65 anos	19	26	45
Nº pacientes	28	50	78

Tabela 24. Relação entre as faixas etárias e a presença de CHC ou CAF.

Dos 28 doentes diagnosticados com CHC, apenas 9 tinham menos de 65 anos de idade.

Quanto à CAF, 24 doentes tinham idade inferior a 65 anos e os restantes tinham mais de 65 anos. (gráfico 12)

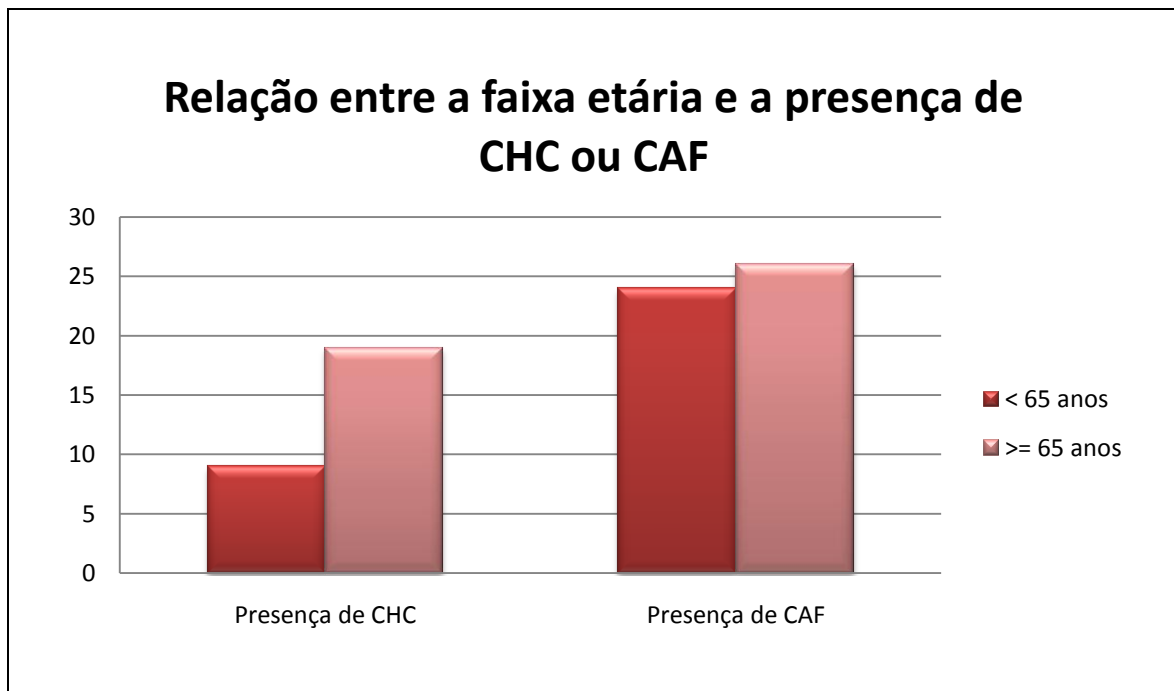


Gráfico 12. Relação entre as faixas etárias e a presença de CHC ou CAF.

Neste estudo obteve-se um *p value* de 0.17, não sendo estatisticamente significativo.

### **Relação entre o género e a presença de CHC ou CAF**

Foi ainda possível analisar estatisticamente a relação entre género com a presença de CHC ou de CAF. (Tabela 25)

Género	Presença de CHC	Presença de CAF	Nº pacientes
Masculino	26	48	74
Feminino	2	2	4
Nº pacientes	28	50	78

Tabela 25. Relação entre género e presença de CHC ou CAF.

