

**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Carcinoma Hepatocelular: evolução da terapêutica e perspetivas futuras**

**Gabriela Gonçalves da silva**

**Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas**

**2017**



**Universidade de Lisboa**

**Faculdade de Farmácia**



# **Carcinoma Hepatocelular: evolução da terapêutica e perspetivas futuras**

**Gabriela Gonçalves da Silva**

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas  
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientadora: Professora Doutora Noélia Maria Silva Dias Duarte**

**2017**



# RESUMO

A nível mundial o Carcinoma Hepatocelular continua a ser uma das principais causas de morte relacionadas com cancro. Está associado a um mau prognóstico decorrente do seu diagnóstico tardio e, na maioria dos casos, apresenta ainda elevadas taxas de recorrência.

O reconhecimento da relevância clínica deste tipo de cancro levou a que nos últimos anos tenham existido importantes desenvolvimentos no seu diagnóstico, estadiamento e tratamento. Contudo, o sorafenib continua a ser única terapêutica sistémica aprovada para o tratamento do Carcinoma Hepatocelular avançado. Sendo assim, novos agentes para o tratamento são urgentemente necessários.

Os múltiplos caminhos envolvidos na oncogénese e proliferação do Carcinoma Hepatocelular providenciam várias oportunidades para o desenvolvimento de novas terapêuticas e estão atualmente a ser ativamente explorados.

**Palavras-chave:** Carcinoma Hepatocelular, terapêutica sistémica, sobrevida global, novas terapêuticas

# ABSTRACT

*Worldwide Hepatocellular Carcinoma remains a leading cause of cancer-related death. It is associated with a poor prognosis due to its late diagnosis and, in most cases, still presents high rates of recurrence.*

*Recognition of the clinical relevance of this type of cancer has led to important developments in its diagnosis, staging and treatment in recent years. However, sorafenib remains the only systemic therapy approved for the treatment of advanced Hepatocellular Carcinoma. Thus, new agents for the treatment are urgently needed.*

*The multiple pathways involved in Hepatocellular Carcinoma oncogenesis and proliferation provide several opportunities for the development of new therapies and are currently being actively explored.*

**Keywords:** *Hepatocellular Carcinoma, systemic therapy, overall survival, new therapies*

# AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Noélia Duarte, o meu sincero agradecimento pela orientação na realização desta monografia. Muito obrigada pelo profissionalismo e pela total disponibilidade que sempre revelou para comigo. O seu apoio foi determinante na elaboração desta monografia.

Não posso deixar de agradecer a todos os que fazem da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa uma segunda casa para os seus alunos. Deixo, portanto, um agradecimento a todos os funcionários e professores que trabalham e lecionam nesta instituição. Um agradecimento especial a todos aqueles que cruzaram o meu caminho durante estes cinco anos e que sempre tiveram uma palavra de encorajamento e preocupação genuína com o meu bem-estar e desenvolvimento pessoal e profissional.

Aos meus colegas e amigos de curso, um Muito Obrigada pela vossa amizade, companheirismo e ajuda ao longo destes cinco maravilhosos anos; porque este curso não se faz de facto sozinho.

À Minha Família, em especial aos Meus Pais e à minha Irmã, um enorme Obrigada por acreditarem sempre em mim, naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida. Espero que esta etapa, que agora termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que constantemente me oferecem.

A vocês, dedico todo este trabalho.

Lisboa, novembro 2017

Gabriela Silva

# ABREVIATURAS

AASLD	<i>American Association for the Study of Liver Disease</i>
ACR	<i>American College of Radiology</i>
ADI-PEG	<i>Pegylated Arginine Deliminase</i>
AFB1	Aflatoxina B1
AFP	Alfa-fetoproteína
BCLC	<i>Barcelona Clinic Liver Cancer</i>
CAFs	Fibroblastos associados ao cancro
CEUS	<i>Contrast Enhanced UltraSound</i>
CFDA	<i>Chinese Food and Drug Administration</i>
CHC	Carcinoma Hepatocelular
CLIP	<i>Cancer of the Liver Italian Program Score</i>
CSCs	<i>Cancer Stem Cells</i>
CT	Tomografia computadorizada
c-TACE	Quimioembolização transarterial convencional
CTLA-4	Antigénio 4 associado ao linfócito T citotóxico
CUPI	<i>Weight of Six Prognostic Factors in Chinese University Prognostic Index</i>
DCP	Des-gama-carboxiprotrombina
DEB-TACE	Quimioembolização transarterial com microesferas farmacológicas
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EASL	<i>European Association for the Study of the Liver</i>
EGF	Fator do crescimento epidérmico
EGFR	Recetor do fator de crescimento epidérmico
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EORTC	<i>European Organisation for Research and Treatment of Cancer</i>
FAH	Focos de hepatócitos alterados
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FGF	Fator de crescimento dos fibroblastos
FGFR	Recetor do fator de crescimento dos fibroblastos
GP73	Proteína Golgi 73
GPC3	Glipicano-3
HBV	Vírus da hepatite B
HbX	Proteína X do vírus da hepatite B



HCV	Vírus da hepatite C
HDACs	Deacetilases das histonas
HEPAVAC	<i>Cancer Vaccine Development of Hepatocellular Carcinoma</i>
HGF	Fator de crescimento dos hepatócitos
HLA	Antigénio leucocitário humano
HSCs	Células estreladas hepáticas
HT	Transplante hepático
hTERT	Transcriptase reversa da telomerase humana
IGFR	Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina
ILs	Interleucinas
iNOS	<i>Inducible Nitric Oxide Synthase</i>
IRE	Eletroporação irreversível
JIS	<i>Japan Integrated Staging Score</i>
LDLT	Transplante hepático de dador vivo
LI-RADS	<i>Liver Imaging Reporting And data System</i>
lncRNAs	Ácidos ribonucleicos longos não-codificantes
LTA	Ablação térmica com laser
M-CSF	Fator estimulador de colónias de monócitos
MDCT	<i>MultiDetector row helical Computed Tomography</i>
MET	Recetor do fator de crescimento dos hepatócitos
MELD	<i>Model for End-stage Liver Disease</i>
miRNAs	Micro ácidos ribonucleicos
MMPs	Metaloproteinases da matriz
MPCT	<i>MultiPhasic helical Computed Tomography</i>
MRI	Imagem por ressonância magnética
MWA	Ablação por micro-ondas
NAFLD	Doença do fígado gordo não alcoólico
NASH	Esteatohepatite não alcoólica
NOCs	Normas de Orientação Clínica
NPs	Nanopartículas
OS	Sobrevida global
OVs	Vírus oncolíticos
PAI	Injeção percutânea de ácido acético
PDGF	Fator de crescimento derivado das plaquetas
PDGFR	Recetor do fator de crescimento derivado das plaquetas
PD-1	<i>Programmed Death receptor 1</i>

PD-L1	<i>Programmed Death Ligand 1</i>
PEI	Injeção percutânea de etanol
PFS	Sobrevida sem progressão
PS	<i>Performance Status</i>
RFA	Ablação por radiofrequência
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TAAS	Antígenos associados ao tumor
TACE	Quimioembolização transarterial
TAMs	Macrófagos associados ao tumor
TARE	Radioembolização transarterial
TGF- $\beta$	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa
TTP	Tempo para a progressão
TUMAPs	Péptidos associados ao tumor
UCSF	<i>University of California San Francisco</i>
UNOS	<i>United Network for Organ Sharing</i>
US	Ultrassonografia
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VEGFR	Recetor do fator de crescimento endotelial vascular

# ÍNDICE

<b>Resumo</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>6</b>
<b>Agradecimentos</b> .....	<b>7</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>8</b>
<b>Índice</b> .....	<b>11</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>14</b>
<b>Índice de Tabelas</b> .....	<b>15</b>
<b>Índice de Anexos</b> .....	<b>16</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>17</b>
<b>Materiais e Métodos</b> .....	<b>19</b>
<b>1. Generalidades e Introdução Clínica</b> .....	<b>20</b>
<b>1.1. Epidemiologia</b> .....	<b>20</b>
<b>1.2. Etiologia e Fatores de Risco</b> .....	<b>22</b>
<b>1.3. Prevenção e Fatores de Proteção</b> .....	<b>26</b>
<b>1.4. Sintomas</b> .....	<b>28</b>
<b>1.5. Diagnóstico</b> .....	<b>28</b>
1.5.1. Diagnóstico invasivo .....	30
1.5.2. Diagnóstico não invasivo.....	31
1.5.2.1. Principais marcadores serológicos .....	31
1.5.2.1.1. Alfa-fetoproteína .....	31
1.5.2.1.2. Des-gama-carboxiprotrombina .....	31
1.5.2.1.3. Glipicano-3.....	32
1.5.2.1.4. Proteína Golgi 73.....	32
1.5.2.1.5. Osteopontina .....	32
1.5.2.2. Principais técnicas imagiológicas.....	32
1.5.2.2.1. <i>Contrast enhanced ultrasound</i> .....	32
1.5.2.2.2. Tomografia computadorizada .....	33
1.5.2.2.3. Imagem por ressonância magnética com gadolínio.....	33
1.5.3. <i>Liver Imaging Reporting And Data System</i> .....	33

<b>1.6. Classificação e Estadiamento .....</b>	<b>34</b>
1.6.1. Sistemas de estadiamento .....	34
1.6.1.1. Sistema BCLC.....	35
<b>2. Tratamento .....</b>	<b>37</b>
<b>2.1. Tratamentos Cirúrgicos .....</b>	<b>37</b>
2.1.1. Ressecção cirúrgica .....	37
2.1.2. Transplante hepático.....	39
<b>2.2. Tratamentos Loco-Regionais .....</b>	<b>41</b>
2.2.1. Ablação percutânea .....	41
2.2.1.1. Ablação química .....	42
2.2.1.2. Ablação térmica .....	43
2.2.1.2.1. Ablação por radiofrequência .....	43
2.2.1.2.2. Ablação por micro-ondas.....	43
2.2.1.2.3. Ablação térmica com laser .....	44
2.2.1.2.4. Crioablação .....	44
2.2.1.3. RFA <i>versus</i> processos cirúrgicos.....	45
2.2.1.4. Eletroporação irreversível .....	46
2.2.2. Quimioembolização transarterial.....	46
2.2.2.1. Quimioembolização transarterial convencional .....	47
2.2.2.2. Quimioembolização transarterial com microesferas farmacológicas.....	47
2.2.2.3. Quimioembolização e outros tratamentos .....	48
2.2.3. Radioembolização transarterial .....	48
2.2.4. Outros tratamentos loco-regionais.....	49
<b>2.3. Tratamentos Sistêmicos .....</b>	<b>50</b>
2.3.1. Hepatocarcinogênese do Carcinoma Hepatocelular.....	50
2.3.2. Alvos do tratamento .....	51
2.3.3. Tratamentos direcionados.....	54
2.3.3.1. Sorafenib.....	54
2.3.3.2. Outras moléculas direcionadas sob desenvolvimento clínico que têm demonstrado resultados promissores .....	55
2.3.3.2.1. Agentes anti-angiogênicos multialvos .....	55
2.3.3.2.2. Anticorpos monoclonais anti-VEGFR.....	56
2.3.3.2.3. Inibidores MET .....	57
2.3.3.2.4. Inibidores MEK.....	57
2.3.3.2.5. Inibidores TGF- $\beta$ .....	57
2.3.3.2.6. Inibidores FGFR.....	58

2.3.3.2.7.	Metabolitos da arginina.....	58
2.3.3.2.8.	Outras moléculas em ensaio clínico.....	59
2.3.4.	Outros tratamentos sob investigação.....	60
2.3.4.1.	Imunoterapia .....	60
2.3.4.2.	Vacinas.....	62
2.3.4.3.	Vírus oncolíticos.....	63
2.3.4.4.	Quimioterapia.....	65
2.3.4.5.	Nanomedicina .....	67
2.3.4.6.	Hormonoterapia .....	69
2.3.4.7.	Epigenética.....	70
2.3.4.7.1.	Metilação do DNA.....	70
2.3.4.7.2.	Deacetilases das histonas.....	70
2.3.4.7.3.	miRNAs .....	71
2.3.4.7.4.	lncRNAs .....	72
2.3.4.8.	Exossomas .....	73
2.3.4.9.	Microambiente tumoral .....	74
<b>Conclusões e Perspetivas Futuras .....</b>		<b>76</b>
<b>Bibliografia .....</b>		<b>78</b>

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Taxas de incidência do CHC de 2006 a 2010 por grupo étnico e idade nos Estados Unidos da América. Adaptado de (9).....	21
<b>Figura 1.2</b> Taxas de incidência do cancro hepático (distribuição mundial em 2012). Adaptado de (11).....	22
<b>Figura 1.3</b> Evolução do diagnóstico do CHC ao longo do tempo. Adaptado de (28). ....	29
<b>Figura 1.4</b> Algoritmo de diagnóstico para o CHC. Adaptado de (7).....	30
<b>Figura 1.5</b> Sistema de estadiamento BCLC para o CHC. * A classificação Child-Pugh não identifica todos os pacientes com disfunção hepática grave que podem ser considerados para transplante hepático. ** Pacientes com cirrose avançada devido a insuficiência hepática grave (Child-Pugh C ou estadios anteriores que preveem um mau prognóstico, MELD elevado) devem ser considerados para transplante hepático. Nestes pacientes, a presença de CHC pode ser uma contraindicação para o transplante hepático se excederem os critérios de inclusão. Adaptado de (10).....	36
<b>Figura 2.1</b> Representação das recomendações da EASL e da EORTC para o tratamento do CHC de acordo com os níveis de evidência (classificação INC) e força da recomendação (sistema GRADE). Adaptado de (7).....	37
<b>Figura 2.2</b> Situações do CHC onde pode ser aplicada a ressecção cirúrgica. Figura realizada com base em informação contida em (6)(7)(10). ....	38
<b>Figura 2.3</b> Sítios e frequência da recorrência do CHC após ressecção cirúrgica. Adaptado de (21).....	39
<b>Figura 2.4</b> Principais técnicas ablativas disponíveis. A primeira técnica usada foi a injeção percutânea de etanol que induz necrose por coagulação da lesão, como resultado da desidratação celular, desnaturação proteica e oclusão química dos pequenos vasos do tumor (6)(7). Foi a técnica ablativa mais usada até 1999 (12). Posteriormente surgiram os tratamentos ablativos térmicos que são, atualmente, os mais utilizados. Figura realizada com base em informação contida em (7)(10)(42).....	42
<b>Figura 2.5</b> Anormalidades moleculares e genéticas que ocorrem durante a hepatocarcinogénese do CHC. Adaptado de (2). ....	51
<b>Figura 2.6</b> Alguns dos recetores de superfície celular e vias de sinalização intracelulares envolvidas na hepatocarcinogénese do CHC. Adaptado de (2).....	53
<b>Figura 2.7</b> Esquema resumo dos mecanismos de ação e principais terapêuticas direcionadas do CHC. Adaptado de (2). ....	59
<b>Figura 2.8</b> Componentes do microambiente do CHC e a sua interação. EGF: fator de crescimento epidérmico; FGF: fator de crescimento dos fibroblastos; HbX: proteína X do vírus	

da hepatite B; M-CSF: fator estimulador de colónias de monócitos; PDGF: fator de crescimento derivado das plaquetas; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular. Adaptado de (123).  
.....75

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> Frequência dos principais sintomas e sinais físicos do CHC. Adaptado de (26).	28
<b>Tabela 1.2</b> Comparação entre os diferentes sistemas de estadiamento do CHC. Adaptado de (36).	35
<b>Tabela 2.1</b> Comparação da RFA com a resseção cirúrgica. Adaptado de (41).	46
<b>Tabela 2.2</b> Exemplos de moléculas e de combinações de moléculas em ensaios clínicos de fase I/II ou II para o tratamento sistémico do CHC avançado. Adaptado de (58).	59
<b>Tabela 2.3</b> Outros ensaios clínicos para o tratamento avançado do CHC a decorrer na área da Imunoterapia. Adaptado de (58).	61
<b>Tabela 2.4</b> Outros ensaios clínicos para o tratamento do CHC a decorrer na área da Quimioterapia. Adaptado de (58).	66
<b>Tabela 2.5</b> Outros ensaios clínicos para o tratamento do CHC a decorrer na área da Nanomedicina. Adaptado de (58).	68
<b>Tabela 2.6</b> Estudos pré-clínicos do sorafenib em combinação com estratégias da Nanomedicina. Adaptado de (106).	68
<b>Tabela 2.7</b> Alguns ensaios clínicos a decorrer para o tratamento do CHC com HDACs. Adaptado de (58).	71
<b>Tabela 2.8</b> Ensaios clínicos a decorrer para o CHC envolvendo miRNAs. Adaptado de (58).	72

# ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo A</b> - Sintomas do CHC e respetivos tratamentos. Adaptado de (27). .....	90
<b>Anexo B</b> - Cálculo do Child-Pugh e respetivas categorias. Adaptado de (35). .....	91
<b>Anexo C</b> - Categorias do performance status. Adaptado de (29). .....	91
<b>Anexo D</b> - Equação MELD e equação CHC-MELD. Adaptado de (124)(125)(126). .....	92
<b>Anexo E</b> - Critérios de seleção no transplante hepático para tratar o CHC. Adaptado de (39). .....	92
<b>Anexo F</b> - Algoritmo proposto para a ablação térmica de nódulo único. Adaptado de (47). 93	
<b>Anexo G</b> - Algoritmo proposto para a ablação térmica de nódulos múltiplos. Adaptado de (47). .....	93
<b>Anexo H</b> – Recetores dos fatores de crescimento e mediadores da angiogénese. ....	94



# INTRODUÇÃO

O Carcinoma Hepatocelular (CHC) apresenta uma crescente importância global, com as suas taxas de incidência e mortalidade a aumentar acentuadamente nas últimas décadas (1). Atualmente, o CHC é a doença maligna primária mais comum do fígado, com aproximadamente 626 000 novos casos diagnosticados mundialmente todos os anos (2).

A maioria destes tumores desenvolve-se em pacientes com doença crónica hepática e cirrose pré-existentes, mais comumente como resultado de alcoolismo crónico ou hepatite viral (2)(3). Estima-se que a cirrose alcoólica acarreta um risco aumentado de 25% de transformação maligna, enquanto a hepatite viral conduz a CHC em 40% dos pacientes (2). Outros fatores de risco bem conhecidos são a aflatoxina B1 (AFB1) e a hemocromatose (3). Várias estratégias foram implementadas com vista a melhorar os benefícios clínicos e os resultados terapêuticos. A prevenção da ingestão de álcool ou a vacinação contra a infeção pelo vírus da hepatite B (HBV) podem prevenir o CHC em muitos casos, mas não podem eliminar a doença (4).

O CHC caracteriza-se por ser uma doença assintomática nos estadios iniciais, o que geralmente conduz a um diagnóstico tardio (1). É imperativo que o CHC seja identificado antes de invadir a vasculatura regional ou metastatizar, pois somente os pacientes com doença localizada podem sofrer resseção cirúrgica, ablação ou transplante hepático com intenção curativa (2). Contudo, mais de 70% dos pacientes não são elegíveis para estes procedimentos, uma vez que a maioria deles já possui doença em estadio intermédio ou avançado no momento do diagnóstico (5). Os pacientes com CHC localizado, mas que não são candidatos à resseção cirúrgica ou ao transplante hepático, podem ser considerados para tratamentos loco-regionais, tais como radioembolização, quimioembolização ou ablação (2). Pacientes com CHC localmente avançado ou metastizado podem beneficiar do tratamento com sorafenib - a única terapêutica sistémica aprovada até à data (2)(5). No entanto, o controlo da doença com o sorafenib é de curta duração, alguns pacientes não toleram o fármaco e o tempo médio de sobrevida é ainda inferior a um ano (3)(5). Além disso, após a falha da terapêutica com sorafenib, não existe outro tratamento padrão (3). A combinação do sorafenib com terapêuticas loco-regionais ou outras terapêuticas sistémicas oferece efeitos terapêuticos adicionais e está a ser ativamente investigada, bem como alternativas ao próprio sorafenib (2).

O CHC é relativamente insensível à quimioterapia convencional (2). A maioria dos pacientes tem disfunção hepática subjacente o que prejudica o metabolismo dos fármacos e aumenta a toxicidade relacionada com o tratamento (2). Como resultado, menos de 7% dos

pacientes sobrevivem 5 anos após o diagnóstico de CHC localmente avançado ou metastizado (2).

Devido à falta de sucesso no tratamento do CHC avançado com as modalidades tradicionais de radiação e quimioterapia sistêmica, as pesquisas mais recentes são focadas no desenvolvimento de terapêuticas direcionadas (2)(3). Estas terapêuticas, em rápida expansão, consistem, sobretudo, em anticorpos monoclonais e inibidores de pequenas moléculas (2). Estas novas terapêuticas visam ainda preferencialmente as alterações moleculares que levam os hepatócitos malignos a crescer e a metastizar, melhorando, potencialmente a eficácia do tratamento e reduzindo a toxicidade sistêmica (2)(3). Outras áreas começam agora a surgir como alternativas para encontrar novas vias e novos alvos terapêuticos para o CHC, como é o caso da Imunoterapia, Nanomedicina, Epigenética e Microambiente Tumoral.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração desta revisão bibliográfica foram utilizados os motores de pesquisa *Google scholar*, *Pubmed* e a base de dados *B-on*, bem como os sites de vários jornais de especialidade (*Diseases*, *Hepatoma Research*, *The New England Journal of Medicine*, *Clinical Oncology*, *Clinical Review in Oncology Hematology*, *Gastroenterology* e *Clinical Liver Disease*) e os sites *Hindawi* e *Wiley Online Library*. Destes foram cuidadosamente selecionados os artigos científicos que melhor se adequavam ao tema, que transmitiam informações científicas atualizadas e que permitissem perceber a evolução do conhecimento sobre o Carcinoma Hepatocelular, sobretudo, em termos de terapêutica.

A pesquisa teve início a 1 de março de 2017 e fim a 13 de setembro de 2017. Pontualmente foram realizadas pesquisas fora destas datas.

Foi feita a exclusão de artigos anteriores a 1997. Houve restrição de idioma a Inglês, Português e Espanhol.

Foram escolhidos 141 artigos e documentos que não publicações, incluindo capítulos parciais de livros científicos. Aquando da seleção de informação foi tida como preferencial toda aquela publicada em jornais científicos ou associada a universidades. Por fim foram incluídas 126 referências bibliográficas.

Relativamente ao critério de pesquisa foi equacionado e metódico sendo que a busca incidiu, principalmente, nas equações "*Hepatocellular Carcinoma*", "*Epidemiology and risk factors for Hepatoceullar Carcinoma*", "*Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma*", "*Staging Systems for Hepatocellular Carcinoma*", "*Treatments for Hepatoceullar Carcinoma*", "*New treatments for Hepatocellular Carcinoma*", "*Advances in Hepatocellular Carcinoma Treatment*" e "*Future Prespectives for Hepatocellular Carcinoma*".

# 1. GENERALIDADES E INTRODUÇÃO CLÍNICA

## 1.1. EPIDEMIOLOGIA

O CHC é a neoplasia primária mais comum do fígado, constituindo cerca de 90% dos casos (1). É atualmente a sexta causa mais comum de cancro a nível mundial e a segunda principal causa de morte por cancro (1)(6).

### **Sexo:**

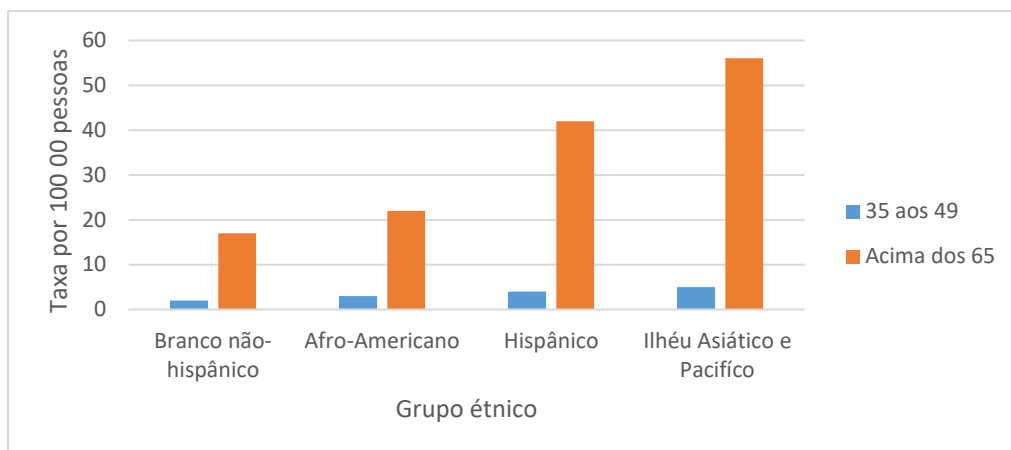
O CHC tem uma predominância masculina marcada, com uma proporção masculino:feminino estimada em 2,4 (7), representando o segundo tipo de cancro mais letal nos homens e o sexto nas mulheres (1). Os homens estão mais frequentemente expostos ao HBV, ao vírus da hepatite C (HCV) e a fatores carcinogénicos, como o álcool e o tabaco (1)(8).

### **Idade:**

A incidência de CHC tem um crescimento diretamente proporcional com a idade, atingindo um pico, em média, aos 70 anos (7) e aparecendo raramente antes dos 40 anos, exceto em populações onde o HBV é endémico (1). Contudo, a distribuição global por idades varia de acordo com a região, taxas de incidência, sexo e etiologia (8).

### **Raça/etnia:**

As taxas de incidência do CHC variam largamente entre diferentes populações que vivem na mesma região (Figura 1.1). A razão para esta variabilidade étnica é, provavelmente, resultado da diferença de prevalência e aquisição de fatores de risco para o CHC (8). Os antecedentes genéticos também podem contribuir para a diferença na incidência de CHC entre grupos étnicos (9).



**Figura 1.1 Taxas de incidência do CHC de 2006 a 2010 por grupo étnico e idade nos Estados Unidos da América. Adaptado de (9).**

### **Distribuição geográfica:**

O padrão de ocorrência do CHC tem uma distribuição geográfica com maiores taxas de incidência na Ásia Oriental, África subsariana e Melanésia (7) (Figura 1.2). A maioria dos casos que ocorrem nestas áreas está relacionadas com a infeção pelo HBV (1)(8)(10) ou com a ingestão de comida contaminada com aflatoxinas, particularmente, a AFB1 (1)(8). Já a incidência em regiões desenvolvidas é baixa, com exceção do sul da Europa onde a incidência nos homens é significativamente mais elevada do que noutras regiões desenvolvidas (7). Nestas regiões desenvolvidas a infeção pelo HCV e o alcoolismo têm um papel relevante (10), assim como a prevalência crescente da doença do fígado gordo não alcoólico (NAFLD) e da esteatohepatite não alcoólica (NASH). O impacto da vacinação infantil universal contra o HBV diminui a taxa de CHC associação ao HBV em países endémicos (7).

Infelizmente, a incidência de CHC tem crescido globalmente (1)(6)(7). Em geral, as taxas de incidência e mortalidade eram, respetivamente, 65 000 e 60 240 casos na Europa e 21 000 e 18 400 casos nos Estados Unidos da América em 2008. Estima-se que em 2020 o número de casos irá atingir, respetivamente, na Europa e nos Estados Unidos da América, 78 000 e 27 000 (7).

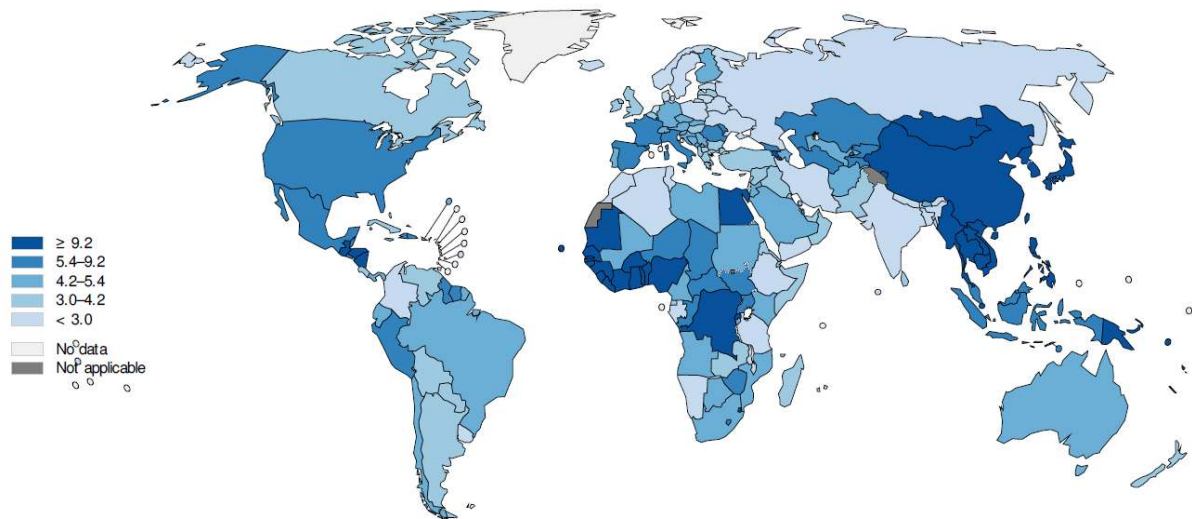


Figura 1.2 Taxas de incidência do cancro hepático (distribuição mundial em 2012). Adaptado de (11).

## 1.2. ETIOLOGIA E FATORES DE RISCO

Aproximadamente 90% dos casos de CHC estão associados a um fator de risco subjacente conhecido (7). Os fatores mais frequentemente apontados são a hepatite viral crónica (tipos B e C), a ingestão de álcool e a exposição a aflatoxinas (7).

Mundialmente, cerca de 54% dos casos são atribuíveis à infeção pelo HBV, enquanto 31% dos casos são atribuíveis à infeção pelo HCV, deixando cerca de 15% dos casos associados a outras causas (7)(12).

A cirrose é um importante fator de risco para o CHC e, em geral, um terço dos doentes cirróticos (30 a 35%) irá desenvolver CHC ao longo da vida (7)(12). É estimado que o risco anual de desenvolvimento de CHC em doentes cirróticos varie entre 1 e 8% de acordo com a etiologia (12)(13). A cirrose pode ser causada, por exemplo, por hepatite viral crónica (B ou C), alcoolismo, doenças metabólicas hereditárias e doenças do fígado não alcoólico (6)(10). As características de gravidade da doença hepática (baixo número de plaquetas, menos de  $100 \times 10^3$  e presença de varizes esofágicas), adicionadas à idade e ao género masculino, correlacionam-se com o desenvolvimento do CHC nos doentes cirróticos.

Nos últimos anos, a obesidade, a diabetes e o tabagismo também passaram a ser reconhecidos como causas possíveis do CHC (7)(10).

## **Hepatites virais:**

- **Vírus da Hepatite B**

Portadores do HBV têm um risco 5 a 15 vezes superior de desenvolver CHC (8). O risco de CHC está ainda aumentado em pacientes que foram infetados por HBV do genótipo C (7)(8)(13). Embora 70 a 90% dos casos de CHC relacionados com o VHB se desenvolvam em doentes cirróticos, o HBV é também uma causa maioritária de CHC na ausência de cirrose (8)(13). Os portadores do HBV têm um risco ainda aumentado de desenvolver CHC quando a infeção está associada a outros fatores de risco (8)(13).

- **Vírus da Hepatite C**

O HCV aumenta o risco de desenvolver CHC ao promover a fibrose e, eventualmente, a cirrose (8). Nos pacientes infetados com este vírus, os fatores relacionados com o hospedeiro e o ambiente parecem ser mais importantes que os próprios fatores virais na progressão para a cirrose (8). Estes fatores incluem a idade avançada, género masculino, consumo de álcool, diabetes, obesidade e coinfeção com o HBV ou o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (8)(13). Sabe-se ainda que o genótipo 1b do HCV aumenta o risco de CHC (7).

## **Fatores de risco ambientais:**

- **Álcool**

O consumo abusivo e prolongado de álcool está estabelecido como um fator de risco para o desenvolvimento de CHC (8)(13). Dos que consomem álcool de forma abusiva e prolongada, aproximadamente 10 a 35% desenvolvem esteatohepatite alcoólica, cerca de 10 a 20% desenvolvem cirrose e destes cerca de 10% desenvolvem CHC (14). Há evidência de um efeito sinérgico no desenvolvimento de cirrose e, conseqüentemente, de CHC entre o consumo abusivo de álcool e a infeção por HCV e, em menor grau, com a infeção por HBV (8)(13).

- **Tabaco**

A evidência da ligação entre o tabagismo e a ocorrência de CHC era contraditória, mas evidências mais recentes confirmam que o tabagismo é, de facto, um fator de risco para o desenvolvimento de CHC (7)(14). A exposição ao tabaco pode contribuir para o desenvolvimento de CHC não só devido à presença de agentes potencialmente carcinogénicos, mas também pela produção de stress oxidativo devido à produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) e depleção de antioxidantes endógenos (14).

- **Aflatoxinas**

As aflatoxinas, em especial a AFB1, são potentes agentes carcinogénicos hepáticos (8)(13), que podem contribuir para 4,6 a 28,2% dos casos de CHC (9). Uma vez ingerida, a AFB1 sofre metabolização a um intermédio ativo (AFB1-exo-8,9-epóxido) o qual se pode ligar ao ácido desoxirribonucleico (DNA), produzindo uma mutação característica no codão 249 do gene supressor de tumor p53 (p53 249<sup>serina</sup>) (8)(13).

Foi observado que áreas com elevadas taxas de incidência de CHC e elevadas taxas de ingestão de AFB1 correspondem a áreas onde o HBV é endémico. Assim, é provável que a exposição à AFB1 associada à infeção por HBV apresente uma interação sinérgica no aumento do risco de desenvolvimento de CHC (7)(8)(12)(13)(15).

- **Contracetivos Oraís**

Existem dados biológicos e experimentais que sugerem um possível papel dos contracetivos orais no desenvolvimento de neoplasias hepáticas (8)(16).

Os recetores nucleares dos estrogénios que existem nos hepatócitos estão aumentados no CHC, sugerindo uma resposta hormonal do tecido neoplásico (8)(17)(16). Pensa-se ainda que os estrogénios, componentes dos contracetivos orais, provocam a neoplasia do fígado ao aumentarem as taxas de proliferação e, conseqüentemente, as taxas de mutação espontânea (8)(16). A genotoxicidade direta também é apontada como uma possível causa, já que durante o metabolismo dos estrogénios são produzidos radicais livres que podem provocar dano oxidativo (16). Contudo, a evidência epidemiológica da ligação entre o consumo de contracetivos orais e o desenvolvimento CHC é, ainda, pouco clara (8)(17)(16).

### **Condições crónicas:**

- **Doenças do fígado não alcoólico**

A NAFLD e a NASH têm sido apresentadas como fatores de risco para o desenvolvimento de CHC (7)(9)(15). Como parte do Síndrome Metabólico estas condições ocorrem frequentemente associadas à obesidade e à diabetes *mellitus*, tornando não só mais difícil compreender o contributo individual de cada fator de risco, como os mecanismos pelos quais estes fatores de risco atuam (9)(15). Embora, tipicamente não seja uma condição progressiva, pelo menos 20 a 30% dos pacientes com NAFLD progridem para NASH, que por sua vez pode resultar em cirrose em 10 a 20% dos casos (18). A taxa de progressão de NASH para CHC é baixa, aproximadamente 2,6% por ano. Contudo, atualmente o NASH pode afetar uma em cada três pessoas nas populações ocidentais, tornando este fator de risco cada vez mais significativo (9).



- **Obesidade**

Tem sido proposto que aumenta o risco de CHC ao promover o desenvolvimento e progressão da fibrose hepática. Contudo, estudos experimentais sugerem que também pode aumentar o risco por outros mecanismos, tais como o envelhecimento epigenético dos hepatócitos e a modificação da microbiota intestinal, que favorece a formação de hepatotoxinas (18). Existe evidência epidemiológica crescente de que a obesidade com outro fator de risco estabelecido está associada a um risco aumentado de CHC (18).

- **Diabetes *Mellitus***

Surge como fator de risco não só pela sua associação com a NAFLD/NASH e com a cirrose, mas também por contribuir para a esteatose hepática. Mais recentemente, dados sugerem uma relação mais direta devido à promoção de danos no material genético através da formação de ROS que surgem em consequência do aumento de citocinas inflamatórias, tais como as interleucinas (ILs) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) (17)(18).

#### **Fatores genéticos e doenças hereditárias:**

- **Tendência familiar**

A tendência familiar do cancro hepático está bem documentada, sendo que esta pode resultar da transmissão da infeção por HBV/HCV e/ou a partilha de hábitos de vida e fatores ambientais desfavoráveis (19)(20). Estudos revelam um aumento superior a duas vezes no risco de desenvolvimento de cancro hepático em indivíduos com familiares que apresentem história de cancro do fígado (19).

- **Hemocromatose**

Foram descritas duas mutações: C282Y e H63D, sendo que a primeira é a mais frequente no CHC (17). É o fator de risco mais comum para o CHC que pode ser herdado (15). A incidência anual de CHC na hemocromatose hereditária é estimada em 8 a 10% e ocorre quase exclusivamente em indivíduos com cirrose (9). Há evidência que o aumento do ferro no fígado provoca lesão, especialmente quando combinado com outros fatores de risco (9)(17).

- **Deficiência de alfa-1-antitripsina**

O fenótipo homozigótico PiZ está associada a lesão do fígado, cirrose e cancro hepático, presumivelmente por causa da acumulação da alfa-1-antitripsina mutante no retículo endoplasmática das células hepáticas (17)(21).

- **Porfiria**

Os dois tipos de porfiria, porfiria cutânea tarda e porfiria aguda intermitente, têm vindo a ser associadas a um risco aumentado de CHC (19). Relatórios sugerem que a prevalência de CHC em doentes com a porfiria mais comum, porfiria cutânea tarda, é superior a 16%, sendo que este valor pode estar relacionado com uma taxa também aumentada nestes pacientes de HCV (19)(21).

### 1.3. PREVENÇÃO E FATORES DE PROTEÇÃO

A prevenção do CHC pode ser alcançada ao evitar os fatores de risco que lhe estão associados (10)(22). Assim, a prevenção primária do CHC pode ser conseguida com a vacinação contra o HBV (7)(10), enquanto que a infeção por HCV, exposição a aflatoxinas, álcool, obesidade, diabetes *mellitus* ou ao Síndrome Metabólico podem ser prevenidos através de campanhas destinadas a melhorar as condições sanitárias e a promoverem estilos de vida mais saudáveis (10).

O desenvolvimento de vacinas contra o HBV para pré-exposição profilática e para pós-exposição profilática reduziu drasticamente a incidência de HBV (13). O estabelecimento de um programa de vacinação global contra o HBV pode prevenir até 100 000 casos de CHC por ano (22). O desenvolvimento do rastreio eficaz ao dador de sangue para o HBV na década de 1980 e para o HCV na década de 1990, reduziu ainda drasticamente a incidência de hepatite viral associada a transfusões (13).

Se o fator de risco já tiver sido adquirido, a única hipótese é tentar prevenir a progressão para cirrose através da administração de tratamentos antivirais e/ou o abandono de hábitos que possam aumentar os riscos (10)(22). Com cirrose estabelecida, não há evidência conclusiva de que o tratamento antiviral possa prevenir ou retardar o aparecimento do CHC (7).

#### **Fármacos:**

- **Metformina:** alguns estudos quer *in vitro* como *in vivo* concluíram que o uso prolongado de metformina reduz o risco de CHC em doentes diabéticos de uma forma potencialmente dependente da dose (9)(23)(24).

- **Estatinas:** uma meta-análise de 10 estudos com quase 1,5 milhões de pessoas e 4298 casos de CHC conclui que pessoas a usar estatinas tinham uma redução do risco de CHC de 37% (9)(12)(24).
- **Bloqueadores beta:** um estudo retrospectivo observacional de 2012 estabeleceu a hipótese do tratamento com propranolol poder reduzir o risco de CHC em doentes cirróticos (25).

### **Dieta:**

O papel da dieta na etiologia do CHC é ainda pouco claro. Os antioxidantes da dieta, como o selénio e o ácido fólico, têm demonstrado inibir cancros hepáticos em animais (8)(17). Um resultado favorável decorrente da ingestão de elevadas quantidades de leite, iogurtes, carne branca, ovos e fruta foi também sugerido (8)(17). O consumo de peixe, legumes e gorduras ómega 3 também têm sido associados a um menor risco de desenvolver CHC (12). Da mesma forma também o consumo de vitamina E (12) e vitamina D (9) têm sido associado a esta redução. A dieta mediterrânica, caracterizada por elevado consumo de produtos hortícolas, cereais, azeite, consumo moderado de vinho e peixe e com baixo consumo de carne está a associado a um menor risco de CHC (9)(12).

### **Café:**

Vários estudos epidemiológicos demonstraram que o consumo de café conduz a uma redução do risco de cirrose (8). O seu consumo está ainda associado à redução dos níveis de insulina e risco de desenvolver diabetes *mellitus* tipo 2 (8). Meta-análises revelaram que o consumo de mais do que 2 chávenas de café por dia pode reduzir o risco de CHC até 40%, mesmo na ausência doença hepática prévia (9).

Recomenda-se que todos os pacientes com doença hepática sejam encorajados a tomar café, não só pela possibilidade de redução do risco de desenvolverem CHC, mas também pela sua potencial capacidade de melhorar os testes de função hepática, aumentando a probabilidade de atingir uma resposta virológica sustentada nos casos de infeção crónica pelo HCV e a redução da esteatohepatite na NAFLD/NASH (9).

## 1.4. SINTOMAS

O diagnóstico do CHC é difícil e, frequentemente, requer o uso de marcadores séricos, um ou mais métodos de imagem e confirmação histológica (26).

A ausência de sintomatologia associada nos estádios iniciais da doença faz com que o CHC seja, geralmente, diagnosticado já em fases avançadas da doença em cerca de 80% dos pacientes (26)(27).

Aproximadamente 40% dos pacientes são assintomáticos no momento do diagnóstico (26). Mais ainda, os sintomas do CHC não são específicos desta patologia e relacionando-se mais diretamente com o comprometimento da função hepática (13).

Entre os pacientes com CHC que apresentem sintomatologia, 90 a 95% vão apresentar uma tríade clássica de sintomas: dor abdominal, hepatomegalia e falta de apetite, com consequente perda de peso (13)(27). Pacientes com estes sintomas, geralmente apresentam tumores superiores a 6 cm (26) (Tabela 1.1) (**Anexo A**).

As duas principais complicações decorrentes do CHC são a rutura espontânea do tumor ou o síndrome paraneoplásico (26).

Tabela 1.1 Frequência dos principais sintomas e sinais físicos do CHC. Adaptado de (26).

Sintomas	(%)	Sinais físicos	(%)
Dor abdominal	59-95	Hepatomegalia	54-98
Perda de peso	34-71	Ruído hepático	6-25
Fraqueza	22-53	Ascite	35-61
Inchaço abdominal	28-43	Esplenomegalia	27-42
Sintomas não específicos	25-28	Icterícia	4-35
Icterícia	5-26	Febre	11-54

## 1.5. DIAGNÓSTICO

Atualmente o diagnóstico do CHC em fase precoce é viável em 30 a 60% dos casos (7). A aplicação de protocolos de vigilância, geralmente por ultrassonografia (US), em indivíduos que apresentam determinados fatores de risco (doentes cirróticos independentemente da etiologia e doentes com infecção crónica por HBV), tem permitido aumentar esta percentagem nos últimos anos e, consequentemente, aumentar a aplicação de tratamentos curativos (7)(10) (Figura 1.3).

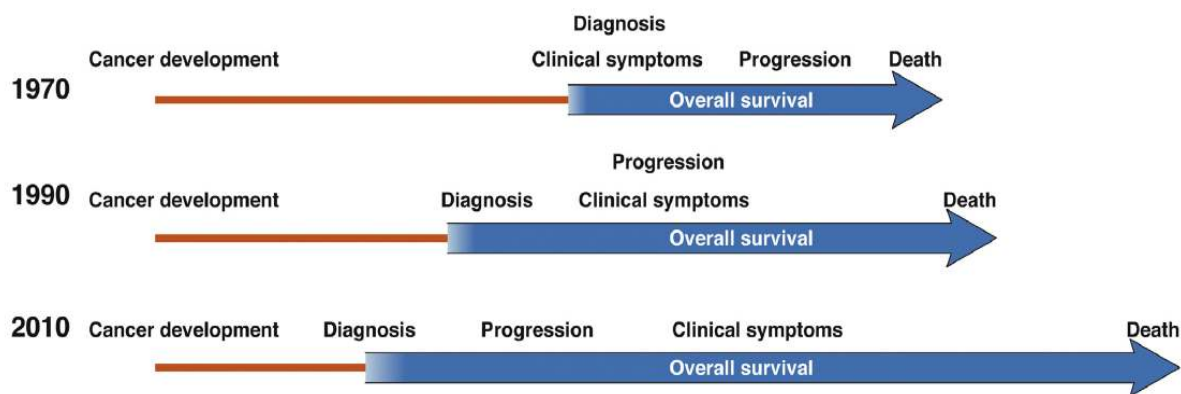


Figura 1.3 Evolução do diagnóstico do CHC ao longo do tempo. Adaptado de (28).

Com os avanços científicos e tecnológicos, o diagnóstico do CHC tem sofrido sucessivas melhorias. Assim, até ao ano 2000 o diagnóstico era baseado na biópsia. Esta abordagem tinha algumas limitações devido não só à localização, mas também ao risco associado de complicações (7). Em 2001, na conferência de consenso da *European Association for the Study of the Liver* (EASL), em Barcelona, foi proposta a utilização do diagnóstico não-invasivo baseado na combinação de alterações imagiológicas e laboratoriais (10). Em 2005, as Normas de Orientação Clínica (NOCs) do painel de especialistas da EASL e da *American Association for the Study of Liver Disease* (AASLD) adotaram a marca radiológica dinâmica e única do CHC (7). Esta marca radiológica decorre do facto de o CHC ter, predominantemente, uma vascularização arterial. Isto determina um padrão vascular específico caracterizado pela absorção de contraste intenso na fase arterial, seguido de lavagem do contraste na fase venosa (7). Os níveis de alfa-fetoproteína (AFP) - principal marcador serológico usado até à data - foram retirados do esquema de diagnóstico (7) (Figura 1.4).

Contudo, a marca radiológica do CHC ocorre apenas numa pequena parte dos carcinomas de pequenas dimensões (1-2 cm) e, deste modo, a biópsia e/ou os marcadores serológicos podem ser necessários. Mais ainda, estes critérios de deteção não-invasivos baseados na deteção específica deste padrão radiológico do CHC são apenas aplicáveis em pacientes com doença hepática crónica. No caso de pacientes sem cirrose estabelecida e/ou ausência de doença crónica a aplicação desses critérios de imagem não são válidos e o exame histopatológico é necessário para obter um diagnóstico conclusivo (10).

Mais recentemente, o *American College of Radiology* (ACR) propôs um sistema conhecido por *Liver Imaging Reporting And Data System* (LI-RADS) que se baseia na recolha de dados e interpretação de tomografias computadorizadas (CTs) e imagens por ressonância magnética (MRIs) de pacientes com risco de desenvolver CHC, facilitando a interpretação por

comparação das CTs e MRIs realizadas aquando da tentativa de diagnóstico de CHC. Este sistema foi publicado *on-line* em 2001 e tem vindo a sofrer atualizações (10)(12)(29).

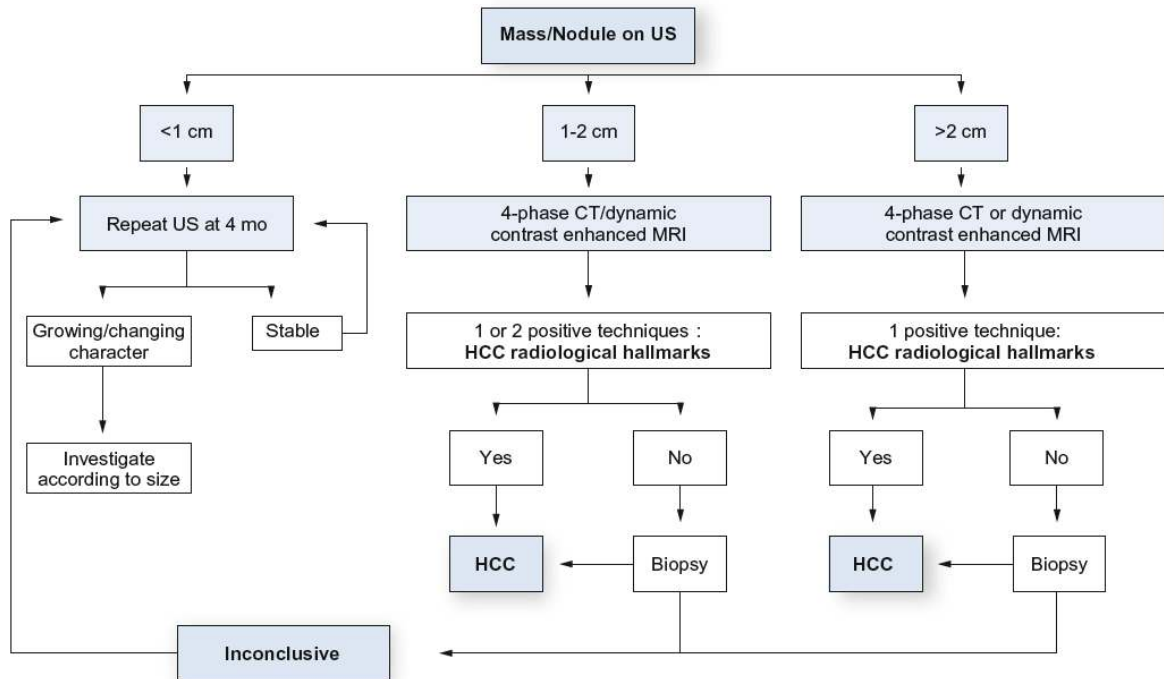


Figura 1.4 Algoritmo de diagnóstico para o CHC. Adaptado de (7).

### 1.5.1. DIAGNÓSTICO INVASIVO

O diagnóstico histopatológico do CHC é recomendado para todos os nódulos que ocorrem em fígados não cirróticos e para casos em que a aparência imagiológica é inconclusiva ou atípica em fígados cirróticos. A sensibilidade da biópsia hepática depende da localização, dimensão da lesão, diâmetro da agulha de perfusão e perícia do operador, podendo variar entre os 70 e os 90% (7)(30). As complicações associadas à biópsia hepática são baixas e com taxas de mortalidade de 0,006 - 0,3% (30).