A presença de CHC e de CAF foi mais significativa no sexo masculino; 26 dos 28 doentes com CHC e 48 dos 50 doentes com CAF eram do sexo masculino. (Gráfico 13)

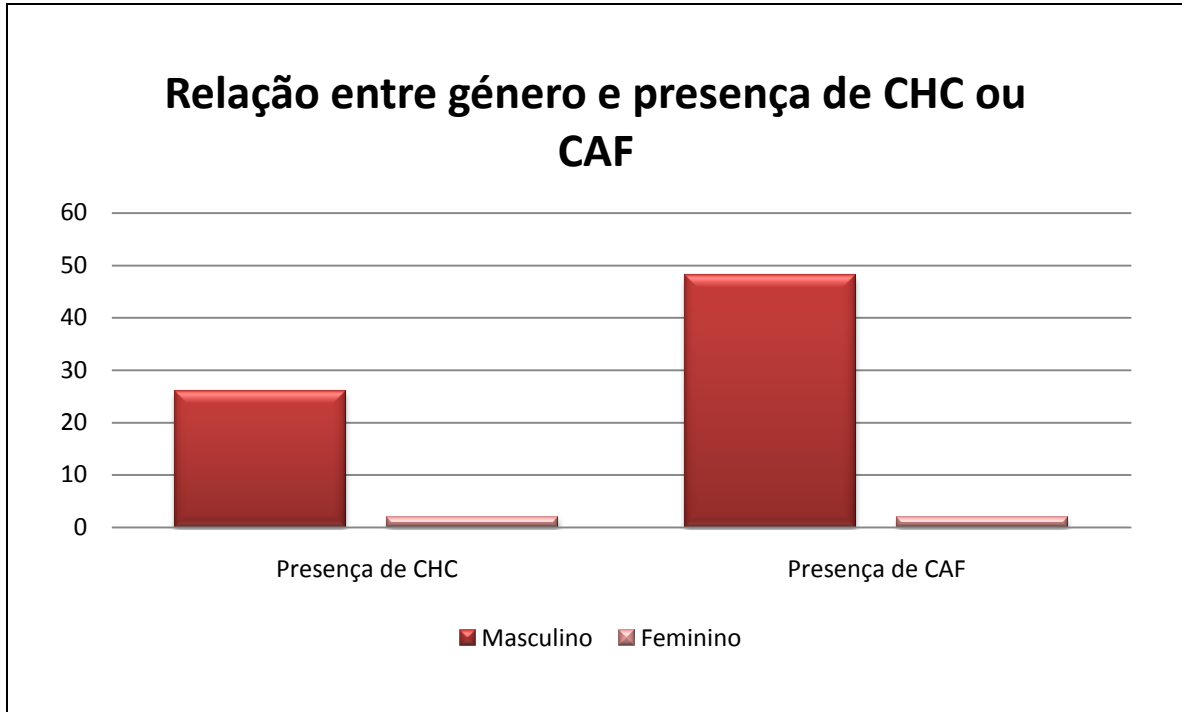


Gráfico 13. Relação entre género e presença de CHC ou CAF.

Este estudo obteve um *p value* de 0.54, não sendo estatisticamente significativo.

Relativamente às 8 amostras colhidas (2 doentes com o diagnóstico de CHC e 6 doentes com diagnóstico de cirrose hepática), estas foram centrifugadas e armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$ , sendo posteriormente enviadas para o laboratório da Wako Chemicals, em Neuss na Alemanha. Este laboratório dispôs-se a realizar a análise qualitativa da AFP sérica destes 8 doentes (AFP L3 e AFP P4+P5). Por se tratar de um processo moroso e que exige uma difícil articulação entre instituições, os resultados ainda não estão disponíveis. Baseando-se nos resultados de estudos similares, <sup>(14,17)</sup> espera-se que esta análise demonstre proporções superiores de AFP L3 e AFP P4+P5 nos pacientes com CHC, em relação aos doentes com cirrose hepática.

## V. Discussão

Em relação aos resultados referentes aos 28 doentes com CHC, constatou-se que 93% eram homens e apenas 7% eram mulheres; como já havia sido dito no desenvolvimento, este tumor atinge predominantemente o sexo masculino e neste estudo comprovou-se este predomínio.

Quanto à distribuição etária, 57% dos doentes apresentavam idade superior ou igual a 70 anos e 43% encontravam-se entre os 50 a 70 anos de idade. Embora tenha encontrado referências que afirmam que este tumor é mais frequente entre os 30 e os 50 anos de idade, nenhum destes 28 doentes tinha menos de 50 anos.