## **1.5.2. DIAGNÓSTICO NÃO INVASIVO**

### **1.5.2.1. PRINCIPAIS MARCADORES SEROLÓGICOS**

#### **1.5.2.1.1. ALFA-FETOPROTEÍNA**

A AFP tem sido utilizada como principal marcador serológico do CHC, apesar da sua baixa sensibilidade (39 a 65%) e especificidade (76 a 94%) (6)(15)(30).

Valores de 400 - 500 ng/ml são geralmente considerados critério de diagnóstico para o CHC. Contudo, apenas aproximadamente 20% dos pacientes atingem estes valores e apenas cerca de 30% tem níveis superiores a 100 ng/ml (15)(21)(30). Níveis tão elevados estão associados a tumores já de elevadas dimensões, com envolvimento bilobar, invasão portal e baixas taxas de sobrevivência (30).

Numa tentativa de melhorar o desempenho da AFP no diagnóstico do CHC, foram estudadas três variantes da AFP (AFP-1, AFP-2, AFP-3). A AFP-3 revelou ser a mais sensível (75 a 96,60%) e específica (90 a 92%) (6)(15)(30). Esta variante demonstrou ainda poder ser usada como preditor da recorrência (quando a AFP-3 aumenta mais do que 10% ou aumenta após a normalização decorrente do tratamento) (15)(30). Correlacionando-se também com estadios avançados da doença e de baixa diferenciação e, portanto, de pior prognóstico (15)(30).

#### **1.5.2.1.2. DES-GAMA-CARBOXIPROTROMBINA**

No CHC o *cut-off* da des-gama-carboxiprotrombina (DCP) é, geralmente, colocado nos 40 mAU/ml, valor no qual a taxa de detecção precoce aumenta (30). Apresenta uma sensibilidade de 48 a 62%, uma especificidade de 81 a 98% e uma precisão de diagnóstico de 59 a 84% (15)(30). O tamanho do tumor pode afetar a sensibilidade e a especificidade da DCP tendo-se verificado que a eficácia da DPC é inferior à da AFP no diagnóstico de pequenos CHCs, mas mais eficaz na detecção de CHCs de maiores dimensões (15)(30).

A DCP pode ser ainda utilizada para averiguar o nível de invasão vascular, para monitorizar a eficiência do tratamento e para monitorizar a recorrência do CHC pós-tratamento (15)(30).

#### **1.5.2.1.3. GLIPICANO-3**

No CHC o glipicano-3 (GPC3) é detetado no soro de, aproximadamente, 50% dos pacientes (21)(30). Parece expressar-se, preferencialmente, em CHCs de pequenas dimensões podendo ser útil o seu uso combinado com outros marcadores serológicos (21). Quando combinado com a AFP, a sensibilidade da AFP e do GPC3 aumenta, respetivamente de 52% e 57% para 77%, sem uma redução significativa de especificidade (30)(31).

#### **1.5.2.1.4. PROTEÍNA GOLGI 73**

A expressão da proteína Golgi 73 (GP73) está aumentada em doenças crónicas do fígado e, substancialmente, elevada no CHC (30)(31). É-lhe apontada uma sensibilidade de 69% e especificidade de 75% (30). Se este marcador serológico é melhor que a AFP para o diagnóstico do CHC continua controverso, com os resultados a apresentar variações consoante a metodologia utilizada para a sua medição (31).

#### **1.5.2.1.5. OSTEOPONTINA**

A osteopontina é altamente expressa em vários tipos de cancro, incluindo o CHC (31). A combinação da osteopontina (*cut-off* ótimo de 91 mg/ml) e da AFP (num *cut-off* de 20 ng/ml) teve melhor desempenho do que qualquer teste isoladamente, com uma sensibilidade de 83% e uma especificidade de 63% (31).

### **1.5.2.2. PRINCIPAIS TÉCNICAS IMAGIOLÓGICAS**

#### **1.5.2.2.1. CONTRAST ENHANCED ULTRASOUND**

O *Contrast Enhanced Ultrasound* (CEUS) já não é reconhecido como parte do diagnóstico não invasivo nas recentes *guidelines* internacionais (32). Apesar da sua sensibilidade na deteção da hipervascularidade na fase arterial, devido à visualização em tempo real do agente de contraste no fornecimento de sangue arterial, esta técnica tem como grande desvantagem a falta de especificidade (33). Ainda assim, continua não só a ser utilizada na monitorização em pacientes com risco de desenvolver CHC, como nas biópsias de diagnóstico (32), visto demonstrar, apesar de tudo, uma sensibilidade e especificidade adequadas que são adicionadas da boa aceitação pela população e relativo baixo custo (33).



#### **1.5.2.2.2. TOMOGRAFIA COMPUTORIZADA**

A *Multiphasic Helical Computed Tomography* (MPCT) é uma técnica de escolha para detecção e estadiamento do CHC. A sensibilidade da MPCT em detetar o CHC foi até 100% em tumores de dimensões superiores a 2 cm, 93% para tumores de 1 - 2 cm e 60% para tumores com menos de 1 cm (30)(32).

A *Multidetector Row Helical Computed Tomography* (MDCT), com resolução superior, melhorou a detecção de pequenas lesões no fígado, apresentando uma sensibilidade global de 97,7 a 94,7% e uma sensibilidade de 90 a 95% para CHCs com menos de 1 cm (15).

#### **1.5.2.2.3. IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA COM GADOLÍNIO**

Trata-se da melhor técnica para detetar e caracterizar as diferentes lesões malignas hepáticas, incluindo tamanho, arquitetura interna, margens e invasão vascular intra-hepática (32)(30). A vantagem do gadolínio reside na análise de sua absorção pelos hepatócitos durante a fase tardia (ou fase hepatobiliar) (30)(33). A sensibilidade desta técnica na detecção do tumor depende do tamanho do mesmo e é cerca de 95% em tumores maiores que 2 cm, enquanto que para tumores inferiores a 2 cm a sensibilidade é reduzida para cerca de 30% (30).

### **1.5.3. LIVER IMAGING REPORTING AND DATA SYSTEM**

Os objetivos do LI-RADS são padronizar a terminologia usada, reduzir a variabilidade e erros na interpretação das imagens, facilitar a comunicação entre clínicos e facilitar e garantir a qualidade da pesquisa (29)(33). Tem como principais vantagens as atualizações baseadas na evidência, a categorização das lesões (dependendo da probabilidade de serem CHC) e as características diagnósticas que fornece, que incluem não só as características que descrevem a vascularização, mas também outras características auxiliares que ajudam a distinguir o CHC de uma lesão benigna. Por enquanto, a principal desvantagem é a sua complexidade devido ao grande número de características de diagnóstico descritas (29)(33).

Atualmente existem para além da versão de 2014, duas atualizações: a classificação LI-RADS adaptada para o CEUS proposta em 2016 (CEUS LI-RADS 2016) - mesmo que a AASLD tenha removido o CEUS do seu algoritmo de decisão em 2010 e a classificação LI-RADS adaptada à CT/MRI em 2017. Finalmente, o ACR está a preparar duas novas classificações de LI-RADS, uma das quais focará a avaliação da resposta do CHC ao tratamento loco-regional ou sistémico (TR LI-RADS) (29)(33).

## 1.6. CLASSIFICAÇÃO E ESTADIAMENTO

O conhecimento de fatores de prognóstico nos pacientes com CHC pode auxiliar a definir o resultado provável, o tratamento adequado, a facilitar a troca de informação e o desenho de ensaios clínicos (7)(34). Contudo no CHC, ao contrário da maioria dos tumores sólidos, a coexistência de duas patologias graves na maioria dos casos – cirrose e cancro – complica as avaliações prognósticas (7)(34). Assim, o estadiamento para este tipo de cancro deve ser desenhado com dados provenientes de dois tipos de variáveis: variáveis prognósticas, obtidas de estudos que descrevem a história natural do cancro e da cirrose e de variáveis dependentes do tratamento, obtidas de estudos baseados na evidência que fornecem a fundamentação para a atribuição de um determinado tratamento (7).

As principais variáveis prognósticas para o CHC são: o estadio tumoral (definido pelo número e tamanho, presença de invasão vascular, propagação extra-hepática), a função hepática (definida pela classe Child-Pugh (**Anexo B**), bilirrubina, albumina, hipertensão portal, ascite), o estado de saúde geral ou *performance status* (PS) (**Anexo C**) e a presença de sintomas (7).

### 1.6.1. SISTEMAS DE ESTADIAMENTO

Em Oncologia, a classificação padrão baseia-se no sistema de estadiamento TNM, que considera o tamanho (T), nódulos (N) e envolvimento vascular/metástases (M) (13). Contudo, este sistema de estadiamento apresenta duas grandes limitações quando aplicado ao CHC: por um lado, as informações histológicas que são necessárias para avaliar a invasão microvascular só estão disponíveis nos doentes tratados por cirurgia (apenas aproximadamente 20%) e, por outro lado, não dá informação sobre o estado de saúde ou estado funcional do fígado (7)(35).

Têm sido propostos vários sistemas de estadiamento para fornecer uma classificação clínica do CHC (7)(22)(35). Os sistemas unidimensionais, como o estadiamento de Okuda, escala Child-Pugh ou o *performance status*, embora populares, são imprecisos e apenas são utilizados para detetar a doença em fase terminal (7)(10). Apesar das suas limitações continuam válidos como parte integrante de outros sistemas mais completos (34).

Embora vários sistemas de classificação tenham tido em conta fatores associados à extensão tumoral e à função hepática, infelizmente a maioria deles não considera a presença de sintomas ou não avalia a extensão tumoral de modo preciso (10).

Entre os sistemas de estadiamento mais abrangentes, cinco foram amplamente testados: três europeus - classificação francesa, *Cancer of Liver Italian Program* (CLIP) e *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) e dois asiáticos - *Weight of Six Prognostic Factors in Chinese University Prognostic Index* (CUPI) e *Japan Integrated System* (JIS) (7) (Tabela 1.2).

Alguns dos sistemas mais utilizados foram validados externamente (BCLC, CUPI, CLIP e JIS), mas apenas dois incluem três tipos de variáveis prognósticas (BCLC e CUPI) e apenas um atribui o tratamento para subclasses prognósticas específicas (BCLC) (7)(22).

Ainda não foi possível definir qual o sistema de estadiamento a adotar em todo o mundo, continuando a existir variantes geográficas (22)(34).

Tabela 1.2 Comparação entre os diferentes sistemas de estadiamento do CHC. Adaptado de (36).

Sistema	Fatores do tumor					Fatores do fígado				PS
	Tamanho	Nódulos	Metástases	Trombose veia porta	AFP	Child-Pugh	Albumina	Bilirrubina	Ascite	
TNM	•	•	•							
Okuda	•						•	•	•	
BCLC	•		•	•		•		•		•
CLIP	•			•	•	•				
JIS	•	•	•			•				
CUPI	•	•	•	•	•			•	•	
French	•				•			•		•

#### 1.6.1.1. SISTEMA BCLC

Reconhecido pela sua capacidade de predição e utilidade no processo de decisão do tratamento, o sistema BCLC é o recomendado pelas atuais NOCs da EASL, da AASLD e da *European Organisation for Research and Treatment of Cancer* (EORTC), bem como pela *World Gastroenterology Organisation* e pela *European Society of Medical Oncology* (10)(12). Este sistema inclui as variáveis prognósticas referidas anteriormente associadas a variáveis dependentes do tratamento, as quais demonstraram influenciar o resultado terapêutico (7).

É um sistema em constante evolução que associa o estadiamento tumoral com a estratégia de tratamento de modo dinâmico, permitindo a incorporação de nova informação decorrente dos avanços no conhecimento do prognóstico ou da abordagem terapêutica (7)(35). Assim, a classificação inicialmente proposta em 1999 já sofreu várias atualizações, nomeadamente com a incorporação do estadiamento 0 e da quimioembolização para o CHC intermédio em 2003 ou a introdução do sorafenib como opção de tratamento de primeira linha nos tumores avançados em 2008 (7)(10).

Atualmente, a classificação BCLC divide os doentes com CHC em 5 estadios (0, A, B, C e D) de acordo com as variáveis prognósticas pré-estabelecidas, atribuindo tratamentos de acordo com o estadio definido (7)(10). Uma percentagem dos doentes não cumpre todos os critérios para a atribuição de um dado tratamento, por isso, nestes casos, é aconselhável oferecer ao doente a próxima opção adequada dentro do mesmo estadio ou do estadio seguinte (7) (Figura 1.5).

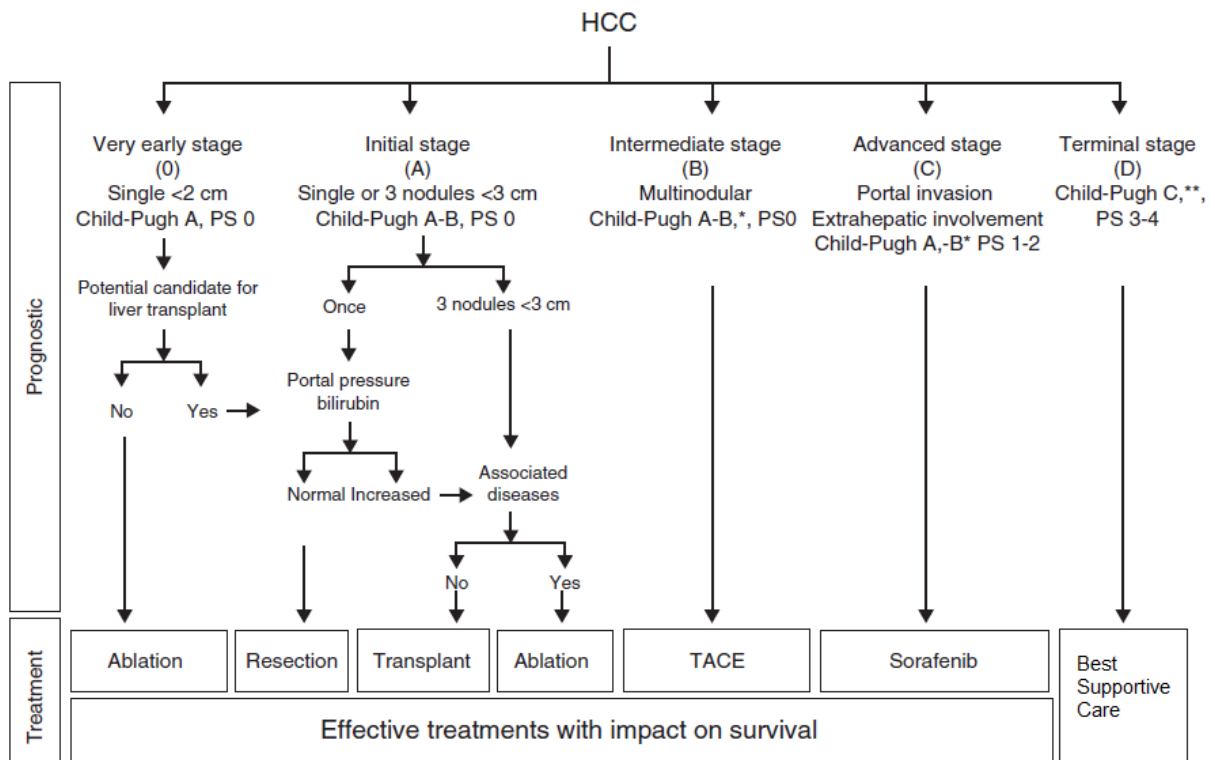


Figura 1.5 Sistema de estadiamento BCLC para o CHC. \* A classificação Child-Pugh não identifica todos os pacientes com disfunção hepática grave que podem ser considerados para transplante hepático. \*\* Pacientes com cirrose avançada devido a insuficiência hepática grave (Child-Pugh C ou estadios anteriores que preveem um mau prognóstico, MELD elevado) devem ser considerados para transplante hepático. Nestes pacientes, a presença de CHC pode ser uma contraindicação para o transplante hepático se excederem os critérios de inclusão. Adaptado de (10).

## 2. TRATAMENTO

Poucas intervenções médicas foram adequadamente testadas para o CHC e, consequentemente a força de evidência para a maioria das intervenções é ainda muito inferior à existente para câncros mais prevalentes (7)(10). Tratamentos com uma intenção curativa podem ser aplicados nos estadios mais precoces da doença, como é o caso da resseção cirúrgica, a ablação ou o transplante hepático. Nos estadios intermédios, o único tratamento que demonstrou aumentar a sobrevida foi a quimioembolização. Já nos estadios avançados, o único tratamento atualmente disponível que demonstrou benefícios na sobrevida global (OS) foi o sorafenib (Figura 2.1). Em fase terminal, infelizmente, apenas estão disponibilizados cuidados paliativos (10).

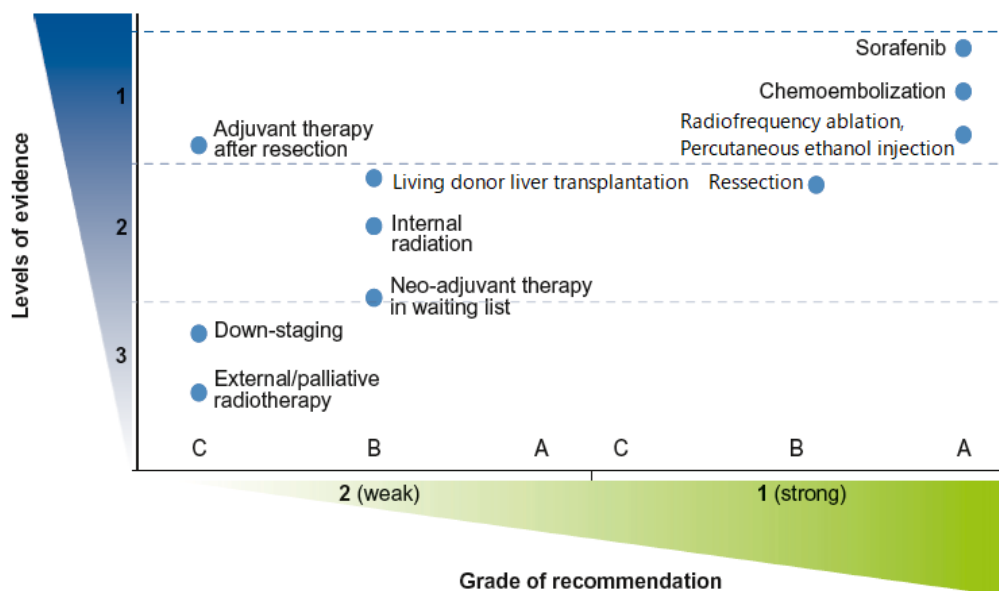


Figura 2.1 Representação das recomendações da EASL e da EORTC para o tratamento do CHC de acordo com os níveis de evidência (classificação INC) e força da recomendação (sistema GRADE). Adaptado de (7).

### 2.1. TRATAMENTOS CIRÚRGICOS

#### 2.1.1. RESSEÇÃO CIRÚRGICA

Trata-se do tratamento de escolha para o CHC nos doentes não cirróticos, onde grandes resseções podem ser executadas com baixas taxas de complicações fatais e resultados aceitáveis (sobrevida aos 5 anos de 30 a 50%) (7)(10)(37).

A seleção de candidatos para a resseção tem sido aperfeiçoada e tanto a técnica cirúrgica como a abordagem no pós-operatório foram otimizadas (7). Historicamente, a classificação Child-Pugh tinha sido usado para selecionar os candidatos apropriados à cirurgia. Mais recentemente, o *Model for End-Stage Liver Disease* (MELD) emergiu como uma ferramenta para prever as possíveis complicações pós-resseção (**Anexo D**). Além do sistema MELD, a determinação dos níveis de bilirrubina e da hipertensão portal podem também auxiliar na decisão dos candidatos à cirurgia (6). Assim, os melhores candidatos para a resseção cirúrgica são os pacientes Child-Pugh A, com score MELD < 10, com tumores únicos e função hepática bem preservada (Figura 2.2).

Além da função hepática, o remanescente hepático futuro é outro fator a ter em consideração nos pacientes sujeitos a resseção (10).

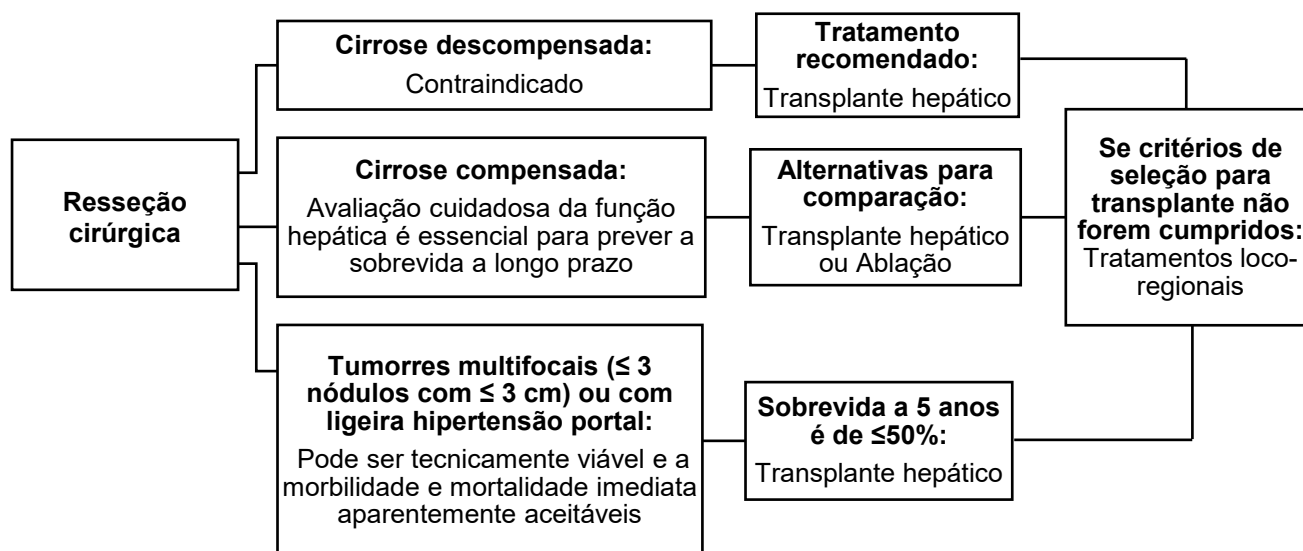


Figura 2.2 Situações do CHC onde pode ser aplicada a resseção cirúrgica. Figura realizada com base em informação contida em (6)(7)(10).

Os avanços na cirurgia laparoscópica permitem um tratamento cirúrgico menos invasivo, com os mesmos resultados na sobrevida, mas menor morbidade peri operatória e estadias hospitalares mais curtas (10). As ressecções anatómicas são recomendadas e aquelas que visam margens de 2 cm fornecem melhores resultados de sobrevida (7)(10).

As complicações da resseção hepática incluem hemorragia intraperitoneal, sangramento gastrointestinal, atelectasias, derrame pleural, ascite, infecção e outras complicações, como abscesso subfrênico e insuficiência hepática (21). A mortalidade peri operatória situa-se nos 3 - 5% (7)(37). A mortalidade após resseção hepática é, geralmente, o resultado da insuficiência hepática causada diretamente pela resseção excessiva ou indiretamente por complicações secundárias (21).

Embora a OS possa atingir os 70% com a resseção cirúrgica, esta é limitada pela recorrência que ocorre em 50 a 70% dos casos num período de 5 anos após o procedimento cirúrgico (6). Aproximadamente 60 a 70% da recorrência corresponde a metástases intra-hepáticas (recidivas precoces, aproximadamente 1 ano após resseção) e 30 a 40% correspondem a tumores *de novo* (recidivas tardias, 4 a 5 anos após resseção) e, infelizmente, apenas 15% dos casos são passíveis de repetir a resseção (6)(7)(38) (Figura 2.3). Quanto maior o tamanho do tumor, maior o risco de invasão microvascular e de satélites e, conseqüentemente, do risco de recorrência e, por isso, outras alternativas podem potencialmente obter uma OS igual ou superior (10). Os tumores multinodulares apresentam também uma maior tendência de recorrência (38). As estratégias para prevenir e tratar a recorrência devem variar de acordo com o tipo de recorrência. Múltiplas terapêuticas adjuvantes já foram avaliadas para ambos os tipos de recorrência. Contudo, atualmente existe ainda um conjunto de evidências pouco claras para a eficácia de qualquer uma dessas terapêuticas, pelo que nenhuma é atualmente utilizada na prática clínica (10)(37).

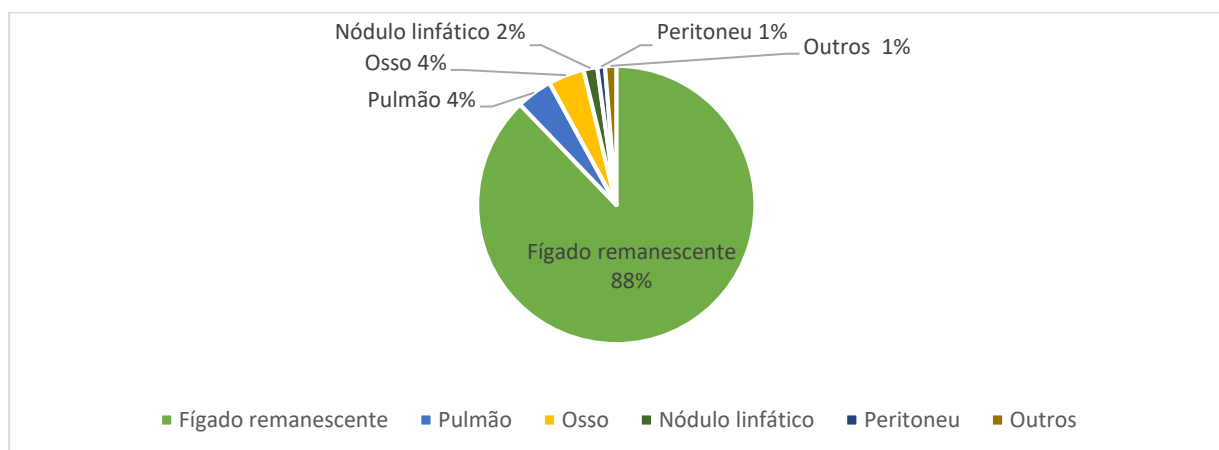


Figura 2.3 Sítios e frequência da recorrência do CHC após resseção cirúrgica. Adaptado de (21).