Relativamente aos valores de AFP apresentados por estes doentes no momento do diagnóstico tumoral, 54% apresentavam valores de AFP muito elevado, 25% apresentavam valores elevados de AFP e apenas 21% apresentavam valores de AFP normais. De uma forma geral, 79% dos doentes apresentavam valores de AFP fora dos parâmetros normais, o que indica que a medição da AFP sérica, embora não 100% sensível, continua a ser um bom meio auxiliar de diagnóstico.

Em relação à etiologia, em 71% dos casos (20 doentes) o desenvolvimento tumoral estava associado ao consumo crónico e contínuo de álcool, em 11% dos doentes estava associado ao VHC, em outros 11% a etiologia era não especificada e 7% dos casos estavam relacionados com o VHB. Como referido anteriormente, é claro o predomínio do álcool como etiologia da doença hepática crónica e, posteriormente, CHC.

Em termos de tamanho tumoral, 64% destes doentes apresentavam tumores de tamanho superior a 3 cm, no momento do diagnóstico. Seria importante avaliar os valores de AFP sérica nestes doentes de modo a conseguir realizar um diagnóstico mais precoce, uma vez que nos tumores com dimensão superior a 3 cm (18 casos), valores muito

elevados de AFP foram os que mais se registaram (13 casos). Nos tumores com dimensão igual ou inferior a 3 cm (10 casos), em apenas 2 casos se registaram valores de AFP muito elevada. Apesar disso, e após tratamento estatístico no programa *Epi Info*, o valor de *p value* foi de 0.89, o que significa que não é estatisticamente significativo, não sendo possível correlacionar o valor de AFP com o tamanho tumoral.

Foi também estudada a relação entre a etiologia tumoral nestes 28 doentes e os respectivos valores de AFP apresentados no momento do diagnóstico. Dos 20 doentes com CHC causado pelo consumo crónico e contínuo de álcool, 17 apresentam valores de AFP fora dos parâmetros normais sendo que 11 destes apresentam valores muito elevados ( $\geq 21$  ng/ml). Dos 5 doentes com CHC causado pela infecção crónica pelo VHB ou VHC, nenhum apresenta valores normais de AFP, sendo que 4 destes apresentam mesmo valores muito elevados. De uma forma geral, qualquer que seja a etiologia apresenta alterações dos valores de AFP.

Em relação aos dados relativos aos doentes com diagnóstico de CAF, 96% são do sexo masculino, o que denota o predomínio do sexo masculino para esta patologia, citado anteriormente. Quanto à estratificação etária realizada neste grupo de doentes, apenas 12% dos doentes tinham idade inferior a 50 anos, sendo que 60% dos doentes estavam entre os 50 e os 70 anos de idade.

Relativamente aos valores de AFP apresentados por estes doentes no momento do diagnóstico, 82% destes apresentavam valores de AFP normais, 14% apresentavam valores elevados de AFP e apenas 4% apresentavam valores de AFP muito elevados.

Quando foi efectuada a relação entre a faixa etária e a presença de CHC ou CAF, notou-se que dos 28 doentes diagnosticados com CHC, apenas 9 tinham menos de 65 anos de idade. Quanto à CAF, 24 doentes tinham idade inferior a 65 anos e os restantes tinham

mais de 65 anos. Neste estudo obteve-se um *p value* de 0.17, não sendo estatisticamente significativo.

A presença de CHC e de CAF foi mais significativa no sexo masculino; 26 dos 28 doentes com CHC e 48 dos 50 doentes com CAF eram do sexo masculino. Este estudo obteve um *p value* de 0.54, não sendo estatisticamente significativo.

Finalmente, quando relacionámos os valores de AFP tanto com a presença de CHC como com a presença de CAF, notámos que estavam elevados em 22 dos 28 pacientes com diagnóstico de CHC; por outro lado, em 41 dos 50 pacientes com diagnóstico de CAF, os valores de AFP encontram-se dentro dos parâmetros normais. Este estudo obteve um *p value* de 0.0000002, ou seja, estatisticamente significativo.

Uma vez mais, torna-se importante realçar a AFP como marcador do possível desenvolvimento de CHC, dada a elevada percentagem de pacientes com CAF e valores normais de AFP.

Relativamente às 8 amostras colhidas no Centro Hospitalar Cova da Beira (CHCB), esperamos que os resultados demonstrem proporções superiores de AFP L3 e AFP P4+P5 nos pacientes com CHC, em relação aos doentes com cirrose hepática. Se isto se confirmar, estas fracções de AFP tornam-se meios importantes no diagnóstico precoce de CHC. Tornava-se importante realizar esta análise em todos os doentes com cirrose hepática de modo a “prever” o eventual desenvolvimento de CHC.

## VI. Conclusões

Pelas suas taxas de incidência e prevalência tão altas, pela sua elevada taxa de mortalidade e pela incapacidade funcional que condiciona, torna-se importante estudar a fundo toda a patogenia do Carcinoma Hepatocelular, de modo a conseguir actuar no sentido de as diminuir.

Com a realização deste trabalho de investigação, relativamente aos doentes diagnosticados com CHC no CHCB, concluiu-se que:

- Este tumor atinge, também nesta região, predominantemente o sexo masculino (93% eram homens e apenas 7% eram mulheres);
- Nesta região, 57% dos doentes com CHC apresentam idade igual ou superior a 70 anos;
- 79% dos doentes apresentam valores de AFP fora dos parâmetros normais, o que indica que a medição da AFP sérica continua a ser um bom meio auxiliar de diagnóstico;
- O desenvolvimento tumoral está predominantemente associado ao consumo crónico e contínuo de álcool (71% dos casos);
- Em termos de tamanho tumoral, 64% destes doentes apresentam tumores de tamanho superior a 3 cm, no momento do diagnóstico;
- Nos tumores com dimensão superior a 3 cm (64%), predominam os valores muito elevados de AFP;
- Não é estatisticamente significativa a correlação entre os valores de AFP e o tamanho tumoral;

- Dos 20 doentes com CHC causado pelo consumo crónico e contínuo de álcool, 17 apresentam valores de AFP fora dos parâmetros normais;
- De uma forma geral, qualquer que seja a etiologia pode apresentar alterações dos valores de AFP.

No que se refere aos doentes diagnosticados com CAF, concluiu-se que:

- Há um claro predomínio no sexo masculino, respondendo por 96% dos casos;
- A faixa etária entre os 50 e os 70 anos de idade é a mais afectada, sendo responsável por 60% dos casos;
- A grande maioria destes doentes (82%) apresenta valores de AFP dentro dos parâmetros normais, aquando do diagnóstico.

Quando foi efectuada a relação entre a faixa etária e a presença de CHC ou CAF, notou-se que dos 28 doentes diagnosticados com CHC, apenas 9 tinham menos de 65 anos de idade. Quanto à CAF, 24 doentes tinham idade inferior a 65 anos e os restantes tinham mais de 65 anos. Neste estudo obteve-se um *p value* de 0.17, não sendo estatisticamente significativo.

A presença de CHC e de CAF foi mais significativa no sexo masculino; 26 dos 28 doentes com CHC e 48 dos 50 doentes com CAF eram do sexo masculino. Apesar disso, este estudo obteve um *p value* de 0.54, não sendo estatisticamente significativo.

Por fim, quando foi feita a relação entre os valores de AFP com a presença de CHC ou de CAF, notámos que estes valores estavam elevados em 22 dos 28 pacientes com diagnóstico de CHC; por outro lado, em 41 dos 50 pacientes com diagnóstico de CAF, os valores de AFP encontram-se dentro dos parâmetros normais. Este estudo obteve um

*p value* de 0.0000002, ou seja, estatisticamente significativo. Torna-se, assim, importante realçar a AFP como marcador do possível desenvolvimento de CHC, dada a elevada percentagem de pacientes com CHC e valores de AFP elevados, e com CAF e valores normais de AFP.

Relativamente aos resultados ainda pendentes das 8 amostras colhidas no CHCB, é de esperar que demonstrem proporções superiores de AFP L3 e AFP P4+P5 nos pacientes com CHC, em relação aos doentes com cirrose hepática, uma vez que foram estes os resultados obtidos em estudos semelhantes. <sup>(14, 17)</sup>