## 2.1.2. TRANSPLANTE HEPÁTICO

O transplante hepático (HT) é a primeira linha de tratamento para doentes que cumpram os critérios de Milão (tumores individuais inferiores a 5 cm ou até 3 nódulos com menos de 3 cm, sem invasão vascular ou disseminação extra-hepática). Para estes é descrita uma sobrevida aos 5 anos de 70% com uma taxa de recidiva inferior a 15% (7)(10)(28).

Os critérios para determinar se um paciente com CHC é elegível para HT são muito heterogêneos mundialmente, no entanto, os critérios de Milão são o ponto de referência para

a seleção do paciente e a base usada para a comparação com outros critérios sugeridos (6)(28)(39).

Infelizmente, o HT tem uma aplicabilidade limitada, já que o número de candidatos excede o número de órgãos disponíveis e de dadores e, conseqüentemente, existe um tempo de espera entre a indicação e o transplante (7)(10). Este tempo não só leva à saída da lista de espera para transplante de cerca de 20% dos candidatos, como ainda durante este tempo o tumor pode progredir e atingir um estadió associado à contraindicação do procedimento (7)(10). Na tentativa de reduzir o risco de progressão durante o tempo de espera foram propostas várias estratégias:

- 1. Aumentar o número de dadores.** Esta seria a estratégia mais efetiva, mas o seu impacto é limitado (10). Apesar de se usar dadores de elevado risco o número de candidatos continua a exceder o número de dadores disponíveis (10). Concluiu-se que uma opção potencialmente mais efetiva é o desenvolvimento de programas de transplantes a partir de dadores vivos (10). Contudo, o transplante hepático de dador vivo (LDLT) apresenta o risco associado de morte e de complicações graves para o dador saudável e taxas mais elevadas de complicações pós-operatórias no recetor (7)(10). Estudos de custo-efetividade demonstraram a utilidade do LDLT apenas quando o tempo de espera supera os sete meses (6)(7)(10).
- 2. Sistemas de prioridade.** O objetivo é fazer o transplante o mais cedo possível naqueles pacientes com maior probabilidade de progressão durante o tempo em que estão na lista de espera (10). O sistema MELD tem sido implementado nos últimos anos para pacientes com doença hepática avançada e foi a escala usada pela *United Network for Organ Sharing* (UNOS) para desenvolver um sistema de prioridade (7)(10).
- 3. Sistemas de exclusão.** Recomenda-se excluir aqueles cujo CHC progrediu para além dos critérios de Milão e explorar tratamentos neoadjuvantes para os mesmos. Excluem-se também aqueles que desenvolverem invasão macrovascular ou disseminação extra-hepática (7).
- 4. Tratamentos neoadjuvantes durante o tempo de espera.** Diferentes estudos observacionais sugerem que o tratamento com ablação por radiofrequência (RFA) ou quimioembolização transarterial (TACE) diminui as taxas de exclusão e de abandono e, estudos de custo-efetividade, sugerem ainda a sua utilidade quando o tempo de espera é superior a seis meses (7)(10). Os estudos mostram ainda que a RFA atinge maiores taxas de necrose completa (12 a 55%) comparativamente com a TACE (22 a 29%) (7). Assim,



à data, recomenda-se tratar doentes que esperam pelo transplante com RFA e, como segunda opção, com a TACE quando o tempo de espera exceda os seis meses (7).

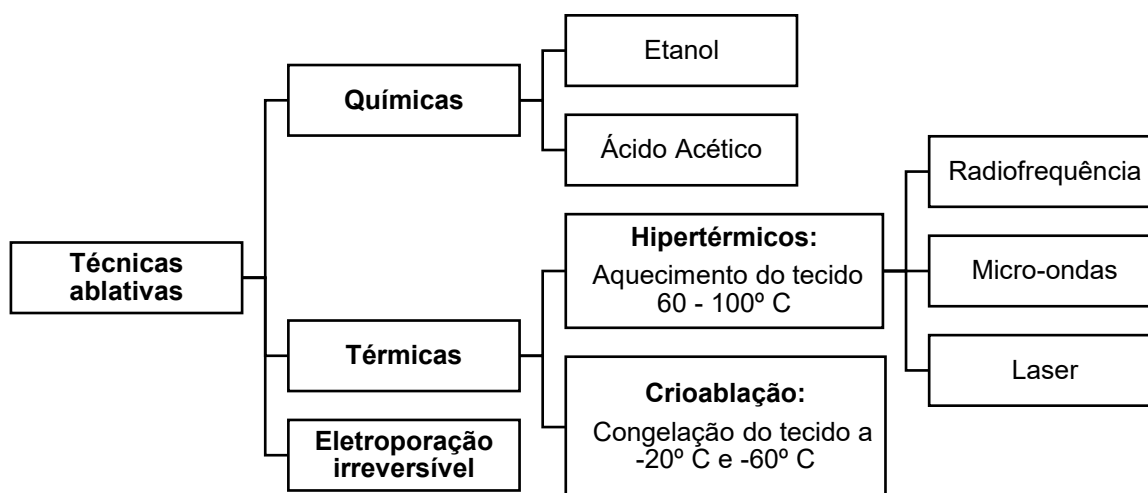
- 5. Alargamento de indicação para transplante hepático.** Muitos grupos têm sugerido que os critérios de inclusão na lista de transplante podem ser expandidos sem aumentar a taxa recorrência ou diminuir a OS (6)(7). Os critérios *up-to-seven* e os propostos pela *University of California San Francisco* (UCSF) são dois exemplos de critérios alargados que demonstraram apresentar uma OS similar à dos pacientes dentro dos critérios de Milão (6)(7)(12) (**Anexo E**). Contudo, não se pode esquecer que a expansão dos critérios resultará no aumento do número de pacientes na lista, pelo que a escassez de doadores aumentará (10)(39). Assim, considerando a evidência científica existente à data, é recomendado não expandir os critérios de elegibilidade para o HT (10)(12).
  
- 6. Downstaging.** A TACE é a técnica mais aplicada para o *downstaging* até aos critérios de Milão, seguida da RFA, radioembolização transarterial (TARE) e ressecção cirúrgica (28)(39). Em pacientes com sucesso no *downstaging* é recomendado um período mínimo de espera de 3 meses antes do transplante. Vários centros que utilizam estas estratégias têm relatado bons resultados (40). Contudo, a falta de uma abordagem reprodutível e validada para a avaliação do *downstaging* e dos seus critérios de exclusão impediu a inclusão desta abordagem nas diretrizes (39).

## 2.2. TRATAMENTOS LOCO-REGIONAIS

### 2.2.1. ABLAÇÃO PERCUTÂNEA

As técnicas ablativas (Figura 2.4) atingem o controlo local das células tumorais com um impacto mínimo no tecido hepático saudável adjacente, apresentando segurança, poucos efeitos adversos e podem ser realizadas sob anestesia local ou sedação intravenosa (6)(41).

A ablação percutânea é a opção de tratamento para os doentes nos estadios precoces para os quais a ressecção cirúrgica não é possível e o transplante hepático é contraindicado (6)(7)(10). Simultaneamente é a opção para tentar prevenir a progressão do tumor durante o tempo de espera para transplante hepático, como mencionado anteriormente (10).



**Figura 2.4** Principais técnicas ablativas disponíveis. A primeira técnica usada foi a injeção percutânea de etanol que induz necrose por coagulação da lesão, como resultado da desidratação celular, desnaturação proteica e oclusão química dos pequenos vasos do tumor (6)(7). Foi a técnica ablativa mais usada até 1999 (12). Posteriormente surgiram os tratamentos ablativos térmicos que são, atualmente, os mais utilizados. Figura realizada com base em informação contida em (7)(10)(42).

### 2.2.1.1. ABLAÇÃO QUÍMICA

A injeção percutânea de etanol (PEI) é uma técnica bem estabelecida para o tratamento do CHC (6)(7). A recente introdução de um dispositivo específico para a PEI, uma agulha multiponta com três pontas retráteis, resultou numa taxa de resposta completa sustentada de 80 a 90% nos tumores inferiores a 4 cm (7). Nos doentes com cirrose, Child-Pugh A e tumores precoces, o tratamento com a PEI demonstrou taxas de sobrevivência aos 5 anos de 47 a 53% (7).

Uma das principais limitações da PEI é a elevada taxa de recorrência que pode exceder os 43% (6)(7). A difusão do etanol é bloqueada pelos septos fibrosos intratumorais e/ou pela cápsula tumoral, o que compromete a capacidade curativa desta técnica, particularmente nos tumores superiores a 2 cm (6)(10)(28)(39)(43).

A outra tecnologia de ablação química - injeção percutânea de ácido acético (PAI) – não ofereceu vantagens substanciais relativamente à PEI (7).

As principais complicações relatadas na ablação química são: hemorragia peritoneal ou subcapsular, abscesso hepático, pneumotórax, derrame pleural, enfarte, descompensação hepática, trombose da veia porta e lesão do ducto biliar (43).

## **2.2.1.2. ABLAÇÃO TÉRMICA**

### **2.2.1.2.1. ABLAÇÃO POR RADIOFREQUÊNCIA**

Atualmente a RFA é a técnica de referência (6)(10)(28)(39). A RFA consiste numa corrente elétrica oscilante de alta frequência (200 - 1200 MHz) que produz calor, resultando na hipertermia dos tecidos e na necrose por coagulação, produzindo ainda um anel de segurança no tecido peri tumoral, que pode eliminar pequenos satélites não detetados (6)(10)(44). A temperatura ideal para coagulação do tecido hepático ocorre entre 80 - 100° C, com um mínimo de 50° C (44).

Grandes estudos não randomizados em pacientes com Child-Pugh A submetidos a RFA para tratar o CHC precoce relataram que a OS a 5 anos era de 50 a 64%, com taxas de mortalidade e morbidade pós-procedimentais extremamente baixas (41).

A recorrência local após RFA ocorre em 2 a 12% dos casos. Já a recorrência noutra local do fígado ou a nível extra-hepático ocorre em 20 a 60% dos casos (44).

Como principais desvantagens esta técnica tem o aumento da frequência e da severidade dos efeitos adversos, maiores custos e baixa aplicabilidade (uso não é recomendado em tumores subcapsulares/tumores adjacentes à vesícula biliar ou ao hilo hepático devido ao risco de complicações e para tumores em contacto próximo com vasos sanguíneos devido a um fenómeno de dissipação de energia térmica e potencial lesão devido à energia necessária para produzir uma ablação adequada) (6)(7)(10).

As principais complicações associadas a esta técnica são: disfunção ou falha hepática, hemorragia, formação de abscesso, vazamento biliar, estenose do ducto biliar, hematoma subcapsular, colecistite e síndrome febril (que ocorre aproximadamente em 20 a 30% dos pacientes) (44).

### **2.2.1.2.2. ABLAÇÃO POR MICRO-ONDAS**

A ablação por micro-ondas (MWA) gera hipertermia do tecido devido a um campo eletromagnético. Demonstrou uma excelente capacidade ablativa e ao contrário da RFA a sua capacidade ablativa não é afetada pelos vasos sanguíneos adjacentes ao tumor (10)(7)(41). Além disso, é capaz de induzir maior temperatura intratumoral, maior área de ablação em menor tempo, efeito menos dependente da impedância dos tecidos e é menos influenciada pelo efeito dissipador de calor (12)(41)(45).

Contudo, até à data, nenhum grande ensaio clínico controlado, randomizado e prospetivo foi publicado, sendo os dados obtidos através de pequenos estudos, principalmente retrospectivos (46).

### 2.2.1.2.3. ABLAÇÃO TÉRMICA COM LASER

A ablação térmica com laser (LTA) é baseada na utilização de fibras óticas para fornecer radiação laser altamente energética ao tecido. Por causa da absorção da luz, são atingidas temperaturas superiores a 150° C, conduzindo a uma necrose coagulativa. A penetração da luz é ótima no espectro do infravermelho próximo. Esta técnica é menos investigada e usada do que a RFA e MWA, mas os dados disponíveis sobre a sua eficácia e segurança são bastante bons e comparáveis aos das restantes técnicas hipertérmicas (45).

Até à data, há na literatura apenas dois ensaios randomizados que comparam a LTA e a RFA no tratamento do CHC e ambos não encontraram diferenças significativas entre as duas técnicas em termos de controlo do tumor no local, OS e segurança (47)(48). Apesar dos resultados obtidos não é frequentemente considerada uma técnica ablativa eficaz e a maioria das revisões, consensos ou documentos de posição que lidam com a eficácia ou segurança da ablação térmica nem sequer mencionam esta técnica no conjunto das técnicas ablativas atualmente disponíveis (45).

Recentemente, um algoritmo foi proposto para adaptar a ablação térmica (técnicas hipertérmicas) a cada paciente, de acordo com as vantagens e desvantagens de cada uma das técnicas disponíveis, número, tamanho e localização dos nódulos e custo associado ao procedimento (47). Neste algoritmo as três técnicas ablativas hipertérmicas têm um papel preferencial em circunstâncias específicas (47) (**Anexo F e Anexo G**).

### 2.2.1.2.4. CRIOABLAÇÃO

A crioablação é uma técnica baseada na aplicação *in situ* de ciclos de baixas temperaturas ao tecido usando nitrogénio líquido a - 196° C resultando no arrefecimento do tumor a pelo menos - 35° C e destruição das células pela formação de cristais de gelo (49). O conteúdo celular libertado também contém alguns componentes ativos que desencadeiam maior transdução de sinal, resultando em expansão da necrose pós-tratamento e efeitos inibitórios sobre tumores ectópicos (49).

Não existe nenhum ensaio clínico randomizado que compare os efeitos do tratamento e o perfil de segurança entre a crioablação e a RFA no tratamento do CHC, embora já existam vários estudos retrospectivos a mostrar resultados muito promissores, com vários estudos a

apontar um aumento significativo da OS (49). Mais ainda, a crioablação apresenta algumas vantagens significativas em relação à RFA que incluem: menos dor associada ao procedimento, possibilidade de visualizar os cristais de gelo formados (com avaliação precisa da zona de tratamento) e o efeito dissipador de calor é menos pronunciado. Uma outra vantagem da crioablação é o efeito anti tumoral ectópico, que indiretamente suprime nódulos tumorais inicialmente não visados (49)(50).

Foi relatado que a taxa de complicações como febre, dor local ou congelamento local de pele é de 48,6%. Complicações graves como abscesso hepático, hemorragia, insuficiência hepática, fístula intestinal são possíveis, sendo o crio-choque a compilação mais grave (49).

### **2.2.1.3. RFA VERSUS PROCESSOS CIRÚRGICOS**

Devido à eficácia terapêutica e à baixa probabilidade de efeitos secundários com a RFA, muitos grupos têm comparado diretamente a RFA e a resseção cirúrgica com alguns resultados conflituosos (7)(10). Mais recentemente, dois estudos de custo-efetividade, usando diferentes metodologias, concluíram que a RFA pode oferecer uma OS similar à resseção, mas com um custo menor (51)(52).

A vantagem da resseção cirúrgica reside na viabilidade da análise histológica, que permite obter informação sobre o risco de recorrência (3). Em pacientes com CHC superior a 3 cm, multifocais e próximos de grandes vasos, a taxa de falha da ablação aumenta e, nestes casos, a resseção pode oferecer melhores resultados (28). Contudo, também é verdade, que para lesões com localizações difíceis, a ablação laparoscópica ou aberta pode ser mais apropriada (41). Comparando ainda diversos parâmetros que podem ser visualizados na Tabela 2.1, verifica-se que a RFA apresenta menos limitações que a resseção cirúrgica, pelo que a medicina baseada na evidência mostra que em pacientes com CHC pequeno, a RFA pode substituir a resseção cirúrgica como primeira linha do tratamento curativo (41).

Estas conclusões resultaram numa mudança na recomendação dada pelo sistema de estadiamento BCLC para o estadio 0 (41). Na forma mais antiga do BCLC para os pacientes em estadio 0 a primeira linha de tratamento era a resseção cirúrgica. Contudo, no esquema atual a primeira linha de tratamento para o estadio 0 é a RFA, mantendo a sua aplicação para tratar Child-Pugh A quando as técnicas cirúrgicas estão contraindicadas (41).

Tabela 2.1 Comparação da RFA com a ressecção cirúrgica. Adaptado de (41).

	<b>RFA</b>	<b>Ressecção cirúrgica</b>
<b>Sobrevida global (OS)</b>	Próxima em doentes selecionados de forma apropriada	
<b>Sobrevida livre de doença</b>	Pode ser similar em tratamentos apropriados	
<b>Mortalidade/Morbilidade</b>	Baixa	10 a 15 vezes superior
<b>Invasividade</b>	Baixa	Elevada
<b>Danos colaterais</b>	Baixa	Elevada
<b>Viabilidade</b>	+++	+
<b>Possibilidade de retratamento</b>	Elevada	Baixa
<b>Número de tratamentos para as recorrências</b>	Muitas vezes (não é incomum 7 ou mais vezes)	2 - 3 vezes

#### 2.2.1.4. ELETROPORAÇÃO IRREVERSÍVEL

A eletroporação irreversível (IRE) é uma técnica ablativa não-química e não-térmica que gera pequenos impulsos elétricos de elevada energia. Estes impulsos induzem poros na membrana lipídica das células, conduzindo à morte celular por apoptose (42).

Os dados sugerem que a IRE acarreta riscos similares aos de qualquer outra técnica ablativa. A literatura aponta para taxas de mortalidade de 0 a 27,5%. Os dados sugerem também que esta técnica para ser segura junto a estruturas críticas como é o caso da vesícula biliar, grandes vasos sanguíneos, diafragma ou trato gastrointestinal, com danos colaterais menores quando comparados com a ablação térmica (12)(50)(42). Os estudos mostram taxas de resposta encorajadoras com a maioria das taxas de resposta completa entre os 72% e os 100% e taxas de recorrência local aos 6 meses a variar entre 13 e 25%. Os melhores resultados foram alcançados em tumores pequenos (42).

Sendo uma técnica cara e, considerando a escassez de dados a longo prazo que demonstrem eficácia e segurança, sugere-se cautela na ampla aplicação desta técnica quando outras técnicas padrão estão disponíveis. Assim, atualmente, esta técnica serve como tecnologia para a ablação de pequenos tumores (inferiores a 3 cm) não ressecáveis e não passíveis de ablação térmica devido à proximidade de estruturas críticas (42).

#### 2.2.2. QUIMIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL

A TACE é o tratamento de primeira linha e o único que mostrou benefícios na OS para os doentes no estadio intermédio do CHC (Child-Pugh B).

Esta técnica é baseada na vascularização predominantemente arterial do CHC (10). Envolve o cateterismo seletivo da artéria hepática com injeção de um agente quimioterapêutico (geralmente doxorrubicina ou cisplatina), seguido da oclusão do fluxo sanguíneo através de uma substância embolizante (como álcool, metais, etc.), com consequente isquemia e necrose tumoral (6)(7)(10)(15).

Os melhores candidatos para esta técnica são pacientes assintomáticos com CHC solitário ou multifocal limitado, sem evidência de invasão vascular ou disseminação extra-hepática e função hepática bem preservada. Nestes pacientes, a TACE é bem tolerada, atinge uma elevada taxa de resposta e apresenta taxas de OS 5 anos após o tratamento superiores a 50% (7)(10)(28)(38)(53). A TACE atrasa significativamente a progressão tumoral e a invasão macrovascular. A mortalidade esperada associada ao tratamento é inferior a 2% (7).

Apesar da seleção dos pacientes e cuidados na técnica, a TACE não é isenta de complicações e efeitos adversos, embora as complicações relacionadas com o procedimento apareçam em menos de 10% dos tratamentos. Podem variar desde uma simples síndrome de embolização (que surge em mais de 50% dos pacientes e consiste em febre e dor abdominal), a insuficiência hepática, abscesso, colecistite isquêmica ou até morte (10)(54)(38).

A grande desvantagem desta técnica é que a maioria dos pacientes experimenta progressão da doença apesar de uma resposta inicial (10). Apesar da falta de evidência é recomendado que se aplique o procedimento 3 a 4 vezes por ano (7)(10).

#### **2.2.2.1. QUIMIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL CONVENCIONAL**

A quimioembolização transarterial convencional (c-TACE), que demonstrou benefício na OS, é baseada na administração percutânea de um agente quimioterapêutico emulsionado com lipiodol (que funciona como veículo), seguida da oclusão vascular com partículas *Spongostan* (agente embolizante) (7)(10)(28).

#### **2.2.2.2. QUIMIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL COM MICROESFERAS FARMACOLÓGICAS**

A quimioembolização transarterial com microesferas farmacológicas (DEB-TACE) tem sido avaliada nos últimos anos e, em particular, a segurança e eficácia das microesferas sintéticas carregadas com adriamicina. Estas esferas têm a capacidade de atrasar a libertação da quimioterapia ao isolar o agente quimioterapêutico libertando-o, de modo controlado, ao longo de uma semana. Com estas esferas a oclusão vascular é atingida simultaneamente com a administração do agente quimioterapêutico, impedindo o *washout* do mesmo. Assim,

aumentamos a exposição do tumor ao agente quimioterapêutico e reduzimos a exposição sistêmica e, conseqüentemente, minimizamos os efeitos colaterais (7)(10)(28) (39). Estudos de *coortes* com uma seleção adequada de candidatos relataram uma OS média além dos 40 meses após DEB-TACE (55)(56).

### **2.2.2.3. QUIMIOEMBOLIZAÇÃO E OUTROS TRATAMENTOS**

Uma vez que a obstrução arterial induz a libertação de fatores angiogênicos, faria sentido combinara a TACE com agentes anti-angiogênicos, como o sorafenib. Embora a combinação seja segura, não melhorou a taxa de resposta, não atrasou o tempo para a progressão (TTP) ou melhorou a OS (10)(28)(39)(53). A combinação de tratamentos loco-regionais está a ser ativamente pesquisada no sentido de aumentar a necrose tumoral e, indiretamente, a OS (10). Vários estudos demostram o benefício da combinação. Contudo, são necessários estudos prospetivos randomizados para confirmar os resultados obtidos até agora (10).

### **2.2.3. RADIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL**

O CHC é um tumor radiosensitivo e para o qual a terapia de radiação de feixe externo não é amplamente usada devido à elevada toxicidade hepática (57). Assim, foi desenvolvida a terapêutica com radiação interna cujo objetivo é fornecer doses tumoricidas de radiação ao tumor (independentemente do número, dimensão ou localização), enquanto poupa o tecido hepático não-tumoral ao injetar na artéria hepática fontes de radiação embolizantes, como lipiodol marcado com Iodo-131 ou microesferas que contêm Ítrio-90 (técnica mais utilizada atualmente) (7)(57). A exposição à radiação conduz ao dano irreversível das células do tumor comprometendo o seu crescimento. (57).

A TARE induz regressões tumorais de vários graus, sendo que a maioria dos estudos apontam para taxas de resposta de 25 a 50% (57). Esta técnica é, geralmente, bem tolerada, sendo que apenas cerca de 20% dos doentes apresenta toxicidade hepática e existe apenas 3% de mortalidade associada ao tratamento (7).

É relatada alguma fadiga, dor abdominal, náuseas e vômitos e febre baixa que, geralmente, duram poucas horas. No entanto, a radioembolização pode produzir efeitos tóxicos relevantes em resultado da exposição de órgãos não-alvo incluindo colecistite, úlceras gastrointestinais, pneumonia e, mais importante para pacientes com CHC, toxicidade hepática (57).



A TARE é uma alternativa à TACE com menos evidências e menor aplicabilidade, pois necessita de juntar a radiologia intervencional a unidades de medicina nuclear, pelo que é necessário um centro especializado, com equipamentos especializados, restringindo a sua utilização a apenas alguns hospitais (7)(12). Além disso, é tecnicamente mais complexa que a TACE e exige um mapa vascular anatómico anterior (12).

Embora não esteja incluída no sistema BCLC a TARE é indicada no CHC com Child-Pugh B, como uma alternativa à TACE ou em pacientes com Child-Pugh C e com trombose portal (visto não ser uma contraindicação para esta técnica) (12).

Outras duas indicações parecem particularmente atraentes. A primeira, para tratar pacientes que estejam entre o estadiamento intermédio e o avançado (por exemplo, pacientes intermédios com doença bilobar e pacientes avançados com tumores solitários a invadir um segmento ou ramo da veia porta). Em segundo lugar, o tratamento de pacientes que estão ligeiramente acima dos critérios de ressecção, ablação ou transplante, para o qual o *downstaging* pode abrir a porta para estes procedimentos (57).

Quando comparada com o tratamento *standard* dos estadiamentos intermédio e avançado (TACE e sorafenib, respetivamente) a TARE consistentemente e em múltiplos estudos, mostrou resultados em termos de resposta radiológica, tolerância clínica e OS semelhantes aos obtidos em pacientes tratados com TACE ou sorafenib (10)(57). O que falta agora é informação consistente proveniente de grandes ensaios clínicos randomizados (7)(10)(57), existindo vários a ser realizados atualmente. Por exemplo, num ensaio clínico Europeu (ensaio clínico SORAMIC), a combinação da radioembolização com o sorafenib está a ser comparada com o sorafenib em monoterapia em pacientes não adequados para TACE, mesmo na presença de doença extra-hepática (NCT01126645) (58).

Assim, com resultados consistentes a TARE situa-se entre a TACE e o sorafenib esperando para ser posicionada nos algoritmos de tratamento do CHC (57).

#### **2.2.4. OUTROS TRATAMENTOS LOCO-REGIONAIS**

As novas técnicas de radioterapia como a radioterapia conformacional tridimensional, a radioterapia estereotáxica corporal ou a radioterapia de bomba de prótons, permitem aplicar altas doses de radiação no tumor sem danos para o tecido adjacente. Tem sido desenvolvida a pesquisa sobre o seu possível papel no tratamento daqueles pacientes onde a terapêutica local falhou, onde a lesão tem um pequeno volume, não há doença distante e existe manutenção da boa função hepática. Estas técnicas podem também ser úteis para tumores localizados em áreas difíceis. A sua utilização também está a ser estudada em pacientes com

invasão da veia cava inferior ou trombose portal. Em todos os casos, o resultado parece promissor e a sua eficácia tem de ser confirmada em estudos maiores e randomizados (10).

## **2.3. TRATAMENTOS SISTÉMICOS**

Pacientes com doença metastizada ou CHC avançado, não adequados para resseção cirúrgica, transplante hepático ou tratamentos loco-regionais podem ser candidatos para tratamento sistémico (50). Contudo, o uso desta modalidade de tratamento tem sido limitada pela natureza refratária do CHC à quimioterapia convencional (6)(10)(28)(50).

Nos últimos anos tem existido um grande progresso na compreensão das alterações moleculares que influenciam a progressão do CHC o que permitiu desenvolver agentes que atuam especificamente nas vias moleculares alteradas. Contudo, a sua grande maioria tem apresentado resultados negativos (10). Assim, não existia uma terapia sistémica efetiva até 2007. Naquela época, o sorafenib surgiu como a primeira e, ainda atualmente, única terapêutica sistémica que provou melhorar a OS em CHC avançado (6)(59).

Não existe qualquer mecanismo molecular patognomónico ou via dominante única na hepatocarcinogénese, o que explica a dificuldade na obtenção de resultados positivos e o porquê de um único agente direcionado não alcançar a resposta completa e sustentada no CHC (7). Por isso, é concebível inibir os mecanismos em diferentes níveis de uma das vias principais ou inibir duas ou três vias diferentes ao mesmo tempo numa tentativa de obtenção de melhores resultados (7)(50).

Apesar da evolução no conhecimento da hepatocarcinogénese continua a ser necessário uma compreensão mais profunda da mesma para a identificação de novos alvos e ciclos oncogénicos (7).

### **2.3.1. HEPATOCARCINOGENÉSE DO CARCINOMA HEPATOCELULAR**

A hepatocarcinogénese do CHC é um processo complexo que ocorre em várias etapas e onde várias cascatas de sinalização são alteradas, levando a uma descrição biológica heterogénea da doença (7). Esta heterogeneidade é também resultado da grande variedade de etiologias que dão origem ao CHC (2).

Numa breve descrição da sequência de transformações histológicas e moleculares sofridas pela maioria dos tumores em desenvolvimento, deve reconhecer-se que nem todos estão em conformidade com esta apresentação (2). As anormalidades moleculares e

genéticas que ocorrem com maior frequência durante o desenvolvimento do CHC são ilustradas na Figura 2.5.

Em paralelo com a acumulação destas anormalidades também o microambiente tumoral desempenha um papel importante no desenvolvimento do CHC (2). O aumento de citocinas inflamatórias na vizinhança do tumor em desenvolvimento, estimulam o seu crescimento contínuo e opõem-se à sinalização pró-apoptótica (2). A inflamação também altera a composição celular do microambiente através de sinalização anormal das quimiocinas (2). Assim, o microambiente altamente vascular e imunologicamente reprimido suporta o desenvolvimento do CHC (2).

Já a desregulação das metaloproteínas de matriz (MMPs) e dos seus inibidores favorece a destruição de barreiras que evitariam a invasão tumoral, enquanto o colagénio reticulado e, anormalmente depositado, fornece um espécie de andaime ao longo do qual as células malignas se podem espalhar (2).

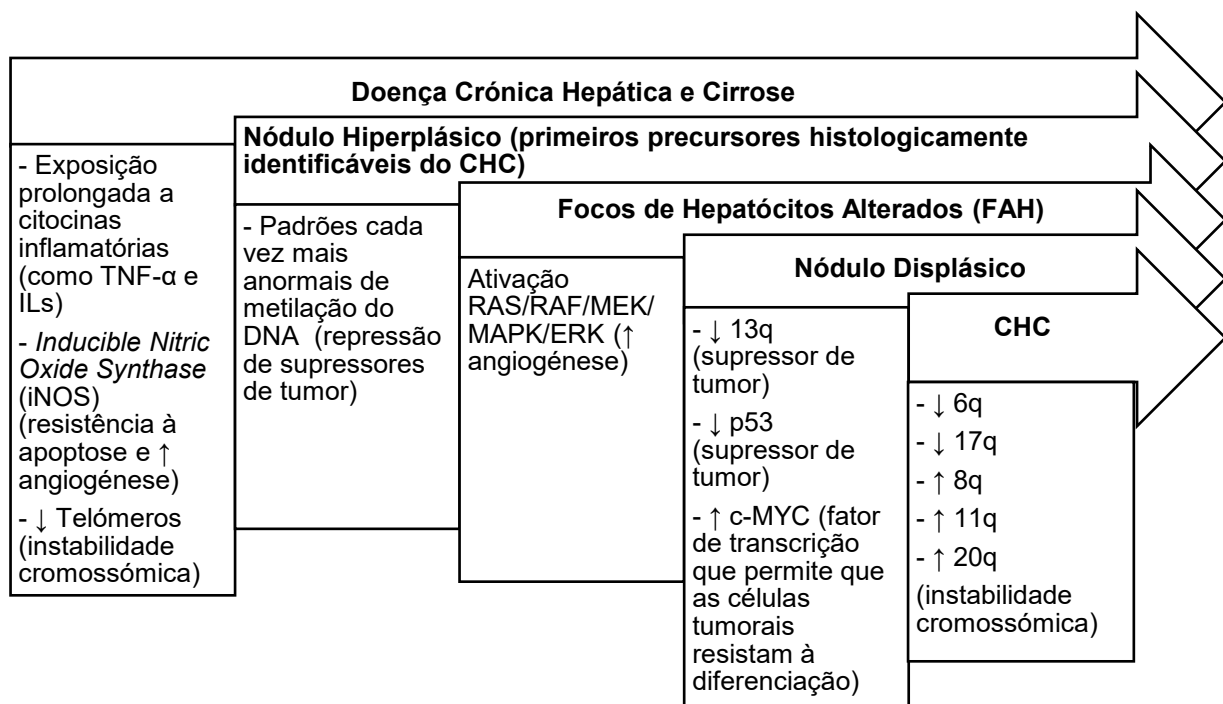


Figura 2.5 Anormalidades moleculares e genéticas que ocorrem durante a hepatocarcinogénese do CHC. Adaptado de (2).

### 2.3.2. ALVOS DO TRATAMENTO

Uma série de propriedades oncogénicas, como a sobrevivência celular, o crescimento e a capacidade de invasão, são adquiridas através da desregulação de ligandos, recetores e vias de sinalização que normalmente são mantidas sob um grande controlo (Figura 2.6). Assim, o controlo sob o desenvolvimento tumoral pode ser conseguido ao regularizar estes

intervenientes. Um conjunto de alvos e vias de sinalização já foram indicados na progressão e disseminação do CHC (2)(7):

- **Recetores dos fatores de crescimento e mediadores da angiogénese:** a sobrevivência, o crescimento e a invasão pelo CHC é, frequentemente, resultado da ativação não controlada de um conjunto de recetores dos fatores de crescimento, principalmente do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR), recetor do fator de crescimento semelhante à insulina (IGFR), recetor do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR), recetor do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGFR), recetor do fator de crescimento dos fibroblastos (FGFR) e recetor do fator de crescimento dos hepatócitos (MET) (2) (**Anexo H**).
- **Via RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK:** coopera com fatores de transcrição para induzir a produção de inúmeros substratos que facilitam o crescimento celular, a sobrevivência, a diferenciação e a angiogénese (2). Esta via também inicia interações com outras cascatas de sinalização intracelular, como a via PI3K/PTEN/Akt/mTOR (2).
- **Via PI3K/PTEN/AKT/mTOR:** controla a sobrevivência celular, proliferação e a regulação do ciclo celular (3). A ativação desta via pode ser realizada por qualquer um dos fatores de crescimento descritos anteriormente, particularmente pelo aumento da sinalização através do IGFR ou pela interação com a via RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK ou WNT/ $\beta$ -catenina. A ativação desta via também confere resistência à apoptose (2).
- **Via WNT/ $\beta$ -Catenina:** é crucial para a hepatocarcinogénese ao regular a transcrição de genes que controlam a proliferação celular, angiogénese e evasão à apoptose (2)(7).
- **Via TGF- $\beta$  (*transforming growth factor beta*):** modula o processo de proliferação, organização do citoesqueleto, morte e adesão celular (60). Possui uma função dual distinta no cancro, pois atua como supressor de tumor em células normais e carcinomas precoces, interrompendo a progressão do ciclo celular e induzindo a apoptose, mas inverte a sua atuação promovendo a progressão do tumor em cancros avançados e invasivos (2)(3). Interage com as vias RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK e WNT/ $\beta$ -catenina (2). Esta via também promove a angiogénese mediada pelo VEGFR e suprime a capacidade do sistema imunitário do hospedeiro (2).

- **Via HIPPO-YAP:** interage com fatores de transcrição promovendo a expressão de várias proteínas potencialmente oncogênicas (2).
- **Via HGF (fator de crescimento dos hepatócitos)/MET:** envolvida no crescimento tumoral, angiogênese e invasão em vários tipos de cancro, incluindo no CHC, embora o papel exato dessa via na hepatocarcinogênese do CHC ainda não tenha sido completamente estabelecido (3)(61).
- **Via JAK/STAT:** está envolvida em múltiplas funções celulares, incluindo diferenciação, proliferação e apoptose (60)(62)(63). Esta via funciona como uma das principais ativadoras das células estreladas hepáticas (HSCs) cujo papel na progressão do CHC foi demonstrado repetidamente (60).
- **p53:** As mutações deste gene supressor de tumor foram observadas em quase todos os tipos de malignidade, incluindo no CHC (2)(60).
- **PD-1 (*Programmed Death receptor 1*) e PD-L1 (*Programmed Death Ligand 1*):** a ligação do PD-L1 ao seu recetor PD-1 resulta no desenvolvimento de tolerância imunitária ao limitar a função das células T (2)(60).

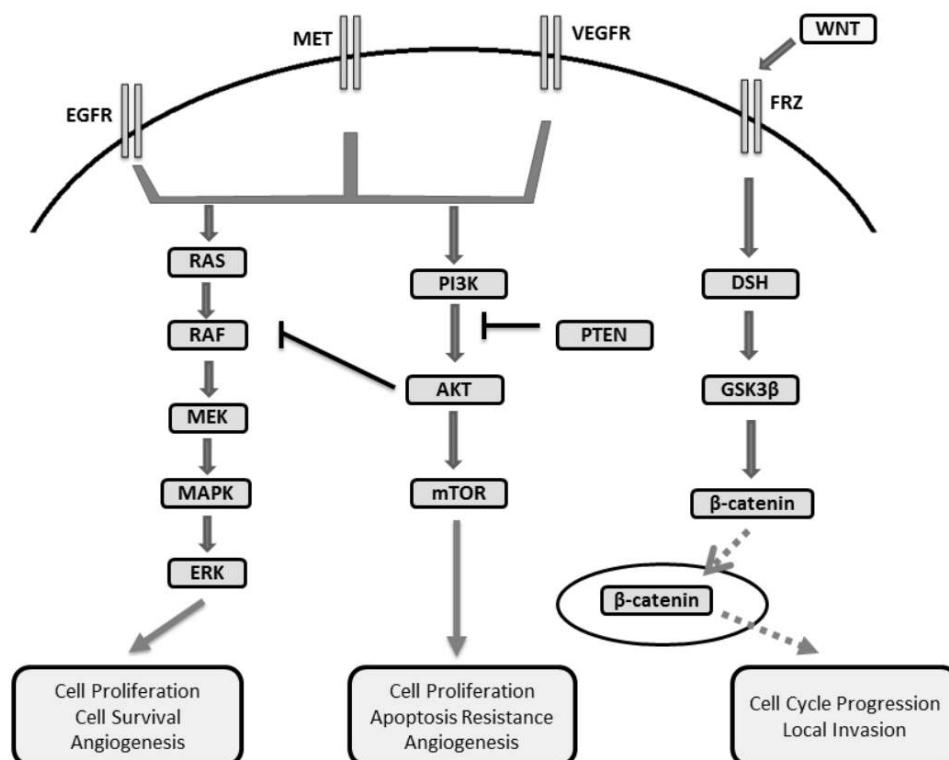


Figura 2.6 Alguns dos recetores de superfície celular e vias de sinalização intracelulares envolvidas na hepatocarcinogênese do CHC. Adaptado de (2).

## 2.3.3. TRATAMENTOS DIRECIONADOS

### 2.3.3.1. SORAFENIB

É um inibidor multialvos da tirosina cinase, de baixo peso molecular e com elevada biodisponibilidade oral. Atua ao bloquear diferentes vias de sinalização associadas à hepatocarcinogénese, particularmente a via RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK (6)(10)(64). As suas principais ações são reduzir a angiogénese, atrasar a proliferação celular (10)(12) e induzir a apoptose (28)(65). Foi o primeiro e, continua a ser o único, fármaco que demonstrou os seus benefícios na OS dos doentes com CHC avançado (6)(7).

Seguindo resultados positivos de estudos pré-clínicos e após um primeiro estudo de fase II que demonstrava eficácia (66), foram realizados dois grandes ensaios clínicos internacionais, de fase III, multicêntricos, randomizados, duplamente cegos e controlados por placebo para avaliar o sorafenib em pacientes com CHC avançado; um realizado na Europa (onde o CHC associado a infeção por HCV e alcoolismo é mais comum (6) - ensaio clínico SHARP) e outro no sudeste Asiático (onde o CHC é mais associado à infeção por HBV (6) - ensaio clínico Ásia-Pacífico) (10).

No ensaio SHARP o sorafenib aumentou a OS dos 7,9 meses (grupo placebo) para os 10,7 meses (grupo com sorafenib) (6). Já no ensaio Ásia-Pacífico a OS foi de 6,5 meses no grupo do sorafenib e de 4,2 meses no grupo placebo. Os investigadores formularam a hipótese de que a doença mais avançada poderia ser responsável por uma OS mais baixa no ensaio Ásia-Pacífico. Ainda assim, em ambos os estudos o sorafenib mostrou um aumento significativo na OS (10).

A partir destes ensaios clínicos, também se verificou que o sorafenib é um fármaco bem tolerado. Os efeitos adversos mais comuns incluem diarreia, reação cutânea mão-pé, alopecia, anorexia, perda de peso, fadiga e hipertensão, tendo estes sido considerados controláveis. Não foi descrita qualquer mortalidade associada à toxicidade (67)(68). Na verdade, o desenvolvimento de certos efeitos adversos como a diarreia, hipertensão ou alterações dermatológicas estão associados a uma melhor sobrevida (10).

Como resultado destes estudos o sorafenib recebeu a autorização da *European Medicine Agency* (EMA) em outubro de 2007 e foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) em novembro de 2007 (7).

O tratamento com sorafenib está indicado para os doentes com função hepática conservada (Child-Pugh A) (7)(10). Os dados relativos à sua utilidade em pacientes com Child-Pugh B são limitados, pelo que o seu uso nestes pacientes deve ser avaliado individualmente e não pode ser feita qualquer recomendação clara nestes casos (7)(10).

Embora o sorafenib tenha provado a sua eficácia e segurança no CHC, o seu papel potencial como um agente adjuvante para o CHC permanece discutível (6). O ensaio clínico STORM, um ensaio clínico de fase III, randomizado, duplamente cego e controlado por placebo investigou o papel do sorafenib como adjuvante após ressecção ou ablação com intenção curativa e risco de recorrência intermédio/alto. Infelizmente, o ensaio não atingiu os seus objetivos (69). Por conseguinte, o sorafenib não está, atualmente, aprovado para utilização como tratamento adjuvante.

As investigações estão a examinar o seu potencial uso em combinação com outras terapêuticas sistémicas, como é o caso da combinação com a doxorrubicina sistémica no tratamento do CHC avançado ou metastático (NCT01015833) (58) e a sua combinação com os tratamentos loco-regionais (50).

### **2.3.3.2. OUTRAS MOLÉCULAS DIRECIONADAS SOB DESENVOLVIMENTO CLÍNICO QUE TÊM DEMONSTRADO RESULTADOS PROMISSORES**

#### **2.3.3.2.1. AGENTES ANTI-ANGIOGÉNICOS MULTIALVOS**

- **Primeira-linha:**

**Lenvatinib (E7080):** é um inibidor oral de vários recetores da tirosina cinase, incluindo o VEGFR, FGFR e PDGFR (3)(70)(71). Está a ser investigado como terapêutica de primeira linha num ensaio clínico de fase III, multicêntrico, aleatorizado e aberto com pacientes com CHC de estadios intermediário ou avançado. Os dados obtidos até agora sugerem que a OS não é inferior à do sorafenib e que a sobrevida sem progressão (PFS) e o TTP melhoram significativamente (NCT01761266) (58)(72). O lenvatinib é, portanto, o primeiro agente, em primeira linha, a mostrar resultados que são iguais ou superiores aos do sorafenib em estadios avançados do CHC podendo, futuramente, tornar-se uma alternativa ao sorafenib (73).

- **Segunda linha:**

**Regorafenib (BAY 73-4506):** é um inibidor de vários recetores da tirosina cinase, nomeadamente daqueles envolvidos na angiogénese, oncogénese e no microambiente tumoral (3)(70)(74). Um ensaio clínico de fase III, randomizado, duplamente cego e controlado por placebo foi projetado (ensaio clínico RESORCE), tendo sido executado em pacientes que experimentaram desenvolvimento da doença após sorafenib. Este ensaio cumpriu o seu objetivo primário de uma melhoria estatisticamente significativa da OS (10,6 meses *versus* 7,8

meses). Mais ainda, verificou-se que os pacientes no grupo tratado com regorafenib apresentaram uma redução de 38% no risco de morte e o TTP foi superior (3,2 meses *versus* 1,5 meses). Os efeitos secundários foram semelhantes aos observados para o sorafenib (75). O sucesso do regorafenib representa um grande avanço nesta área após muitas falhas com vários agentes testados. Assim, o regorafenib tem tudo para se tornar o padrão de cuidados em segunda linha para o CHC (70).

**Apatinib (YN968D1):** é um inibidor seletivo do VEGFR (73)(76). Num ensaio clínico de fase II, multicêntrico, aleatorizado e aberto, mostrou benefício potencial na OS de pacientes com CHC em estadio avançado e com Child-Pugh A. O apatinib foi bem tolerado e os principais efeitos adversos foram a elevação das aminotransferases, trombocitopenia, leucocitopenia, hiperbilirrubinemia, hipertensão e síndrome mão-pé (77). O apatinib está atualmente a ser avaliado como terapêutica de segunda linha em pacientes com CHC avançado que evoluíram ou são intolerantes ao sorafenib (NCT02772029) (58). Em dezembro de 2014, iniciou-se um estudo de fase III, multicêntrico, aleatorizados e duplamente cego (ensaio clínico AHELP) com o objetivo de avaliar a atividade e o perfil de toxicidade após progressão com sorafenib e/ou quimioterapia. Os primeiros dados são esperados para o final deste ano (NCT02329860) (58).

#### 2.3.3.2.2. ANTICORPOS MONOCLONAIS ANTI-VEGFR

**Ramucirumab (LY3009806):** é um anticorpo monoclonal IgG1 recombinante que se liga especificamente e com alta afinidade ao domínio extracelular do VEGFR (3)(74). O ensaio clínico de fase III (ensaio clínico REACH) a comparar o ramucirumab com o placebo em pacientes após falha com sorafenib não atingiu o seu objetivo primário, com a OS a não ter sido significativamente diferente entre o ramucirumab e o placebo (9,2 meses com Ramucirumab *versus* 7,6 meses com placebo). Contudo, no subgrupo de pacientes com a AFP  $\geq$  400 ng/ml, a OS foi significativamente maior nos pacientes tratados com ramucirumab (7,8 meses *versus* 4,2 meses). A razão pela qual o ramucirumab é mais ativo nesta situação ainda não está esclarecida (78). Um ensaio clínico adicional de fase III (ensaio clínico REACH-2) numa população com níveis elevados de AFP ( $\geq$  400 ng/ml), após falha com sorafenib está atualmente a decorrer. Os primeiros resultados são esperados para o início de 2018 (NCT02435433) (58).



#### 2.3.3.2.3. INIBIDORES MET

**Tivantinib (ARQ 197):** é um pequeno inibidor oral seletivo do MET com atividade anti tumoral (76). Num ensaio clínico de fase II, multicêntrico, randomizado e controlado por placebo em pacientes com CHC avançado e Child-Pugh A, os resultados demonstraram uma quase duplicação da OS (7,2 meses *versus* 3,8 meses) e o TTP também foi maior para o grupo com tivantinib (2,7 meses *versus* 1,4 meses) (79). Com base nestes dados, um ensaio clínico de fase III, europeu/norte-americano, controlado por placebo foi realizado em pacientes com níveis de expressão elevados de MET após falha com sorafenib (ensaio clínico METIV-CHC) - (NCT01755767) (58). No entanto, a empresa anunciou recentemente que o tivantinib não conseguiu melhorar a OS (80). Um estudo similar está a decorrer no Japão (ensaio clínico JET-CHC) - (NCT02029157) (58).

**Cabozantinib (XL184):** apresenta atividade contra o MET, mas também contra outras tirosina cinases (59)(81)(82). Um ensaio clínico de fase II, com pacientes com CHC, Child-Pugh A e que evoluíram após terapêutica com sorafenib, mostrou resultados promissores. Os pacientes tratados com cabozantinib apresentaram uma OS de 15,1 meses e uma PFS de 4,4 meses. Os efeitos secundários mais frequentes foram diarreia, eritrodisestesia palmar-plantar e trombocitopenia (83). Um ensaio clínico de fase III (ensaio clínico CELESTIAL) está a decorrer e pretende comparar a eficácia do cabozantinib em relação ao placebo para pacientes com CHC avançado após progressão em sorafenib (NCT01908426) (58).

#### 2.3.3.2.4. INIBIDORES MEK

**Selumetinib (AZD6244):** tem como alvo a via RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK. Num ensaio clínico de fase I, a adição de selumetinib 75 mg diariamente ao sorafenib 400 mg, duas vezes ao dia em pacientes asiáticos com CHC avançado, particularmente relacionado com a infeção por HBV, demonstrou ser um tratamento tolerável e com uma atividade anti tumoral incentivadora. Estes resultados apoiam uma avaliação adicional num ensaio clínico de fase II (84).

#### 2.3.3.2.5. INIBIDORES TGF- $\beta$

**Galunisertib (LY2157299):** é um inibidor altamente seletivo do recetor TGF- $\beta$  (3)(82). Após várias análises iniciais com resultados promissores, estão a decorrer vários ensaios clínicos de fase II. Destes ensaios destacam-se o que pretende avaliar não só o galunisertib em monoterapia, mas também em combinação com o sorafenib em pacientes com CHC

avanzado (NCT02178358) (58) e o ensaio que visa estimar o TTP em participantes com CHC quando tratados com o galunisertib em monoterapia ou em associação com o sorafenib ou ramucirumab (NCT01246986) (58). Em fase de recrutamento está o ensaio para determinar a segurança e tolerabilidade do galunisertib quando combinado com o tratamento loco-regional, radioterapia estereotáxica corporal (NCT02423343) (58).

#### **2.3.3.2.6. INIBIDORES FGFR**

Os inibidores não seletivos de primeira geração do FGFR não possuíam especificidade para o recetor e também reconheciam a família VEGFR (3). A próxima geração de inibidores do FGFR, como é o caso do inibidor pan-FGFR, erdafitinib (JNJ-493 ou JNJ-42756493) e do inibidor seletivo para o FGFR4 (FGF401), estão atualmente a iniciar ensaios clínicos que visam o tratamento do CHC (NCT02421185, NCT02325739, respetivamente) (58).

#### **2.3.3.2.7. METABOLITOS DA ARGININA**

Um subconjunto de CHCs não possuem uma enzima chave envolvida na biossíntese de arginina, a argininosuccinato sintetase e, conseqüentemente, extraem a arginina da circulação para que possam crescer e sobreviver. Assim, reduzir a arginina em circulação pode controlar o crescimento tumoral. A ADI-PEG 20 (*pegylated arginine deiminase*) é uma enzima que degrada a arginina (81)(85). Um estudo de fase I/II mostrou que esta apresenta um perfil de segurança favorável em pacientes com CHC com carga tumoral alta e insuficiência hepática (86). Perante estes dados, foi realizado um ensaio clínico de fase III, duplamente cego do ADI-PEG 20 *versus* placebo após falha de terapêutica sistémica anterior. Este estudo está completo e aguarda agora a publicação do relatório (NCT01287585) (58).