Com o desenvolvimento desta e de outras técnicas (nomeadamente novos algoritmos de diagnóstico precoce através da RMN), espera-se que seja possível, cada vez mais, a realização de diagnósticos precoces de CHC e, quem sabe, mesmo a prevenção do seu desenvolvimento em doentes com Cirrose Hepática.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) U.S. Cancer Statistics Working Group. United States cancer statistics: 2004 Incidence and Mortality. Atlanta, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention and National Cancer Institute.
- (2) Feldman M, Friedman L, Brandt, L. “Sleisenger and Fordtran’s – gastrointestinal and liver disease”. 8<sup>th</sup> ed, 2006. p.1885 – 93; 2007 – 17.
- (3) Dani R, Castro L. “Gastroenterologia clínica”. 2<sup>a</sup> ed. Editora Guanabara; p. 1134-63; 1174-88.
- (4) Wolf D. “Definition, Epidemiology and Etiology of Cirrhosis”. emedicine 2008 Aug 11.
- (5) Haslett C, Chilvers E, Boon N, Colledge N. “Davidson’s – principles and practice of medicine”. 19<sup>th</sup> ed. 2002. p. 848-50, 876-78.
- (6) Souto F, Fontes C, Oliveira S, Yonamine F, Santos D, Gaspar A. “Prevalência da hepatite B em área rural de município hiperendêmico na Amazônia Mato-grossense: situação epidemiológica”; Epidemiol Serv Saúde Brasília, 2004 Jun vol13 (nº2).

(7) Alter M, Kruszon-Moran D, Nainan O, McQuillan G, Gao F, Moyer L, et al. “The Prevalence of Hepatitis C Virus Infection in the United States, 1988 through 1994”. NEJM 1999 Aug 19;Vol(341):556-62.

(8) Carpenter, Griggs, Loscalzo. “Cecil essentials of medicine”. 6th ed; 2004. p. 391-93, 411-20.

(9) Townsend C, Beauchamp R, Evers B, Mattox K. “Sabiston – tratado de cirurgia”. 17ª ed. 2005. p. 1548-53 (volume II).

(10) Núcleo de Gastreenterologia dos Hospitais Distritais. “Palição em Gastreenterologia”. 2008. p. 113-32.

(11) Abeloff M, Armitage J, Lichter A, Niederhuber J. “Clinical oncology”. 2<sup>nd</sup> ed. 2000. p. 1681-721.

(12) Berk J, Haubrich W, Kalser M, Roth J, Schaffner F. “Bockus - Gastroenterologia”. 4ª ed. p. 3613-60.

(13) Taketa K, Sekiya C, Namiki M, Akamatsu K, Ohta Y, Endo Y, Kosaka K. “*Lectin-reactive profiles of alpha-fetoprotein characterizing hepatocellular carcinoma and related conditions*”. *Gastroenterol.* 1990 Aug 99(2):508-18.

(14) Shiraki K, Takase K, Tameda Y, Hamada M, Kosaka Y, Nakano T. “A clinical study of lectin-reactive alpha-fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow-up of cirrhotic patients”. *Hepatol.* 1995. p. 802-7 vol22 (nº3).

(15) Ariff B, Lloyd C, Khan S, Shariff M, Thillainayagam A, Bansi D, et al. “Imaging of liver cancer”. *World Journal Gastroenterol.* 2009 Mar 21; 15(11): 1289-1300.

(16) Del Poggio P, Mattiello M, Gilardoni L, Jamoletti C, Colombo S, Zabbialini G. “The mysterious case of spontaneous disappearance of hepatocellular carcinoma.”. *Dig Liver Dis.* 2008 April 15.

(17) Yoshiaki S, Keisuke N, Yuji K, Masayoshi S, Nobuko I, Toshihiko K, et al. “Early Recognition of Hepatocellular Carcinoma Based on Altered Profiles of Alpha-Fetoprotein”; *NEJM.* 1993. Jun 24;328(25):1802-6.

## **BIBLIOGRAFIA**

Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, Yatsuji H, Sezaki H, Suzuki Y, et al. “Substitution of amino acid 70 in the hepatitis C virus code region of genotype 1b is an important predictor of elevated alpha-fetoprotein in patients without hepatocellular carcinoma”. *J Med Virol.* 2008. Aug;80(8):1354-62.

Arase Y, Ikeda K, Suzuki F, Suzuki Y, Kobayashi M, Akuta N, et al. “Interferon-induced prolonged biochemical response reduces hepatocarcinogenesis in hepatitis C virus infection.”. *Journal Med Virol.* 2007 Oct;79(10):1485-90.