### 2.3.3.2.8. OUTRAS MOLÉCULAS EM ENSAIO CLÍNICO

Tabela 2.2 Exemplos de moléculas e de combinações de moléculas em ensaios clínicos de fase I/II ou II para o tratamento sistêmico do CHC avançado. Adaptado de (58).

Molécula(s)	Estudo	Fase	Alvo	Identificação	Previsão da conclusão do estudo
Tepotinib (MSC2156119J)	Dose, eficácia, segurança e farmacocinética como primeira linha em pacientes com desregulação da via MET	I/II	MET	NCT01988493	outubro 2018
Tepotinib (MSC2156119J)	Eficácia, segurança e farmacocinética em pacientes com desregulação da via MET e após falha com sorafenib	I/II	MET	NCT02115373	fevereiro 2018
Capmatinib (INC280)	Segurança e eficácia em pacientes com desregulação da via MET	II	MET	NCT01737827	janeiro 2018
Emibetuzumab (LY2875358) (+ Ramucirumab)	Esquema e intervalo de dose. Verificação da segurança	I/II	MET + VEGFR	NCT02082210	dezembro 2017
Temsirolimus (CCI-779) (+ Sorafenib)	Continuação do estudo de fase I	II	mTOR	NCT01687673	setembro 2017 (ainda sem dados publicados à data do último acesso)
CF102	Após falha com sorafenib	II	Recetor da adenosina A3	NCT02128958	setembro 2018

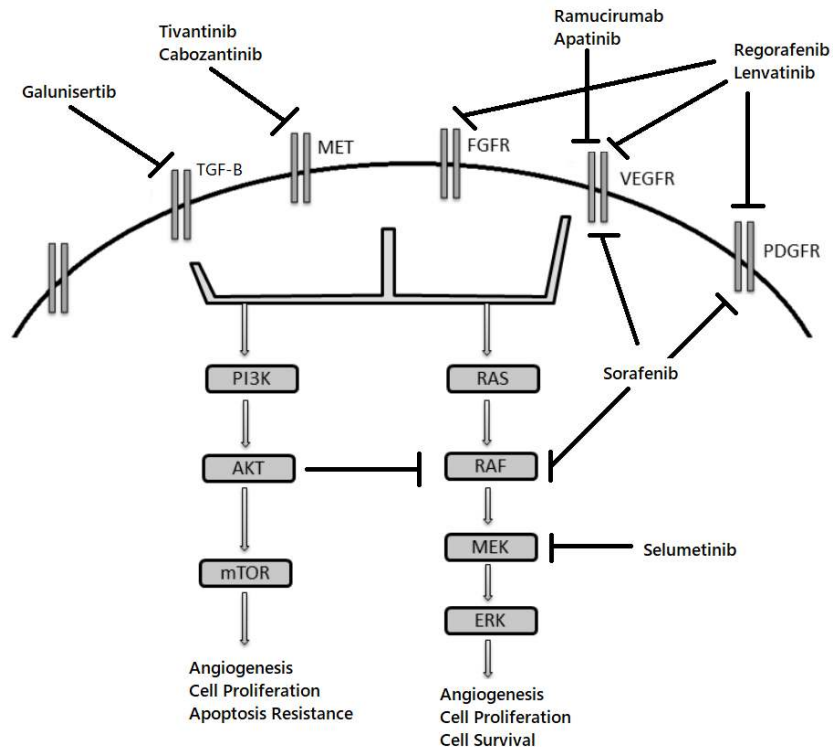


Figura 2.7 Esquema resumo dos mecanismos de ação e principais terapêuticas direcionadas do CHC. Adaptado de (2).

## 2.3.4. OUTROS TRATAMENTOS SOB INVESTIGAÇÃO

### 2.3.4.1. IMUNOTERAPIA

Vários fatores tornam o CHC um alvo atraente para a imunoterapia. Sabe-se que um dos mecanismos de supressão imune passa pelo aumento das citocinas imunossupressoras, que ocorre simultaneamente com a supressão das citocinas ativadoras imunes (62). Mais ainda, a inflamação crônica cria um microambiente que favorece o esgotamento das células T e a evasão imunológica (3)(70). Além disso, várias moléculas dos *checkpoints* imunes estão desreguladas no CHC, particularmente, o PD-L1/PD-1 e o antígeno 4 associado ao linfócito T citotóxico (CTLA-4) (3)(87).

O PD-L1 é fortemente expresso no CHC e a ligação PD-1/PD-L1 é importante para a fuga ao sistema imunitário ao interferir com o normal funcionamento das células T. A ligação bloqueia a transdução de sinal nas células T, inibe a sua proliferação, inibe a secreção do seu meio citotóxico e ainda promove a depleção destas células (3)(85)(88).

O CTLA-4 é conhecido por estar aumentado no microambiente do CHC e por suprimir o sistema imunitário ao inativar também a função das células T (88).

Assim, a inibição destas vias pode inverter a imunossupressão existente, permitindo que as células T atuem e libertem as citocinas que conduzem à apoptose ou necrose das células tumorais (3)(88).

Apesar do bloqueio destas vias já fornecer resultados encorajadores em ensaios iniciais, a relevância terapêutica de bloquear estes agentes ainda não é totalmente clara (87).

**Nivolumab:** é um anticorpo monoclonal IgG4 totalmente humano e anti-PD-1 (73)(85). Foi avaliado num ensaio clínico de fase I/II, com crescente de dose, em pacientes com CHC avançado e com função hepática preservada, que recusaram, eram intolerantes ou foram progredindo em sorafenib. Este estudo para além de sugerir que o nivolumab possa ser uma terapêutica viável de segunda linha, sugere ainda explorar o nivolumab como terapêutica de primeira linha para o CHC avançado (89). Um ensaio clínico de fase III a avaliar o nivolumab *versus* o sorafenib como tratamento de primeira linha em pacientes com CHC avançado está agora em progresso e os primeiros dados são esperados para outubro de 2018 (NCT02576509) (58).

**Pembrolizumab (MK-3475):** é um anticorpo monoclonal IgG4 completamente humano e altamente seletivo para o PD-1. Ensaio clínico de fase II (ensaio clínico KEYNOTE 224) e

fase III (KEYNOTE 240) estão em progresso em pacientes com CHC avançado previamente tratado sistemicamente (NCT02702414 e NCT02702401, respetivamente) (58).

**Tremelimumab (CP657 206):** é um anticorpo monoclonal humanizado IgG2 e anti-CTLA-4 (76)(85). Num ensaio clínico de fase II, apresentou bons resultados com uma taxa de resposta parcial de 17,6% e TTP de 6,5 meses. Também se observou que o tremelimumab induzia uma queda significativa na carga viral (90). Sabendo que a TACE e a RFA podem desencadear atividade imune contra o CHC e potencializar a atividade anti-CTLA-4 (76)(85), foi realizado um estudo para avaliar a eficácia desta combinação. A PFS média foi de 7,4 meses. O estudo mostrou ainda que o tremelimumab combinado com a TACE ou RFA é seguro e viável para o tratamento do CHC avançado e que este regime também pode reduzir a carga viral em pacientes com infeção por HCV (91). Um ensaio clínico de fase II está a avaliar atualmente o inibidor PD-L1 (durvalumab ou MEDI4736) e o tremelimumab em monoterapia ou em associação para pacientes com CHC não ressecável que evoluíram, são intolerantes ou recusaram o tratamento com sorafenib. Esperam-se resultados em março de 2020 (NCT02519348) (58).

**Tabela 2.3 Outros ensaios clínicos para o tratamento avançado do CHC a decorrer na área da Imunoterapia. Adaptado de (58).**

Molécula(s)	Estudo	Fase	Alvo	Identificação	Previsão da conclusão do estudo
Pembrolizumab	O objetivo principal é avaliar a eficácia terapêutica em pacientes com CHC não ressecável	II	Anti-PD-1	NCT02658019	abril 2019
Pembrolizumab	Como terapêutica de segunda linha	II	Anti-PD-1	NCT03163992	dezembro de 2019
Pembrolizumab (+ Y90)	Eficácia e segurança da combinação em indivíduos com baixo prognóstico e não elegíveis para transplante do fígado ou ressecção cirúrgica	I	Anti-PD-1	NCT03099564	janeiro de 2020
Pembrolizumab (+ Sorafenib)	Tratamento de pacientes com cancro do fígado metastático.	I/II	Anti-PD-1 + várias cinases	NCT03211416	outubro 2019
PDR001 (+ Capmatinib)	Segurança, tolerabilidade, farmacocinética, farmacodinâmica e atividade tumoral em monoterapia ou em combinação	I/II	Anti PD-1 + MET	NCT02795429	dezembro 2018
SHR-1210 (+ Apatinib)	Eficácia e segurança no CHC avançado ou cancro gástrico	I/II	Anti-PD-1 + VEGFR	NCT02942329	Não fornecida

#### 2.3.4.2. VACINAS

O número de ensaios clínicos com vacinas para o CHC é extremamente baixo e os resultados obtidos não têm sido satisfatórios (92)(93). As principais razões apontadas para estes resultados são o forte microambiente imunossupressor hepático e o número de antígenos e péptidos associados ao tumor (TAAs e TUMAPs, respetivamente) utilizados em vacinas que tenham como alvo o CHC é ainda muito limitado (92)(93).

Apenas os epítomos restritos à classe I do HLA (antígeno leucocitário humano) derivados da AFP, da transcriptase reversa da telomerase humana (hTERT) e do GPC3 foram testados em ensaios clínicos e até agora com resultados limitados (93).

Assim, a identificação de TAAs e TUMAPs associados especificamente ao CHC é um dos principais aspetos a ser investigado com vista à melhoria da eficácia das vacinas que visam o CHC (93). Considerando os dois principais obstáculos para a produção de uma vacina eficaz contra o CHC, uma estratégia combinatória, que inclua abordagens que estimulem o sistema imunitário e vacinas que foquem TAAs e TUMAPs específicos, deve proporcionar uma melhoria significativa nos resultados clínicos dos pacientes com CHC. No entanto, poucos exemplos de estratégias combinatórias foram avaliadas até o momento e apresentam resultados discordantes (92)(93).

#### ***Cancer Vaccine Development of Hepatocellular Carcinoma (HEPAVAC):***

O projeto colaborativo HEPAVAC, financiado pela União Europeia, foi criado em 2013 e o seu principal objetivo é desenvolver uma nova estratégia terapêutica para a vacina contra o CHC. O HEPAVAC vai avaliar o padrão de TUMAPs restritos ao HLA de classe I e II naturalmente processados e apresentados pelas células tumorais do CHC. Os TUMAPs específicos para o CHC validados serão então selecionados para um *cocktail* multi-péptidos e multi-HLA classe I e II. Paralelamente, os péptidos derivados de mutações específicas de pacientes e naturalmente processados e apresentados serão investigados para uma vacina personalizada. Ambas as vacinas vão ser combinadas com um novo e potente imunomodulador baseado numa molécula de ácido ribonucleico (RNA) de cadeia longa e não codificante capaz de induzir respostas imunes equilibradas e de longa duração, resultando numa forte atividade anti tumoral (RNAdjuvant®). A vacina HEPAVAC será finalmente avaliada num ensaio clínico de fase I/II, multicêntrico e aleatorizado (iniciado no final de 2016) para avaliar a viabilidade, segurança e eficácia biológica. Este é a primeira vacina contra o cancro com múltiplos epítomos, multi-alvos e multi-HLA para uma doença tão frequente e agressiva como o CHC (92)(93)(94).

### 2.3.4.3. VÍRUS ONCOLÍTICOS

Os vírus oncolíticos (OVs) foram recentemente reconhecidos como um tratamento eficaz para o cancro em modelos pré-clínicos e respostas clínicas promissoras foram obtidas em pacientes oncológicos (95). Os OVs tem várias vantagens em relação ao agente anti tumoral convencional porque não só têm especificidade para as células cancerígenas, propagando-se seletivamente dentro do tumor, como também têm uma melhor margem de segurança (71)(95)(96).

Os OVs sobrevivem ao provocar a lise das células cancerígenas (95). Esta lise não só leva à regressão tumoral, mas também fornece respostas imunes importantes, já que os sinais fornecidos pela lise às células dendríticas e a outras células apresentadoras de antígenos pode iniciar uma resposta imune anti tumoral potente e adicional (95).

Quanto ao CHC, a maioria dos estudos pré-clínicos utiliza o adenovírus e o vírus da estomatite vesicular como vetor devido à sua habilidade natural para matar ou atingir as células do CHC (95). No entanto, outros vírus como o vírus do *herpes simplex*, o vírus da doença de Newcastle ou os *vaccinia virus* podem ser utilizados (95). A fim de atingir e melhorar a eficácia terapêutica dos vírus, vários genes são colocados estrategicamente no seu genoma (95).

O agente líder atual neste ramo de pesquisa é o JX-594 (Pexa-Vec) (71)(97).

**JX-594 (Pexa-Vec):** recebeu o estatuto de medicamento órfão para o CHC pela EMA em 2009 e pela FDA em 2013 (97). Trata-se de um *vaccinia virus* oncolítico e imunoterapêutico (81), no qual ocorreu a inserção do fator de estimulação de colónias de granulócitos e macrófagos humanos, transgenes da  $\beta$ -galactosidase e rutura do gene de timidina cinase viral para que possa ocorrer a estimulação do sistema imunitário, avaliação da replicação e seletividade tumoral, respetivamente (85). Atualmente, um ensaio clínico de fase III (ensaio clínico PHOCUS) do JX-594 em combinação com o sorafenib *versus* o sorafenib em monoterapia, como tratamento de primeira linha, está a recrutar pacientes (NCT02562755) (58).

**OBP-301:** é um adenovírus oncolítico modificado para poder replicar seletivamente em células cancerígenas através da introdução do promotor da hTERT (96). A atividade da hTERT é elevada na maioria dos casos de CHC e, portanto, todos os estudos atuais visam investigar se este vírus pode ou não ser usado para o tratamento do CHC (96). Em estudo pré-clínico *in vivo* para o CHC, o agente mostrou um potente efeito oncolítico e evitou o tecido saudável do fígado (98). Atualmente, este vírus oncolítico está a ser investigado num ensaio clínico de fase I/II para avaliar a sua eficácia e segurança em pacientes com CHC. Os primeiros dados são esperados no final deste ano (NCT02293850) (58).

## **Vírus oncolíticos e Imunoterapia:**

Estando os OV's associados à resposta imune, estes tornam-se candidatos ideais para serem inibidores dos *checkpoints* imunes, como anti-PD-L1 ou anti-CTLA-4. Assim, estudos recentes mostraram que as propriedades imune estimuladoras dos OV's podem, de facto, ser orientadas para melhorar a eficácia do bloqueio dos *checkpoints* imunes (5). Em progresso está um ensaio clínico de fase I/II para avaliar a eficácia e segurança da combinação do JX-594 com o nivolumab (anti-PD-1) como tratamento de primeira linha no CHC avançado. Os primeiros resultados são esperados para abril de 2019 (NCT03071094) (58).



#### 2.3.4.4. QUIMIOTERAPIA

O CHC é pouco quimiosensível devido à expressão de genes de resistência e à disfunção hepática que altera o metabolismo dos fármacos e que, conseqüentemente, pode alterar a sua toxicidade (7)(76). Além disso, algumas das complicações associadas à quimioterapia, tais como as infecções sistêmicas, são particularmente graves nos doentes imunocomprometidos como é o caso dos pacientes com CHC (7). Nos últimos anos, os tratamentos ou regimes únicos quimioterapêuticos apresentaram sempre respostas anti tumorais modestas e na maioria dos estudos publicados não há evidência de melhorias da OS. No entanto, a quimioterapia ainda pode ser uma opção após a progressão no sorafenib se a função hepática estiver preservada e se existir um bom *performance status*. Contudo, é uma área ainda por explorar (7)(76)(99).

Entre os fármacos testados encontram-se a doxorrubicina, o 5-fluorouracilo, gentamicina, oxaliplatina, cisplatina e capecitabina (7)(76).

#### **Combinação de agentes quimioterapêuticos:**

Na tentativa de aumentar a taxa de benefícios clínicos, várias combinações de quimioterapia foram testadas, mas, até à data, nenhuma demonstrou superioridade global quando comparada com agentes individuais (76). Ainda assim, algumas combinações têm demonstrado alguns resultados promissores.

Um ensaio clínico de fase III, realizado em pacientes chineses (ensaio clínico EACH) e que compara o esquema FOLFOX4 (5-fluorouracilo, leucovorina e oxaliplatina) *versus* doxorrubicina em monoterapia demonstrou um benefício pouco significativo na OS (OS de 6,40 meses *versus* 4,97 meses). Em termos de toxicidade, embora a incidência de neutropenia e neurotoxicidade no grupo FOLFOX4 tenha sido ligeiramente superior, não houve diferenças na incidência de reações adversas de grau 3/4 entre os dois grupos. Assim e, apesar da falta de benefício na OS, o estudo conclui que a combinação FOLFOX4 é conveniente, bem tolerada e segura (100), pelo que em março de 2013 a *Chinese Food and Drug Administration* (CFDA) aprovou formalmente este regime tornando-se o primeiro regime oficialmente aprovado para a quimioterapia do CHC em todo o mundo (70)(85).

Vários estudos de fase I que avaliaram a combinação de gencitabina com oxaliplatina (GEMOX) como terapêutica de primeira linha para o CHC avançado mostraram um perfil de segurança favorável (101)(102). Estes resultados foram confirmados também como tratamento de segunda linha após falha com sorafenib em dois estudos retrospectivos (103)(104). A eficácia e segurança do GEMOX combinado com o sorafenib seguido do

sorafenib em monoterapia como manutenção foi examinada num pequeno ensaio com 49 pacientes diagnosticados com CHC avançado. Esta abordagem demonstrou ser eficaz (OS de 15,7 meses) com toxicidade gerenciável (105). Estes resultados devem ser validados num ensaio controlado de maiores dimensões.

### Quimioterapia e outros alvos terapêuticos do CHC:

Atualmente, o FOLFOX combinado com o sorafenib está sob investigação num ensaio clínico de fase II (NCT01775501) (58).

Suportado por dados pré-clínicos que sugerem sinergia entre a ADI-PEG 20, o 5-fluorouracilo e a platina há um ensaio clínico de fase I, atualmente a recrutar pacientes, a explorar a combinação do ADI-PEG 20 com o esquema FOLFOX (NCT02102022) (58).

Tabela 2.4 Outros ensaios clínicos para o tratamento do CHC a decorrer na área da Quimioterapia. Adaptado de (58).

Esquema terapêutico	Estudo	Fase	Identificação	Previsão da conclusão do estudo
GEMOX <i>versus</i> FOLFOX4	Determinar se o esquema GEMOX é superior ao esquema FOLFOX4 em prolongar a PFS em pacientes com CHC avançado	II/III	NCT02534337	setembro 2017 (ainda sem dados publicados à data do último acesso)
Infusão arterial hepática de quimioterapia <i>versus</i> TACE	Comparação da eficácia e segurança em pacientes com CHC avançado	III	NCT02856126	agosto 2018
Sorafenib <i>versus</i> (Sorafenib + Infusão arterial hepática de quimioterapia)	Comparação da eficácia e segurança em pacientes com CHC avançado	III	NCT02774187	dezembro de 2018

### 2.3.4.5. NANOMEDICINA

A libertação de fármacos quimioterapêuticos mediada por nanopartículas (NPs) tem o potencial de modular a farmacocinética e a farmacodinâmica destes fármacos, uma menor toxicidade sistêmica, evita resistências aos fármacos e mantém a liberação controlada e sustentada dos mesmos (4)(106)(107). Oferece ainda a oportunidade para contornar os problemas de baixa solubilidade de vários fármacos e facilita o desenvolvimento de sistemas que permitem tanto o diagnóstico como a terapêutica ou de sistemas com terapêuticas combinadas (106).

A encapsulação de vários agentes quimioterapêuticos e/ou ácidos nucleicos em NPs de várias composições melhorou o tratamento de várias doenças e é considerada uma ferramenta potencial para o tratamento do CHC (107). No entanto, biocompatibilidade, toxicidade, imunogenicidade, degradabilidade e estabilidade devem ser cuidadosamente considerados para o desenho de NPs eficientes (107). Uma série de estudos pré-clínicos revelaram a capacidade das NPs para melhorar os resultados terapêuticos em pacientes com CHC e os ensaios clínicos estão em progresso (107).

#### **Ensaio Clínico de fase III a decorrer:**

- **Doxorrubicina-*Transdrug*:** é uma formulação em nanopartícula da doxorrubicina com poli (isohexil cianoacrilato) – polímero – que demonstrou uma afinidade preferencial para o fígado. Parece entrar nas células malignas por difusão, conseguindo uma maior concentração e eficácia intracelular do que a doxorrubicina convencional (70)(73)(106). Um ensaio clínico de fase III como segunda linha de tratamento e que compara a eficácia e a segurança das infusões intravenosas desta nanopartícula em pacientes com CHC avançado após falha ou intolerância ao sorafenib (*ReLive Study*) está atualmente em progresso (NCT01655693) (58). A conclusão do estudo é esperada para janeiro de 2019 (58).
- **Formulação lipossômica termossensível de Doxorrubicina:** popularmente conhecida como *Thermodox*, é uma formulação nanoliposomal de doxorrubicina sensível à temperatura (106). Com o aquecimento com uma fonte de calor relativamente suave são criadas aberturas no lipossoma que permitem a libertação do fármaco apenas quando e onde é necessário (106)(107). Esta formulação para além de ser citotóxica, atua como um agente anti vascular, ao interferir com o fluxo sanguíneo do tumor causando danos ao tecido tumoral (106). O *Thermodox* está atualmente a ser investigado num ensaio clínico

de fase III (ensaio clínico OPTIMA) em combinação com a RFA em pacientes com CHC. A conclusão do estudo é esperada para dezembro de 2019 (NCT02112656) (58).

**Tabela 2.5 Outros ensaios clínicos para o tratamento do CHC a decorrer na área da Nanomedicina. Adaptado de (58).**

<b>Molécula</b>	<b>Estudo</b>	<b>Fase</b>	<b>Identificação</b>	<b>Previsão da conclusão do estudo</b>
MTL-CEBPA (consiste numa cadeia dupla de RNA formulada numa nanopartícula lipossomal SMARTICLES®)	Segurança e tolerabilidade em pacientes refratários ou intolerantes a terapias loco-regionais ou ao sorafenib	I	NCT02716012	dezembro 2018

**Tabela 2.6 Estudos pré-clínicos do sorafenib em combinação com estratégias da Nanomedicina. Adaptado de (106).**

<b>Nanopartícula</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Fase</b>	<b>Características</b>
Sorafenib - nanopartícula sólida lipídica	Sorafenib	Pré-clínica	Biodisponibilidade melhorada, liberação de sustentação biocompatível, biodegradável, baixa toxicidade, mais eficaz do que o fármaco livre
Sorafenib - nanosuspensão	Sorafenib	Pré-clínica	Biodisponibilidade melhorada, liberação de sustentação biocompatível, biodegradável, baixa toxicidade, mais eficaz do que o fármaco livre

#### **2.3.4.6. HORMONOTERAPIA**

Como existe uma significativa predominância masculina na mortalidade e morbidade do CHC, há muito que era considerado que as hormonas sexuais desempenhariam um papel no desenvolvimento do CHC (76)(96). Mais ainda, os recetores dos estrogénios estão presentes em cerca de 1/3 dos CHCs (76)(96). Assim, estes tumores poderiam beneficiar do bloqueio destes recetores (96).

O tamoxifeno, um antagonista competitivo dos recetores dos estrogénios, têm sido estudados em vários ensaios clínicos numa tentativa de avaliar a sua atividade contra o CHC. Contudo, não demonstrou efeitos anti tumorais nem vantagens na OS (7)(76)(96).

O acetato de megestrol bloqueia os recetores dos estrogénios e foi avaliado no CHC com resultados muito variáveis entre ensaios clínicos (76)(96).

Resultados mais interessantes foram obtidos em estudos com a somatostatina e com os seus análogos dada à atividade anti proliferativa desta hormona e à positividade do CHC, em recetores da somatostatina, em cerca de 40% dos casos (76)(87)(96). Publicações documentaram que a somatostatina leva à apoptose e possui propriedades antineoplásicas. No entanto, ensaios randomizados, principalmente de países ocidentais, não identificaram um benefício claro na OS (87). O octreotido, um análogo da somatostatina, mostrou um efeito anti tumoral direto no CHC (76)(96). Vários estudos mostraram benefícios diferentes, mas uma meta análise mostrou taxas de OS de 6 e 12 meses que eram significativamente maiores que as observadas no grupo de controlo, embora apenas em estudos orientais (108). Os resultados em relação a estas terapêuticas continuam controversos, pelo que o seu uso não é recomendado (87)(96).

## **2.3.4.7. EPIGENÉTICA**

### **2.3.4.7.1. METILAÇÃO DO DNA**

No genoma do CHC a hipometilação afeta a função estrutural-nuclear promovendo a instabilidade cromossômica e genômica, enquanto que a hipermetilação é, frequentemente, associada ao silenciamento de genes supressores de tumor (62)(109)(110).

Durante as fases iniciais da hepatocarcinogénese foram observados pontos quentes de metilação em diferentes cromossomas (109). Existem dados sobre a metilação de DNA aberrante no cromossoma 3 e 16, com inativação de múltiplos genes supressores de tumor (109). Várias análises de *microarrays* com amostras de CHC identificaram não só novos genes com metilações específicas para o cancro, como novos marcadores de metilação de DNA para as diferentes fases de evolução do CHC (109). A hipermetilação das ilhas de CpG é outro mecanismo importante para a inativação de genes supressores de tumor (109)(110). Diferentes estudos evidenciaram também uma correlação direta entre o p16 hipermetilado e o estadió avançado do CHC (109).