Berber E, Rogers S, Siperstein A. “Predictors of survival after laparoscopic radiofrequency thermal ablation of hepatocellular cancer: a prospective study.”. *Surg. Endosc.* 2005 May; 19(5):710-4.

Bialecki ES, Di Bisceglie AM, “Diagnosis of hepatocellular carcinoma.”. *HPB (Oxford).* 2005;7(1):26-34.

Bjerner J, HØgetveit A, Wold Akselberg K, Vangnes K, Paus E, BjØro T, et al. “Reference intervals for carcinoembryonic antigen (CEA), CA125, MUC1, Alfa-feto-protein (AFP), neuron-specific enolase (NSE) and CA19.9 from the NORIP study”. *Scand Journal Clin Lab Invest.* 2008;68(8):703-13.

Borzio M, Fargion S, Borzio F, Fracanzani AL, Croce AM, Stroffolini T, et al. “Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development”. *Journal Hepatol*, 2003 Aug; 39(2):208-14.

Carrat F, Bedossa P, Lunel-Fabiani F, Morand P, Pialoux G, Piroth L, et al. “Serum alpha-fetoprotein predicts virologic response to hepatitis C treatment in HIV coinfecting patients.”. *AIDS*. 2008 Jul 31;22(12):1513-5.

Chen DS, Sung JL, Sheu JC, Lai MY, How SW, Hsu HC, Lee CS, et al. “Serum alpha-fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma”. *Gastroenterol*. 1984 Jun;86(6):1404-9.

Chen TM, Huang PT, Tsai MH, Lin LF, Liu CC, Ho KS, et al. “Predictors of alpha-fetoprotein elevation in patients with chronic hepatitis C, but no hepatocellular carcinoma, and its normalization after pegylated interferon alfa 2a-ribavirin combination therapy”. *Journal Gastroenterol Hepatol*. 2007 May;22(5):669-75.

DeVita V, Hellman S, Rosenberg S. “Cancer – Principles & Practice of Oncology”. 7<sup>th</sup> ed; Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 986-1005.

Durazo FA, Blatt L, Corey W, Lin JH, Han S, Saab S, et al. “Des-gamma-carboxyprothrombin,  $\alpha$ -fetoprotein and AFP-L3 in patients with chronic hepatitis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma”. *Journal of Gastroenterol and Hepatol*. 2008 Apr, 23(10):1541-1548.

Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, et al. "Harrison's principles of internal medicine". 17<sup>th</sup> ed; p. 580-6; 1971-80.

Horvath A, Folhoffer A, Lakatos PL, Halosz J, Illyes G, Schaff Z, et al. "Rising plasma nociceptin level during development of HCC: a case report". World Journal Gastroenterol; 2004 Jan; 10(1):152-4.

Huang YJ, Hsu HC, Wang CY, Wang CJ, Chen HC, Huang EY, et al. "The treatment responses in cases of radiation therapy to portal vein thrombosis in advanced hepatocellular carcinoma.". Int Journal Radiat Oncology Biol Phys. 2009 Mar 15;73(4):1155-63.

Isonishi S, Ogura A, Kiyokawa T, Suzuki M, Kunito S, Hirama M, et al "Alpha-fetoprotein (AFP)-producing ovarian tumor in an elderly woman.". Int Journal Clinical Oncology. 2009 Feb; 14(1):70-3.

Kawai HF, Kaneko S, Honda M, Shirota Y, Kobayashi K. "alpha-fetoprotein-producing hepatoma cell lines share common expression profiles of genes in various categories demonstrated by cDNA microarray analysis.". Hepatol. 2001 Mar;33(3):676-91.

Kuby, Kindt, Goldsby, Osborne. "Immunology". 6<sup>th</sup> ed. 2007. p. 536-7.

Lam VW, Ng KK, Chok KS, Cheung TT, Yuen J, Tung H, et al. "Incomplete ablation after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: analysis of risk factors and prognostic factors.". Ann Surg Oncol. 2008 Mar;15(3):782-90.

Ledingham J, Warrell D. "Concise Oxford Textbook of Medicine". 2000. p. 630-4, 644-5.