O zebularine é um inibidor altamente estável da metilação do DNA que demonstrou uma atividade anti tumoral não só pela inibição da metilação do DNA, como também pela inibição da proliferação celular e indução da apoptose, representado um potencial fármaco com dupla função (111). O decitabine, outro agente inibidor da metilação, foi avaliado num ensaio clínico de fase I/II em 15 paciente com CHC obtendo uma PFS média de 4 meses e um perfil de toxicidade favorável.

Assim, os dados iniciais sobre o papel potencial dessa classe de fármacos no CHC são favoráveis. No futuro o ponto chave é a avaliação prospetiva dos esquemas de administração e da farmacodinâmica no CHC (109).

### **2.3.4.7.2. DEACETILASES DAS HISTONAS**

Estudos pré-clínicos mostraram que o tratamento com inibidores das deacetilases das histonas (HDACs) pode induzir a apoptose nas linhas celulares de CHC (109). Com base nesses dados preliminares promissores, um ensaio clínico de fase I/II avaliou um inibidor das HDACs, o belinostat, no tratamento do CHC avançado. Os autores evidenciaram uma eficácia clara em 42 pacientes, com uma taxa de estabilidade da doença de 47,6% e uma PFS de 2,64 meses, tendo o mesmo sido bem tolerado (112).

Além disso, diferentes dados recentes evidenciaram um possível papel dos inibidores das HDACs na regulação da atividade dos micro ácidos ribonucleicos (miRNAs). Foi demonstrado que a HDAC 9, uma deacetilase das histonas responsável pela deacetilação da

lisina 18 da histona 3 (H3K18), poderia reverter a *downregulation* do miR-376a, um miRNA envolvido na evolução do CHC (113). Num outro estudo publicado já no decorrer deste ano, verificou-se que o microRNA-889 é *downregulated* por inibidores das HDACs com consequente aumento da suscetibilidade das células do CHC às células *natural killers* (114).

Estes dados sugerem um possível circuito regulatório entre os miRNAs e as HDACs no CHC, sendo que o conhecimento futuro mais aprofundado dessas interações pode criar uma nova oportunidade terapêutica (109).

**Tabela 2.7 Alguns ensaios clínicos a decorrer para o tratamento do CHC com HDACs. Adaptado de (58).**

<b>Molécula</b>	<b>Estudo</b>	<b>Fase</b>	<b>Alvos</b>	<b>Identificação</b>	<b>Previsão da conclusão do estudo</b>
Resminostat (YHI-1001) (+ Sorafenib)	Eficácia e segurança	I/II	HDACs + várias cinases	NCT02400788	Data não fornecida
Vorinostat (+ Sorafenib)	Efeitos secundários e melhor dose	I	HDACs + várias cinases	NCT01075113	agosto 2017

### **2.3.4.7.3. MIRNAS**

Os miRNAs desempenham um papel importante no silenciamento do RNA, na regulação pós-tradução da expressão genética, na progressão do ciclo celular, desempenhando também um papel na carcinogênese (4)(62)(109).

Existem duas principais desvantagens na terapêutica baseada em miRNAs: os efeitos fora do alvo e entrega ineficaz ao local de interesse (4). Os efeitos fora do alvo conduzem ao silenciamento de genes além do gene alvo que, em alguns casos, podem ser genes “saudáveis” (4). Entre os obstáculos à entrega eficiente ao local alvo encontra-se a degradação e eliminação mediada por nucleases e pela filtração renal (4). Os medicamentos à base de ácidos nucleicos podem ainda causar imunogenicidade (4).

A desregulação de miRNAs em diferentes estádios do CHC é notada através da comparação do perfil de miRNAs de pacientes com CHC e de indivíduos saudáveis e são detetados não apenas nos tecidos tumorais hepáticos, mas também em circulação no soro e na urina (4).

Verificou-se no CHC que os miRNAs oncogénicos que promovem a progressão do tumor podem estar *upregulated* (miR-21, miR-201, miR-221, miR-222, miR-224, miR-17-92), enquanto os miRNAs supressores de tumor estão, geralmente, *downregulated* (miR-1, miR-29, miR-122, miR-200, miR-123, miR-124, miR-214, miR-199a, miR-199b, miR-449) (4)(62).

Muitos miRNAs correlacionaram-se ainda com os diferentes agentes envolvidos na promoção do CHC, como a infecção por HCV (miR-196), infecção por HBV (miR-155 e miR-18a), cirrose (miR-217) ou excesso de álcool (miR-126, miR-199 e miR-200) (109).

Com base nesses dados preliminares muitos estudos investigam os miRNAs como fatores promissores de diagnóstico e prognóstico, mas também de tratamento do CHC (109) (Tabela 2.8).

Tabela 2.8 Ensaio clínico a decorrer para o CHC envolvendo miRNAs. Adaptado de (58).

Estudo	Identificação	Previsão da conclusão do estudo
miRNAs como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico do CHC	NCT02448056	maio 2025
Significado clínico dos microRNAs miR-221 e miR-222 hepáticos e em circulação no CHC	NCT02928627	dezembro 2018
MicroRNAs como biomarcadores de diagnóstico no CHC em pacientes da Somália	NCT03227510	setembro 2019

#### 2.3.4.7.4. LNCRNAs

Estudos recentes mostraram que os ácidos ribonucleicos longos não codificantes (lncRNAs) desempenham um papel crítico na regulação de muitos processos biológicos envolvidos na progressão do CHC, incluindo angiogénese, proliferação celular, apoptose, invasão e metastização (115). A maioria dos lncRNAs é indetetável ou expresso em níveis baixos no tecido hepático normal, mas estão, geralmente, *upregulated* no CHC (62).

Estudos recentes revelaram que alguns lncRNAs contribuem para a ativação de várias vias envolvidas na hepatocarcinogénese tais como a via HGF/MET, WNT/ $\beta$ -catenina e TFG- $\beta$  (116).

Só são conhecidos os mecanismos de alguns lncRNAs no CHC (116). Assim, embora o conhecimento existente sobre os lncRNAs seja ainda limitado, sabe-se que estes podem desempenhar um papel significativo no desenvolvimento do CHC, pelo que a compreensão dos seus mecanismos moleculares será útil na determinação de potenciais alvos futuros, que poderão vir a ser utilizados não só como biomarcadores de diagnóstico e prognóstico, mas também como alvos do tratamento do CHC (117)(115).



#### **2.3.4.8. EXOSSOMAS**

Os exossomas desempenham um papel na comunicação intercelular, funcionando como transportadores de conteúdo funcional, como proteínas, lípidos, RNA e DNA circulante de células dadoras para células recetoras (118)(119)(120). Os exossomas podem ainda desempenhar um papel potencial na imunovigilância, na patogénese e progressão do tumor, inclusivamente na angiogénese e fuga ao sistema imunitário (119). Várias observações sugerem ainda que o conteúdo dos exossomas contribui para a progressão de metástases, bem como para a aquisição de quimiorresistência (119)(118).

Para além das células tumorais libertarem mais exossomas do que as restantes células, verificou-se que a composição destas vesículas difere profundamente entre linhas celulares não transformadas e tumorais (118)(119).

Os resultados obtidos das primeiras pesquisas realçam o papel prático e potencialmente viável dos exossomas no tratamento de pacientes com CHC, não só como alvo, mas também como veículo para a entrega de outros fármacos (119)(120). Os exossomas apresentam baixa imunogenicidade e toxicidade e são bastante estáveis, tanto nos tecidos como na circulação. Assim, aparecem como ótimos veículos para a entrega de agentes quimioterapêuticos e são ainda candidatos atraentes para a entrega de outros tipos de fármacos, em particular os miRNAs, naturalmente transportados pelos exossomas (118). Assim, a transferência de miRNAs através de exossomas está a emergir como um novo mecanismo de regulação da função celular em várias doenças malignas (119).

Além dos miRNAs, os lncRNAs também medeiam o progresso do CHC, contudo nenhum estudo investigou as funções dos lncRNAs em exossomas derivados de CHC (119)(120).

O CHC desenvolve-se no contexto da cirrose e da inflamação crónica e é concebível que a troca de material mediada pelos exossomas possa contribuir para a propagação e amplificação de sinais oncogénicos (118). Contudo, outros estudos demonstraram que os exossomas modificam o microambiente tumoral favorecendo a resposta imune e a supressão do tumor (119). Assim, o tratamento com base em exossomas pode ser uma espada de dois gumes, dada a atividade pró e anticancerígena destes veículos extracelulares. Portanto, numerosos e grandes estudos devem avaliar a eficácia clínica e a segurança dos exossomas para o seu uso como alvo para rastreio, diagnóstico ou tratamento do CHC (119)(120).

#### 2.3.4.9. MICROAMBIENTE TUMORAL

O microambiente tumoral trata-se de um sistema dinâmico, composto por fibroblastos, células inflamatórias, células endoteliais, células imunitárias, citocinas, fatores de crescimento, enzimas proteolíticas, microvesículas, plaquetas e componentes da matriz extracelular (60)(121)(122).

Os componentes do microambiente interagem uns com os outros e com as células do CHC, direta ou indiretamente, para adquirir um fenótipo anormal e alterar as funções das células cancerígenas (60)(121), pelo que agentes biológicos que visam os componentes do ambiente tumoral podem fornecer uma alternativa interessante à terapêutica tradicional (121). Destaca-se o papel da inibição das células que estão ativamente ligadas ao desenvolvimento do nicho neoplásico, como é o caso dos fibroblastos associados ao cancro (CAFs), dos macrófagos associados ao tumor (TAMs) e das HSCs (60).

Mais recentemente, as *cancer stem cells* (CSCs), que apresentam propriedades semelhantes às *stem cells* normais, foram amplamente estudadas e podem ser usadas para a conceção de novas terapêuticas (121). Até o momento há evidências que mostram que as CSCs estão presentes numa enorme variedade de tumores sólidos, incluindo o CHC (121). Estas células são consideradas responsáveis não só por iniciar o tumor, mas também pela persistência, recidiva e metastização, levando a um fenótipo tumoral mais agressivo (62). Mais ainda, as CSCs também tornam o tumor quimiorresistente e radorresistente, o que pode ajudar a explicar o porquê dos CHCs geralmente serem resistentes às quimioterapias convencionais e também o porquê das terapêuticas mais recentes, como o sorafenib e que não visam as CSCs, estarem associadas à recidiva frequente do tumor após a terapêutica (62).

Como principais obstáculos ao desenvolvimento de fármacos que foquem o microambiente tumoral encontra-se a dificuldade de remover as propriedades promotoras do cancro, mas simultaneamente reter os papéis fisiológicos normais desses componentes do microambiente e a difícil entrega dos agentes terapêuticos devido a estruturas vasculares insuficientes e defeituosas, hipoxia e alteração de pH. Portanto, abordagens bem-sucedidas exigirão não só o conhecimento mais aprofundado dos componentes do microambiente e das suas funções, mas também o desenho de *carriers* de entrega eficientes (121).

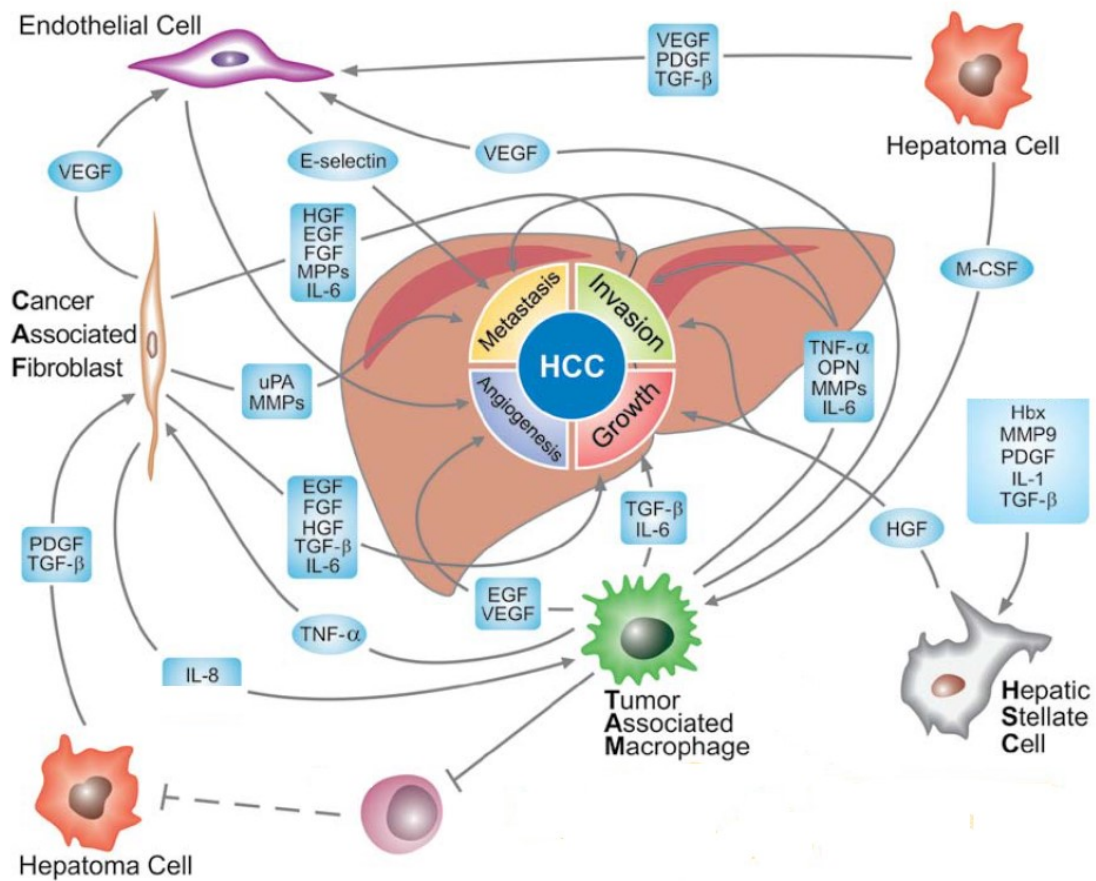


Figura 2.8 Componentes do microambiente do CHC e a sua interação. EGF: fator de crescimento epidérmico; FGF: fator de crescimento dos fibroblastos; HbX: proteína X do vírus da hepatite B; M-CSF: fator estimulador de colónias de monócitos; PDGF: fator de crescimento derivado das plaquetas; VEGF: fator de crescimento endotelial vascular.

Adaptado de (123).

## CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

O CHC permanece altamente letal, com elevadas taxas de incidência e mortalidade, com opções de tratamento sistémico muito limitadas para a doença avançada e com a base molecular da sua patogénese ainda não totalmente conhecida e compreendida.

Com a primeira terapêutica sistémica aprovada para CHC avançado, o sorafenib tem sido o tratamento padrão na última década. Desde então, muitos agentes direcionados foram testados em ensaios clínicos como terapêutica de primeira ou segunda linha, mas não conseguiram demonstrar benefício apesar dos seus antecedentes interessantes e promissores, à exceção do regorafenib que virá, muito provável e brevemente, a ser aprovado como terapêutica de segunda linha para o CHC. As razões para o fracasso são heterogêneas e incluem a falta de compreensão dos fatores críticos que levam à progressão/disseminação do carcinoma, toxicidade hepática, falhas no desenho do ensaio clínico ou a eficácia marginal dos agentes.

Como o CHC possui várias etiologias distintas, este pode ser genética e molecularmente muito heterogêneo. Ainda assim, é conhecida uma sequência comum de transformações histológicas, genéticas e moleculares que ocorrem durante a carcinogénese da maioria dos CHCs. Recentemente começaram a ser explorados os mecanismos patogénicos que estão subjacentes às várias etiologias do CHC. Esta distinção mais aprofundada em estudos futuros pode resultar numa sensibilidade melhorada para detetar anormalidades e, com sorte, facilitar não só a descoberta de mutações adicionais que orientam a hepatocarcinogénese como permitir uma terapêutica direcionada de acordo com a etiologia.

Grande parte da fisiopatologia do tumor também foi estudada e os recetores dos fatores de crescimento, mediadores da angiogénese e cascatas de sinalização que contribuem para o seu comportamento maligno foram identificados, permitindo que a maioria destas moléculas e vias tenham sido alvo de terapêuticas que procuram contrariar os seus papéis fisiopatológicos no CHC. Ainda assim continuam os esforços para encontrar novas moléculas e vias e novos fármacos continuam a ser testados em ensaios pré-clínicos. Os esforços na tentativa de encontrar fármacos alternativos ao sorafenib continuarão e espera-se que, brevemente, esses esforços sejam recompensados.

Os conhecimentos mais recentes sobre o papel da Imunoterapia, Nanomedicina, Epigenética e Microambiente Tumoral também permitiram encontrar novos alvos terapêuticos para serem explorados no decorrer dos próximos anos e, quem sabe, encontrar nestas áreas terapêuticas alternativas às atualmente existentes e, até agora, mais ativamente exploradas.

A heterogeneidade desse cancro torna impossível a criação de um único e unificado perfil de expressão genética. Contudo, os avanços na biologia molecular e genómica têm permitido voltar a atenção da pesquisa para a identificação de padrões distintos de expressão genética que podem ser usados para subcategorizar o CHC em grupos que apresentem prognóstico e sensibilidade semelhante ao tratamento. Embora nenhum dos sistemas de classificação propostos tenha obtido aceitação generalizada, esta continua a ser uma área importante de pesquisa.

As pesquisas futuras devem-se ainda concentrar na identificação e validação de combinações de terapêuticas direcionadas e quimioterapia citotóxica que produzam efeitos aditivos ou sinérgicos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Brito AF, Abrantes AM, Tralhão JG, Botelho MF. Targeting hepatocellular carcinoma: What did we discover so far? *Oncol Rev.* 2016;10(2):47–53.
2. Marks EI, Yee NS. Molecular Genetics and Targeted Therapy in Hepatocellular Carcinoma. *Curr Cancer Drug Targets.* 2016;16(1):53–70.
3. Lee SJ, Lim HY. Hepatocellular carcinoma treatment: a comparative review of emerging growth factor receptor antagonists. *Expert Opin Emerg Drugs.* Taylor & Francis; 2017;22(2):191–200.
4. Dutta R, Mahato RI. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy. *Pharmacol Ther.* 2017;173:106–17.
5. Woo HY, Yoo SY, Heo J. New chemical treatment options in second-line hepatocellular carcinoma: what to do when sorafenib fails? *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(1):35–44.
6. Grandhi MS, Kim AK, Ronnekleiv-Kelly SM, Kamel IR, Ghasebeh MA, Pawlik TM. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment. *Surg Oncol.* 2016;25(2):74–85.
7. Dufour JF, Greten TF, Raymond E, Roskams T, De T, Ducreux M, et al. EASL – EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2012;56(4):908–43.
8. El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular Carcinoma: Epidemiology and Molecular Carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007;132(7):2557–76.
9. Wallace MC, Preen D, Jeffrey GP, Adams LA. The evolving epidemiology of hepatocellular carcinoma: A global perspective. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;9(6):765–79.
10. Forner A, Reig M, Varela M, Burrel M, Feliu J, Briceño J, et al. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. Update consensus document from the AEEH, SEOM, SERAM, SERVEI and SETH. *Med Clin (Barc).* 2016;146(11):511.e1-511.e22.
11. World Health Organization. CANCER TODAY [Internet]. Estimated age-standardized rates (World) of incident cases, both sexes, liver cancer, worldwide in 2012. 2017. Available from: [http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?mode=population&mode\\_population=continents&population=900&sex=0&cancer](http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?mode=population&mode_population=continents&population=900&sex=0&cancer)

=7&type=0&statistic=0&prevalence=0&color\_palette=default&projection=natural-earth

12. Pascual S, Herrera I, Irurzun J. New advances in hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol.* 2016;8(9):421–38.
13. Gomes MA, Privolli DG, Tralhão JG, Botelho MF. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies. *Rev Assoc Med Bras.* 2013;59(5):514–24.
14. Purohit V, Rapaka R, Kwon OS, Song BJ. Roles of alcohol and tobacco exposure in the development of hepatocellular carcinoma. *Life Sci.* 2013;92(1):3–9.
15. Shariff MI, Cox IJ, Gomaa AI, Khan SA, Gedroyc W, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis and therapeutics. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009;3(4):353–67.
16. Maheshwari S, Sarraj A, Kramer J, El-Serag HB. Oral contraception and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2007;47(4):506–13.
17. M.Hassan M, O.Kaseb A. Epidemiology and Pathogenesis of Hepatocellular Carcinoma. In: M.McMasters K, Vanthery J-N, editors. *Hepatocellular Carcinoma: Targeted Therapy and Multidisciplinary Care.* Springer; 2010. p. 1–20.
18. L.White D, Kanwal F, Jiao L, B.El-Serag H. Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. In: I.Carr B, Apex L, editors. *Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis and Treatment.* 3rd ed. Springer; 2016. p. 3–24.
19. Bosetti C, Turati F, La Vecchia C. Hepatocellular carcinoma epidemiology. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2014;28(5):753–70.
20. Chen CJ, Yu MW, Liaw YF. Epidemiological characteristics and risk factors of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 1997;12(9–10):S294-308.
21. Yanaga K, Okudaira S, Kanematsu T, and J. Wallis Marsh. Hepatic Resection for Hepatocellular Carcinoma. In: I.Carr B, editor. *Hepatocellular Cancer Diagnosis and Treatment.* Humana Press Inc.; 2005. p. 185–98.
22. Wörns MA, Galle PR. Future perspectives in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis.* 2010;42(3):302–9.
23. Tsai H-H, Lai H, Chen Y, Li C, Huang H-S, Liu H-S, et al. Metformin promotes apoptosis in hepatocellular carcinoma through the CEBPD-induced autophagy pathway.

- Oncotarget. 2017;8(8):13832–45.
24. Choi J, Roberts LR. Statins and metformin for chemoprevention of hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis.* 2016;8(2):48–52.
  25. Nkontchou G, Aout M, Mahmoudi A, Roulot D, Bourcier V, Grando-Lemaire V, et al. Effect of long-term propranolol treatment on hepatocellular carcinoma incidence in patients with HCV-associated cirrhosis. *Cancer Prev Res.* 2012;5(8):1007–14.
  26. Yanaga K, Okudaira S, Kanematsu T, Marsh and JW. Clinical Features and Diagnostic Evaluation of Hepatocellular Carcinoma Symptoms. In: I.Carr B, editor. *Hepatocellular Cancer Diagnosis and Treatment.* Humana Press Inc.; 2005. p. 59–75.
  27. Chih-Yin Sun V, Sarna L. Symptom Management in Hepatocellular Carcinoma. *Clin J Oncol Nurs.* 2008;12(5):759–66.
  28. Bruix J, Reig M, Sherman M. Evidence-Based Diagnosis, Staging, and Treatment of Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology.* 2016;150(4):836–53.
  29. American College of Radiology. Liver Imaging Reporting and Data System [Internet]. 2017. Available from: <https://www.acr.org/quality-safety/resources/LIRADS>
  30. Goma Al, Khan SA, Leen ELS, Waked I, Taylor-Robinson SD. Diagnosis of Hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2009;15(11):1301–14.
  31. Chaiteerakij R, Addissie BD, Roberts LR. Update on Biomarkers of Hepatocellular Carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(2):237–45.
  32. Cartier V, Aubé C. Diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Diagn Interv Imaging.* 2014;95(7–8):709–19.
  33. Cassinotto C, Aubé C, Dohan A. Diagnosis of hepatocellular carcinoma: An update on international guidelines. *Diagn Interv Imaging.* Elsevier Masson SAS; 2017;98(5):379–91.
  34. Llovet JM. Updated treatment approach to hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 2005;40(3):225–35.
  35. Weledji EP, Enow Orock G, Ngowe MN, Nsagha DS. How grim is hepatocellular carcinoma? *Ann Med Surg.* 2014;3(3):71–6.
  36. Subramaniam S, Kelley RK, Venook AP. A review of hepatocellular carcinoma ( HCC ) staging systems. *Chinese Clin Oncol.* 2013;2(4):1–12.



37. Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol.* 2008;48(1):20–37.
38. El-Serag HB, Marrero JA, Rudolph L, Reddy KR. Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology.* 2008;134(6):1752–63.
39. Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut.* 2014;63(5):844–55.
40. Pomfret EA, Washburn K, Wald C, Nalesnik MA, Douglas D, Russo M, et al. Report of a National Conference on Liver Allocation in Patients with Hepatocellular Carcinoma in the United States. *Liver Transplant.* 2007;13(3):465–6.
41. Lau WY, Lau SHY. The current role of radiofrequency ablation in the management of hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Ann Surg.* 2009;249(1):20–5.
42. Zimmerman A, Grand D, Charpentier KP. Irreversible electroporation of hepatocellular carcinoma: patient selection and perspectives. *J Hepatocell Carcinoma.* 2017;13(4):49–58.
43. Kapoor V, Thaete FL. Percutaneous Ethanol and Acetic Acid Ablation of Hepatocellular Carcinoma. In: I.Carr B, editor. *Hepatocellular Cancer Diagnosis and Treatment.* Humana Press Inc.; 2005. p. 153–69.
44. Goodman M, Geller DA. Radiofrequency Ablation of Hepatocellular Carcinoma. In: I.Carr B, editor. *Hepatocellular Cancer Diagnosis and Treatment.* Humana Press Inc.; 2005. p. 171–83.
45. Sartori S, Di Vece F, Ermili F, Tombesi P. Laser ablation of liver tumors: An ancillary technique, or an alternative to radiofrequency and microwave? *World J Radiol.* 2017;9(3):91–6.
46. Potretzke TA, Ziemlewicz TJ, Hinshaw JL, Lubner MG, Wells SA, Brace CL, et al. Microwave versus Radiofrequency Ablation Treatment for Hepatocellular Carcinoma: A Comparison of Efficacy at a Single Center. *J Vasc Interv Radiol.* 2016;27(5):631–8.
47. Sartori S, Tombesi P, Di Vece F. Radiofrequency, microwave, and laser ablation of liver tumors: time to move toward a tailored ablation technique? *Hepatoma Res.* 2015;1(2):52–7.
48. Ferrari FS, Megliola A, Scorzelli A, Stella A, Vigni F, Drudi FM, et al. Treatment of small HCC through radiofrequency ablation and laser ablation. Comparison of techniques and

- long-term results. *Radiol Med*. 2007;112(3):377–93.
49. Hu K-Q. Advances in Clinical Application of Cryoablation Therapy for Hepatocellular Carcinoma and Metastatic Liver Tumor. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(10):830–836.
  50. Dhir M, Melin AA, Douaiher J, Lin C, Zhen WK, Hussain SM, et al. A Review and Update of Treatment Options and Controversies in the Management of Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg*. 2016;263(6):1112–25.
  51. Cho YK, Kim JK, Kim WT, Chung JW. Hepatic resection versus radiofrequency ablation for very early stage hepatocellular carcinoma: A markov model analysis. *Hepatology*. 2010;51(4):1284–90.
  52. Cucchetti A, Piscaglia F, Cescon M, Colecchia A, Ercolani G, Bolondi L, et al. Cost-effectiveness of hepatic resection versus percutaneous radiofrequency ablation for early hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2013;59(2):300–7.
  53. Lencioni R, Petruzzi P, Crocetti L. Chemoembolization of Hepatocellular Carcinoma. *Handb Interv Radiol Proced*. 2014;30(1):263–7.
  54. Forner A, Hessheimer AJ, Isabel Real M, Bruix J. Treatment of hepatocellular carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2006;60(2):89–98.
  55. Burrel M, Reig M, Forner A, Barrufet M, Lope CR De, Tremosini S, et al. Survival of patients with hepatocellular carcinoma treated by transarterial chemoembolisation (TACE) using Drug Eluting Beads. Implications for clinical practice and trial design. *J Hepatol*. 2012;56(6):1330–5.
  56. Malagari K, Pomoni M, Moschouris H, Bouma E. Chemoembolization With Doxorubicin-Eluting Beads for Unresectable Hepatocellular Carcinoma : Five-Year Survival Analysis. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2012;35(5):1119–28.
  57. Sangro B, Iñarrairaegui M, Bilbao JI. Radioembolization for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56(2):464–73.
  58. U.S. National Institutes of Health. *ClinicalTrials.gov* [Internet]. 2017. Available from: <https://clinicaltrials.gov/>
  59. Eggert T, Greten TF. Current Standard and Future Perspectives in Non-Surgical Therapy for Hepatocellular Carcinoma. *Digestion*. 2017;96(1):1–4.
  60. Birgani MT, Carloni V. Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular

- carcinoma progression and therapy. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):7–10.
61. Deng G-L, Zeng S, Shen H. Chemotherapy and target therapy for hepatocellular carcinoma: New advances and challenges. *World J Hepatol.* 2015;7(5):787.
  62. Dhanasekaran R, Bando S, Roberts L. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma and impact of therapeutic advances. *F1000Research.* 2016;5:F1000 Faculty Rev-879.
  63. Swamy SG, Kameshwar VH, Shubha PB, Looi CY, Shanmugam MK, Arfuso F, et al. Targeting multiple oncogenic pathways for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Target Oncol.* 2017;12(1):1–10.
  64. Keating G, Santoro A. Sorafenib: a review of its use in advanced hepatocellular carcinoma. *Drugs.* 2009;69(2):223–40.
  65. Llovet JM, Hernandez-Gea V. Hepatocellular carcinoma: Reasons for phase III failure and novel perspectives on trial design. *Clin Cancer Res.* 2014;20(8):2072–9.
  66. Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figer A, et al. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 2006;24(26):4293–300.
  67. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc J, et al. Sorafenib in Advanced Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med.* 2008;359(4):378–90.
  68. Cheng A, Kang Y, Chen Z, Tsao C, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* 2009;10(1):25–34.
  69. Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, Chau GY, Yang J, Kudo M, et al. Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): A phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(13):1344–54.
  70. Souza AR de, Reing M, Bruix J. Systemic treatment for advanced hepatocellular carcinoma: the search of new agents to join sorafenib in the effective therapeutic armamentarium. *Expert Opin Pharmacother.* 2016;17(14):1923–36.
  71. Trojan J, Waidmann O. Role of regorafenib as second-line therapy and landscape of investigational treatment options in advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatocell carcinoma.* 2016;3:31–6.

72. Cheng A-L, Finn RS, Qin S, Han K-H, Ikeda K, Piscaglia F, et al. Phase III trial of lenvatinib (LEN) vs sorafenib (SOR) in first-line treatment of patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (uHCC). *J Clin Oncol*. 2017;35(15\_suppl):4001–4001.
73. Gomaa A, Waked I. Management of advanced hepatocellular carcinoma: review of current and potential therapies. *Hepatoma Res*. 2017;3(6):112–22.
74. Brizzi MP, Pignataro D, Tampellini M, Scagliotti GV, Di Maio M. Systemic treatment of hepatocellular carcinoma: why so many failures in the development of new drugs? *Expert Rev Anticancer Ther*. 2016;16(10):1053–62.
75. Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;389(10064):56–66.
76. Cidon EU. Systemic treatment of hepatocellular carcinoma : Past , present and future. *World J Hepatol*. 2017;9(18):797–807.
77. Qin S. Apatinib in Chinese patients with advanced hepatocellular carcinoma: A phase II randomized, open-label trial. *J Clin Oncol*. 2014;32:5s(15\_suppl):4019–4019.
78. Zhu AX, Park JO, Ryoo B, Yen C, Poon R, Pastorelli D, et al. Ramucirumab versus placebo as second-line treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma following first-line therapy with sorafenib (REACH): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):859–70.
79. Santoro A, Rimassa L, Borbath I, Daniele B, Salvagni S, Van Laethem JL, et al. Tivantinib for second-line treatment of advanced hepatocellular carcinoma: A randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2013;14(1):55–63.
80. Silas Inman. OncLive [Internet]. Tivantinib Fails Phase III HCC Test. Available from: <http://www.onclive.com/web-exclusives/tivantinib-fails-phase-iii-hcc-test>
81. Connell LC, Harding JJ, Abou-Alfa GK. Advanced Hepatocellular Cancer: the Current State of Future Research. *Curr Treat Options Oncol*. Current Treatment Options in Oncology; 2016;17(8):43.
82. Montella L, Palmieri G, Addeo R, Del Prete S. Hepatocellular carcinoma: Will novel targeted drugs really impact the next future? *World J Gastroenterol*. 2016;22(27):6114–

- 26.
83. Kelley RK, Verslype C, Cohn AL, Yang T-S, Su W-C, Burris H, et al. Cabozantinib in hepatocellular carcinoma: results of a phase 2 placebo-controlled randomized discontinuation study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017;28(3):528–34.
  84. Tai WM, Yong WP, Lim C, Low LS, Tham CK, Koh TS, et al. A phase Ib study of selumetinib (AZD6244, ARRY-142886) in combination with sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *Ann Oncol*. 2016;27(12):2210–5.
  85. Gong X, Qin S. Progress in systemic therapy of advanced hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2016;22(29):6582.
  86. Izzo F, Marra P, Beneduce G, Castello G, Vallone P, De Rosa V, et al. Pegylated arginine deiminase treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: Results from phase I/II studies. *J Clin Oncol*. 2004;22(10):1815–22.
  87. Samonakis DN, Kouroumalis EA. Systemic treatment for hepatocellular carcinoma: Still unmet expectations. *World J Hepatol*. 2017;9(2):80–90.
  88. Chan SL, Chan AW, Yeo W. Novel therapeutic targets and predictive markers for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Ther Targets*. 2015;19(7):973–83.
  89. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): An open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet*. 2017;389(10088):2492–502.
  90. Sangro B, Gomez-Martin C, De La Mata M, I?arrairaegui M, Garralda E, Barrera P, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2013;59(1):81–8.
  91. Greten T, Duffy A, Rusher O, Kerkar S, Kleiner D, Figg W, et al. Tremelimumab-a monoclonal antibody against CTLA-4-in combination with local tumor ablation (TACE or RFA) in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). *Eur J Cancer*. 2015;51(3):S419.
  92. Buonaguro L, Consortium H. Developments in cancer vaccines for hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(1):93–9.
  93. Buonaguro FM, Buonaguro L. Cancer vaccines for hepatocellular carcinoma : future directions. *Immunotherapy*. 2016;8(4):391–3.

94. INT, TUEU, UNINS, INSERM, IMM, CURE, BHAM, NAVAR U. Cancer Vaccine development for Hepatocellular Carcinoma (HEPAVAC) [Internet]. 2017 [cited 2017 Aug 25]. Available from: <http://www.hepavac.eu/>
95. Yoo SY, Badrinath N, Woo HY, Heo J. Oncolytic virus-based immunotherapies for hepatocellular carcinoma. *Mediators Inflamm*. 2017;2017(Article ID 5198798):12 pages.
96. Chen K-W, Ou T-M, Hsu C-W, Horng C-T, Lee C-C, Tsai Y-Y, et al. Current systemic treatment of hepatocellular carcinoma: A review of the literature. *World J Hepatol*. 2015;7(10):1412.
97. Jebar AH, Errington-Mais F, Vile RG, Selby PJ, Melcher AA, Griffin S. Progress in clinical oncolytic virus-based therapy for hepatocellular carcinoma. *J Gen Virol*. 2015;96(7):1533–50.
98. Lin WH, Yeh SH, Yang WJ, Yeh KH, Fujiwara T, Nii A, et al. Telomerase-specific oncolytic adenoviral therapy for orthotopic hepatocellular carcinoma in HBx transgenic mice. *Int J Cancer*. 2013;132(6):1451–62.
99. Thillai K, Ross P, Sarker D. Molecularly targeted therapy for advanced hepatocellular carcinoma -a drug development crisis? *World J Gastrointest Oncol* Febr. 2016;15(82):173–85.
100. Qin S, Bai Y, Lim HY, Thongprasert S, Chao Y, Fan J, et al. Randomized, multicenter, open-label study of oxaliplatin plus fluorouracil/leucovorin versus doxorubicin as palliative chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma from Asia. *J Clin Oncol*. 2013;31(28):3501–8.
101. Zaanan A, Williet N, Hebbar M, Dabakuyo TS, Fartoux L, Mansourbakht T, et al. Gemcitabine plus oxaliplatin in advanced hepatocellular carcinoma: A large multicenter AGEO study. *J Hepatol. European Association for the Study of the Liver*; 2013;58(1):81–8.
102. Louafi S, Boige V, Ducreux M, Bonyhay L, Mansourbakht T, De Baere T, et al. Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): Results of a phase II study. *Cancer*. 2007;109(7):1384–90.
103. Patrikidou A, Sinapi I, Regnault H, Fayard F, Bouattour M, Fartoux L, et al. Gemcitabine and oxaliplatin chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma after failure of anti-angiogenic therapies. *Invest New Drugs*. 2014;32(5):1028–35.

104. Mir O, Coriat R, Boudou-Rouquette P, Ropert S, Durand JP, Cessot A, et al. Gemcitabine and oxaliplatin as second-line treatment in patients with hepatocellular carcinoma pre-treated with sorafenib. *Med Oncol.* 2012;29(4):2793–9.
105. Liu Y, Yue H, Xu S, Wang F, Ma N, Li K, et al. First-line gemcitabine and oxaliplatin (GEMOX) plus sorafenib, followed by sorafenib as maintenance therapy, for patients with advanced hepatocellular carcinoma: a preliminary study. *Int J Clin Oncol.* 2015;20(5):952–9.
106. Badrealam KF, Owais M. Nano-Sized Drug Delivery Systems : Development and Implication in Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Dig Dis.* 2015;33(5):675–82.
107. Mohamed NK, Hamad MA, Hafez MZE, Wooley KL, Elsabahy M. Nanomedicine in management of hepatocellular carcinoma: Challenges and opportunities. *Int J Cancer.* 2017;140(7):1475–84.
108. Ji X, Ruan X, Chen H, Chen G, Li S, Yu B. Somatostatin analogues in advanced hepatocellular carcinoma: An updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Med Sci Monit.* 2011;17(8):RA169-RA176.
109. Gnoni A, Santini D, Scartozzi M, Russo A, Licchetta A, Palmieri V, et al. Hepatocellular carcinoma treatment over sorafenib: epigenetics, microRNAs and microenvironment. Is there a light at the end of the tunnel? *Expert Opin Ther Targets.* 2015;19(12):1623–35.
110. Wahid B, Ali A, Rafique S, Idrees M. New Insights into the Epigenetics of Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int.* 2017;2017(Article ID 1609575):16 pages.
111. Nakamura K, Aizawa K, Nakabayashi K, Kato N, Yamauchi J, Hata K, et al. DNA Methyltransferase Inhibitor Zebularine Inhibits Human Hepatic Carcinoma Cells Proliferation and Induces Apoptosis. *PLoS One.* 2013;8(1):219–28.
112. Yeo W, Chung HC, Chan SL, Wang LZ, Lim R, Picus J, et al. Epigenetic therapy using belinostat for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: A multicenter phase I/II study with biomarker and pharmacokinetic analysis of tumors from patients in the mayo phase II consortium and the cancer therapeutics res. *J Clin Oncol.* 2012;30(27):3361–7.
113. Zheng Y, Chen H, Yin M, Ye X, Zhou X, Yin L, et al. MiR-376a and Histone Deacetylation Form a Regulatory Circuitry in Hepatocellular Carcinoma. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(2):729–39.

114. Xie H, Zhang Q, Zhou H, Zhou J, Zhang J, Jiang Y, et al. microRNA-889 is downregulated by histone deacetylase inhibitors and confers resistance to natural killer cytotoxicity in hepatocellular carcinoma cells. *Cytotechnology*. 2017;1–9.
115. Bao H, Su H. Long Noncoding RNAs Act as Novel Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma : Progress and Prospects. *Biomed Res Int*. 2017;2017(Article ID 6049480):8 pages.
116. Yang Y, Chen L, Gu J, Zhang H, Yuan J, Lian Q, et al. Recurrently deregulated lncRNAs in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun*. 2017;8:14421.
117. Sun J, Bie B, Zhang S, Yang J, Li Z. Long non-coding RNAs: Critical players in hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Sci*. 2014;15(11):20434–48.
118. Santangelo L, Battistelli C, Montaldo C, Citarella F, Strippoli R, Cicchini C. Functional Roles and Therapeutic Applications of Exosomes in Hepatocellular Carcinoma. *Biomed Res Int*. 2017;2017(Article ID 2931813):8 pages.
119. Moris D, Beal EW, Chakedis J, Burkhart RA, Schmidt C, Dillhoff M, et al. Role of exosomes in treatment of hepatocellular carcinoma. *Surg Oncol*. Elsevier Ltd; 2017;26(3):219–28.
120. Wu Z, Zeng Q, Cao K, Sun Y. Exosomes: small vesicles with big roles in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*. 2016;7(37):60687–97.
121. Wu S Di, Ma YS, Fang Y, Liu LL, Fu D, Shen XZ. Role of the microenvironment in hepatocellular carcinoma development and progression. *Cancer Treat Rev*. 2012;38(3):218–25.
122. Yilmaz Y, Erdal E, Atabey N, I.Carr B. Platelets, Microenvironment and Hepatocellular Carcinoma. *Biochem Anal Biochem*. 2016;5(2):1–8.
123. Leonardi GC, Candido S, Cervello M, Nicolosi D, Raiti F, Travali S, et al. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma (Review). *Int J Oncol*. 2012;40(6):1733–47.
124. Wiesner RH, Freeman RB, Mulligan DC. Liver transplantation for hepatocellular cancer: The impact of the MELD allocation policy. *Gastroenterology*. 2004;127(1):S261–7.
125. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, et al. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology*. 2003;124(1):91–6.



126. Soriano A, Varona A, Gianchandani R, Moneva ME, Arranz J, Gonzalez A, et al. Selection of patients with hepatocellular carcinoma for liver transplantation: Past and future. *World J Hepatol.* 2016;8(1):58–68.

# ANEXOS

**ANEXO A** - Sintomas do CHC e respetivos tratamentos. Adaptado de (27).

	<b>Tratamento</b>
<b>Dor abdominal</b>	Analgésicos opioides (moderada a severa) Anti-inflamatórios não esteroides
<b>Fadiga</b>	Tratamento de fatores que podem estar a contribuir, se indicado: <ol style="list-style-type: none"> <li>2. Anemia (eritropoietina)</li> <li>3. Depressão (antidepressivos)</li> <li>4. Distúrbios do sono</li> <li>5. Défices nutricionais</li> <li>6. Decréscimo de energia (psicostimulantes)</li> </ol>
<b>Anorexia/caquexia</b>	Tratamento de fatores que podem estar a contribuir, se indicado: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Náuseas (antieméticos)</li> <li>• Obstipação (laxantes)</li> <li>• Depressão (antidepressivos)</li> </ul> Farmacológico: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acetato de megestrol</li> </ul> Outros: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nutrição artificial</li> <li>• Aconselhamento diatéutico</li> </ul>
<b>Ascite</b>	Farmacológico: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diuréticos</li> </ul> Procedimento: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Paracentese</li> </ul>
<b>Icterícia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Drenagem percutânea</li> </ul> Se secundária a obstrução biliar: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Stent</i> biliar</li> <li>• Colestiramina</li> <li>• Medidas de autocuidado (emolientes, sabões sem perfume)</li> </ul>

**ANEXO B** - Cálculo do Child-Pugh e respectivas categorias. Adaptado de (35).

Variável	Score		
	1	2	3
<b>Bilirrubina <math>\mu\text{mol/l}</math></b>	< 34	24 - 51	> 51
<b>Ascite</b>	ausente	ligeira	Moderada
<b>Internacional normalized ratio</b>	< 1,3	1,3 - 1,5	> 1,5
<b>Albumina g/l</b>	> 35	28 - 35	< 28
<b>Encefalopatia</b>	grau 0	grau 1 - 2	grau 3 - 4
Classificação Child-Pugh			
	Score	Sobrevivência a um ano (%)	
<b>bem compensado (A)</b>	5 - 6	100	
<b>compromisso funcional significativo (B)</b>	7 - 9	80	
<b>descompensado (C)</b>	10 - 15	45	

**ANEXO C** - Categorias do *performance status*. Adaptado de (29).

Grau	<b>Performance Status</b>
<b>0</b>	Atividade plena, capaz de desempenhar todas as funções pré-doença sem restrições
<b>1</b>	Restringido em atividade física extenuante, mas capaz de realizar trabalhos de natureza leve ou sedentária, por exemplo, trabalho de escritório
<b>2</b>	Capaz de todos os cuidados pessoais, mas incapaz de realizar qualquer atividade de trabalho
<b>3</b>	Capaz de apenas autocuidado limitado; confinado à cama ou cadeira mais de 50% das horas de vigília
<b>4</b>	Completamente desativado; não pode realizar qualquer autocuidado; totalmente confinado à cama ou cadeira
<b>5</b>	Morte

**ANEXO D** - Equação MELD e equação CHC-MELD. Adaptado de (124)(125)(126).

$$MELD = 9,57 \log_e \text{ creatinina } \left( \frac{mg}{dl} \right) + 3,78 \log_e \text{ bilirrubina } \left( \frac{mg}{dl} \right) + 11,20 \times \log_e INR + 6,43$$

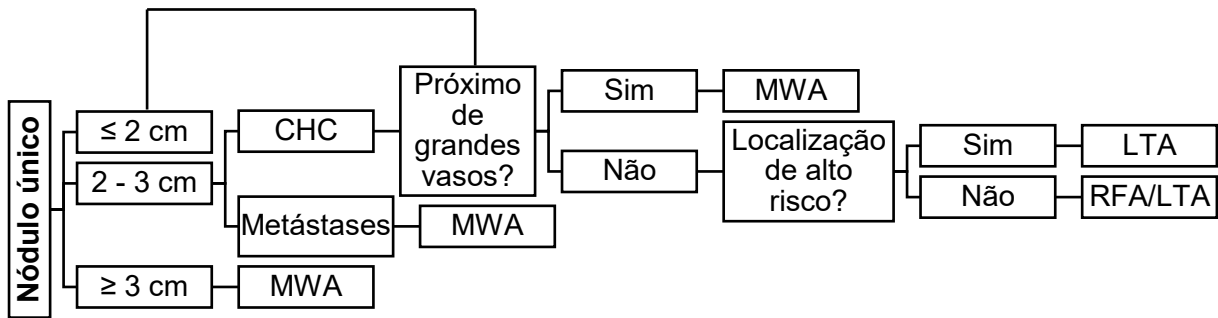
$$CHC - MELD = \frac{1,27}{MELD} - \frac{0,51}{\log AFP} + 4,59$$

Score MELD	% de mortalidade
> 40	81
30-39	60
20-29	23.5
10-19	7.7
< 9	2.9

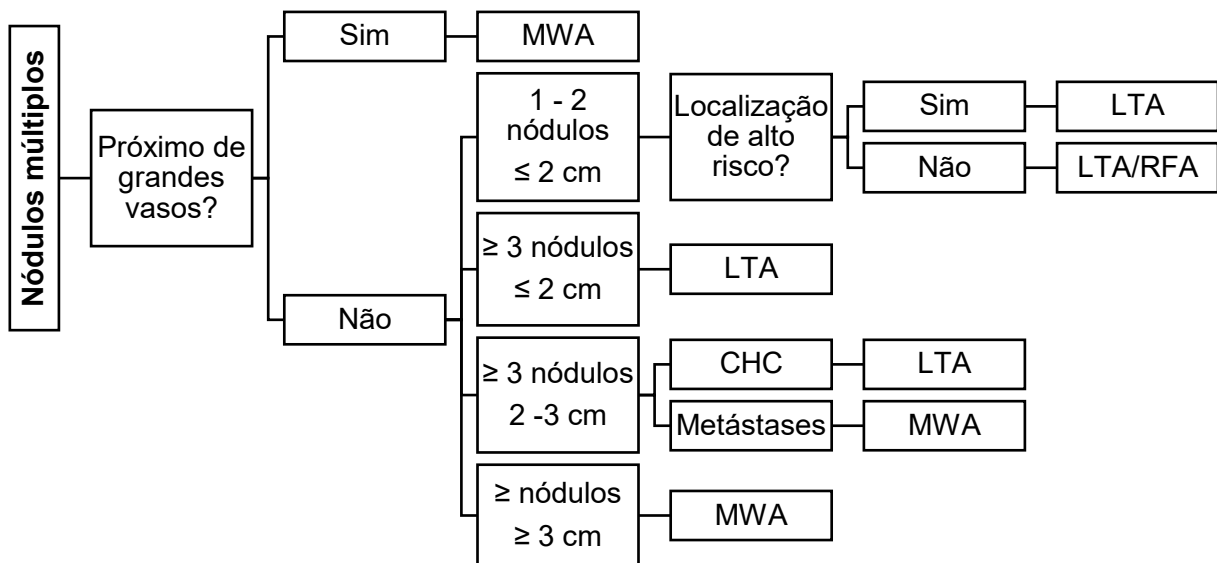
**ANEXO E** - Critérios de seleção no transplante hepático para tratar o CHC. Adaptado de (39).

Critério	Definição	Características
<b>Milão</b>	Lesão única ≤ 5 cm Até 3 lesões ≤ 3 cm Sem invasão macrovascular	Referência para a seleção de pacientes submetidos a transplante hepático pela maioria das <i>guidelines</i> internacionais
<b>UCSF</b>	Lesão única ≤ 6,5 cm Até três lesões ≤ 4,5 cm Somatório do diâmetro do tumor ≤ 8 cm	Sobreposição significativa com os critérios de Milão permitindo, na melhor hipótese, a expansão dos candidatos em 5%.
<b>Up-to-7</b>	Soma do tamanho (cm) e do número de nódulos ≤ 7 Sem invasão microvascular	Abordagem flexível permitindo pacientes com diferentes combinações de tamanho e número.

**ANEXO F** - Algoritmo proposto para a ablação térmica de nódulo único. Adaptado de (47).



**ANEXO G** - Algoritmo proposto para a ablação térmica de nódulos múltiplos. Adaptado de (47).



**ANEXO H – Recetores dos fatores de crescimento e mediadores da angiogénese.**

<b>EGFR</b>	Promove proliferação celular, angiogénese e evasão da apoptose (2).
<b>IGFR</b>	Promove a proliferação, motilidade e sobrevivência de hepatócitos malignos através de uma rede complexa de vias de sinalização (2).
<b>VEGFR</b>	Parece ser o pilar da angiogénese e metastização (7). Estimula várias vias de sinalização intracelular, principalmente a via RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK e PI3K/AKT/mTOR (2).
<b>PDGFR</b>	Facilita a neovascularização (2).
<b>FGFR</b>	Contribui para a angiogénese (2).
<b>MET</b>	Através da ativação das vias PI3K/AKT/mTOR e RAS/RAF/MEK/MAPK/ERK, este recetor promove a angiogénese, a proliferação celular e facilita a invasão do tecido adjacente (2).