Lee HS, Chung YH, Kim CY. "Specificities of serum alpha-fetoprotein in HBsAg+ and HBsAg- patients in the diagnosis of hepatocellular carcinoma.". *Hepatology*. 1991 Jul;14(1):68-72.

Lin SM, Lin DY. "Percutaneous local ablation therapy in small hepatocellular carcinoma". *Chang Gung Med. Journal*. 2003 May; 26(5): 308-14.

Males S, Gad RR, Esmat G, Abobakr H, Anwar M, Rekecewicz C, et al. "Serum alpha-fetoprotein level predicts treatment outcome in chronic hepatitis C.". *Antivir Ther*. 2007;12(5):797-803.

Mazzaferro V, Romito R, Schiavo M, Mariani L, Camerini T, Bhoori S, et al. "Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence with alpha-interferon after liver resection in HCV cirrhosis.". *Hepatology*. 2006 Dec;44(6):1543-54.

Michielsen PP, Francque SM, van Dongen JL. "Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma". *World Journal Surg. Oncology*; 2005 May; 20;3:27.

Miraglia R, Pietrosi G, Maruzzelli L, Petridis I, Caruso S, Marrone G, et al. "Predictive factors of tumor response to trans-catheter treatment in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma: a multivariate analysis of pre-treatment findings.". *World Journal Gastroenterol*. 2007 Dec 7;13(45):6022-6.

Murashima S, Tanaka M, Haramaki M, Yutani S, Nakashima Y, Harada K, et al. “A decrease in AFP level related to administration of interferon in patients with chronic hepatitis C and a high level of AFP.”. Dig Dis Sci. 2006 Apr; 51(4):808-12.

Ohguchi S, Nakatsukasa H, Higashi T, Ashida K, Nouso K, Ishizaki M, et al. “Expression of alpha-fetoprotein and albumin genes in human hepatocellular carcinomas: limitations in the application of the genes for targeting human hepatocellular carcinoma in gene therapy.”. Hepatology, 1998 Feb; 27(2):599-607.

Ravaioli M, Ercolani G, Cescon M, Vetrone G, Voci C, Grigioni WF, et al. “Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: further considerations on selection criteria”. Liver transpl. 2004 Sep; 10(9):1195-202.

S. A. Portis. “Enfermedades del aparato digestivo”; 2ª ed. p. 648-54; 678-9.

Saito S, Ojima H, Ichikawa H, Hirohashi S, Kondo T. “Molecular background of alpha-fetoprotein in liver cancer cells as revealed by global RNA expression analysis”. Cancer Sci. 2008 Nov 24.

Sasaki A, Kai S, Endo Y, Iwaki K, Uchida H, Shibata K, et al. “Hepatitis B virus infection predicts extrahepatic metastasis after hepatic resection in patients with large hepatocellular carcinoma.”. Ann Surg Oncol. 2007 Nov; 14(11):3181-7.

Semenkova LN, Dudich EI, Dudich IV, Shingarova LN, Korobko VG. “Alpha-fetoprotein as a TNF resistance factor for the human hepatocarcinoma cell line HepG2”. *Tumor biology*, 1997, vol. 18, nº1, pp. 30-40.

Tangkijvanich P, Anukulkarnkusol N, Suwangool P, Lertmaharit S, Hanvivatvong O, Kullavanijaya P, et al. “Clinical Characteristics and Prognosis of Hepatocellular Carcinoma: Analysis Based on Serum Alpha-fetoprotein Levels.”. *Journal of Clinical Gastroenterol.* 31(4):302-308, Dec 2000.

Tierney L, McPhee S, Papadakis M. “Lange – current medical diagnosis & treatment”. 45<sup>th</sup> ed, 2006. p. 681-3.

Tong MJ, Hsien C, Song JJ, Kao JH, Sun HE, Hsu L, et al. “Factors associated with progression to hepatocellular carcinoma and to death from liver complications in patients with HBsAg-positive cirrhosis”. *Dig Dis Sci.* 2009 Jun; 54(6):1337-46.

Toyoda H, Kumada T, Osaki Y, Oka H, Kudo M. “Role of tumor markers in assessment of tumor progression and prediction of outcomes in patients with hepatocellular carcinoma”. *Hepatol Res.* 2007 Sep; 37(2):166-71.

Volkman M, Müller M, Hofmann WJ, Meyer M, Hagelstein J, Rãth U, et al. “The humoral immune response to p53 in patients with hepatocellular carcinoma is specific for malignancy and independent of the lpha-fetoprotein status.”. *Hepatol*, 1993 Sep; 18(3):559-65.

Wang CC, Iyer SG, Low JK, Lin CY, Wang SH, Lu SN, et al. “Perioperative factors affecting long-term outcomes of 473 consecutive patients undergoing hepatectomy for hepatocellular carcinoma”; *Ann Surg. Oncol*; 2009 Apr 14.

Warrell D, Cox T, Firth J, Benz E. “Oxford textbook of medicine”; 4<sup>th</sup> ed. 2005 p.756-8.

Won YS, Lee SW. “Targeted retardation of hepatocarcinoma cells by specific replacement of alpha-fetoprotein RNA.”. *Journal of biotechnology*, 2007. p. 614-9. vol.129 n°4.

Yeh CN, Lee WC, Chen MF. “Hepatic resection and prognosis for patients with hepatocellular carcinoma larger than 10 cm: two decades of experience at Chang Gung memorial hospital.”. *Ann Surg. Oncol*. 2003 Nov; 10(9):1070-6.

Yokoo H, Kondo T, Fujii K, Yamada T, Todo S, Hirohashi S. “Proteomic signature corresponding to alpha fetoprotein expression in liver cancer cells.”. *Hepatology*. 2004 Sep. 40(3):609-17.

# **ANEXOS**

From: Robert Kueper ([robert.kueper@wako-chem-co.de](mailto:robert.kueper@wako-chem-co.de))  
Sent: Sunday, May 17, 2009 5:20:56 PM  
To: ana\_marga@msn.com  
📎 2 attachments  
[DCP Flyer...pdf](#) (87.5 KB), [AFP-L3%\\_F...pdf](#) (388.7 KB)  
Subject: AFP-L3 and DCP for a study

Dear Ms Romão,

Thank you very much for inquiring the tests AFP-L3 and DCP. Let me first introduce myself. My name is Robert Kueper and I work for the company Wako in Germany. My US colleagues sent your message to me, because our institution takes care for tasks of Europeans. Before I do more explanations about our test I would refer you to the two flyers attached and invite you to visit our webpage for more information ([www.wako-chemicals.de](http://www.wako-chemicals.de)).

But now to your request: For only 10 samples I could offer you in principle to measure these free of charge in our lab in Germany. I would like you however to organise and pay for the shipment of the samples to my below mentioned address. The shipment should occur under stable frozen conditions with dry ice in the package (-70°C).

Furthermore I cannot now promise you a clear schedule for the measurements. This is because we could add your measurements to other measurements we will do soon, but this schedule is not clear yet.

I'm interested in your research. What is the clinical background of the patients of these 10 samples? Do they have confirmed hepatocellular carcinoma (HCC)?

I'm looking forward to discussing with you further on.

With best regards  
best regards

Robert Kueper

Dr. Robert Kueper , Manager of Business Development

Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

Fuggerstrasse 12, 41468 Neuss Germany

Tel.: +49 (0) 2131 2099354

From: Ana Romão ([ana\\_marga@msn.com](mailto:ana_marga@msn.com))  
Sent: Friday, May 22, 2009 3:00:34 PM  
To: [robert.kueper@wako-chem-co.de](mailto:robert.kueper@wako-chem-co.de)  
Subject: AFP-L3 and DCP for a study

Dear Mr Robert Kueper,

First of all I would like to thank your interest in our work. My goal was to "prove" that the circulating alpha-fetoprotein in the people with hepatocellular carcinoma is different of the one of people with hepatic chronic disease (in relation to fraccions L3 and P4+P5). I studied a group of patients of our region with this pathologies and I will send only 9 samples, 3 with diagnosed hepatocellular carcinoma and 6 with hepatic chronic disease .

I wanted to send 5 samples of each pathology but in our hospital center, there are no more than 3 living people with diagnosed hepatocellular carcinoma.

In the next monday, day 25 of May, the samples will be collected and later I will communicate you the dates of its sending. Once again, grateful for your availability, with the best compliments,

Ana Margarida Romão.