



Revista da ASSOCIAÇÃO MÉDICA BRASILEIRA

www.ramb.org.br



Artigo de revisão

Carcinoma hepatocelular: epidemiologia, biologia, diagnóstico e terapias[☆]

Marcos António Gomes^a, Denise Gonçalves Priolli^b,
José Guilherme Tralhão^{c,d} e Maria Filomena Botelho^{a,d,*}

^a Serviço de Biofísica, Instituto Biomédico de Investigação da Luz e Imagem, Coimbra, Portugal

^b Faculdade de Medicina, Universidade de São Francisco, Bragança Paulista, SP, Brasil

^c Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia, Cirurgia 3, Hospitais Universitários de Coimbra, Coimbra, Portugal

^d Centro de Investigação em Meio Ambiente, Genética e Oncobiologia, Coimbra, Portugal

INFORMAÇÕES SOBRE O ARTIGO

Histórico do artigo:

Recebido em 18 de junho de 2012

Aceito em 23 de março de 2013

On-line em 14 de setembro de 2013

Palavras-chave:

Carcinoma hepatocelular

Terapia

Diagnóstico

Hepatite B

Hepatite C

Neoplasias do fígado

Keywords:

Hepatocellular carcinoma

Therapy

Diagnosis

Hepatitis B

R E S U M O

O carcinoma hepatocelular é o quinto tipo de câncer mais comum em homens e o sétimo em mulheres, diagnosticado todos os anos em mais de meio milhão de pessoas por todo o mundo. Em Portugal, sua incidência e mortalidade são baixas, comparativamente a outros tipos de cânceres. No Brasil, no município de São Paulo, segundo dados divulgados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a incidência do câncer primário de fígado foi de 2,07/100.000 habitantes. Apesar de a grande maioria dos casos (85%) afetar principalmente países em desenvolvimento, sobretudo onde a infecção pelo vírus de hepatite B (HVB) é endêmica, a incidência em países desenvolvidos é cada vez maior. Esta patologia está associada a inúmeros fatores de risco não só ambientais, mas também genéticos, os quais, cada vez mais, despertam interesse na procura pelo melhor conhecimento da patologia, muito associada ainda a diagnósticos tardios e maus prognósticos. Dos tratamentos disponíveis, poucos doentes são aqueles que usufruem das suas escassas vantagens, estimulando cada vez mais a pesquisa de novas formas de terapêutica. Esta revisão pretende, de forma breve mas completa, identificar fatores de risco, vias moleculares e bioquímicas, fisiopatologia, diagnóstico e possíveis abordagens clínicas do carcinoma hepatocelular.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies

A B S T R A C T

Hepatocellular carcinoma is the fifth most common cancer in men and the seventh in women, as is diagnosed in more than half a million individuals worldwide every year. In Portugal, its incidence and mortality rates are low compared to other types of cancers. In Brazil, in the city of São Paulo, according to data released by the Brazilian Unified Health System (Sistema Único de Saúde - SUS), the incidence of primary liver cancer was 2.07/100,000 inhabitants. Although the vast majority of cases (85%) mainly affect developing

[☆] Trabalho realizado no Instituto Biomédico de Investigação da Luz e Imagem, e no Centro de Investigação em Meio Ambiente, Genética e Oncobiologia, Coimbra, Portugal.

* Autor para correspondência.

E-mail: filomena@ibili.uc.pt (M.F. Botelho).

0104-4230/\$ – see front matter © 2013 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ramb.2013.03.005>

Hepatitis C
Liver neoplasms

countries, especially where infection by hepatitis B virus (HBV) is endemic, the incidence in developed countries is increasing. This pathology is associated with several risk factors, not only environmental but also genetic, generating an increasing interest in attaining a better understanding of this disease, which is still associated with very late diagnosis and poor prognosis. Of the available treatments, few patients benefit from their scanty advantages, increasingly stimulating research of new forms of treatment against this disease. This review aimed to briefly but fully identify risk factors, molecular and biochemical pathways, pathophysiology, diagnosis, and possible clinical approaches of hepatocellular carcinoma.

© 2013 Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

Garcinoma hepatocelular

O hepatocarcinoma ou carcinoma hepatocelular (CHC) é o câncer primário do fígado, ou seja, o câncer derivado das principais células do fígado – os hepatócitos. Como os demais cânceres, surge quando há mutação nos genes de uma célula que a faz se multiplicar desordenadamente. Essa mutação pode ser causada por agentes externos, como o vírus da hepatite, ou pelo excesso de multiplicações das células, como a regeneração crônica nas hepatites crônicas, o que aumenta o risco de surgimento de erros na duplicação dos genes. O CHC tem por característica ser muito agressivo, com altíssimo índice de óbito após o início dos sintomas, mais comumente icterícia e/ou ascite. Se for detectado apenas na fase sintomática, o paciente sem tratamento tem expectativa de vida média inferior a um mês, sendo que mesmo nessa fase os tratamentos disponíveis são limitados e pouco eficazes.

O CHC constitui 70-85% das neoplasias hepáticas primárias, é o tumor primário do fígado mais frequentemente observado e se constitui em um dos tumores mais comuns no mundo. Por outro lado, o colangiocarcinoma, que tem origem nos colangiócitos, células epiteliais que revestem os canais biliares, constituem 10-15% das neoplasias hepáticas primárias. Os restantes 5% são tumores incomuns, como o angiossarcoma primário hepático, o hemangioendotelioma epitelióide hepático, o hemangiopericitoma, ou o linfoma hepático primário.

Anualmente, o CHC é diagnosticado em mais de meio milhão de pessoas em todo o mundo. Os últimos dados estimados revelam 748.300 novos casos de CHC e 695.900 mortos consequentes a esta doença. Na Europa, foram diagnosticados 60.200 novos casos no ano de 2008, tornando este tipo de câncer o quinto mais comum em homens e o sétimo em mulheres (fig. 1).^{1,2}

Em Portugal, a taxa de incidência desta patologia é baixa, comparativamente com outros tipos de câncer, de acordo com dados do GLOBOCAN 2008, representando 1,1% de todos os tipos de cânceres. Quanto à mortalidade associada a este tipo de patologia, é responsável por 2% de todas as mortes relacionadas com câncer.³ Só no ano de 2011, segundo o Instituto Nacional de Estatística de Portugal, foram registados 979 óbitos por tumores malignos do fígado e das vias biliares intra-hepáticas, 84 casos a mais que no ano anterior.⁴

A Organização Mundial da Saúde (OMS) aponta o CHC como a segunda causa de óbito por câncer na espécie humana, devido à sua alta incidência no Oriente, em áreas do continente africano e do Pacífico oeste. No Brasil, a incidência de CHC é baixa, sendo mais alta em estados como o Espírito Santo

e a Bahia. Em São Paulo, o CHC é o quinto em frequência entre os tumores do aparelho digestivo, segundo a Associação Brasileira dos Transplantados de Fígado e Portadores de Doenças Hepáticas.

A maioria de casos desta doença, cerca de 85%, ocorre nos países em desenvolvimento, sendo as maiores taxas de incidência descritas em regiões onde a infecção pelo vírus da hepatite B (HVB) é endêmica: Sudeste Asiático e África Subsaariana. O CHC raramente ocorre antes dos 40 anos e atinge pico aproximadamente aos 70 anos. A taxa de prevalência do câncer do fígado entre os homens é 2-4 vezes maior que a taxa entre as mulheres.

O CHC relacionado com a infecção pelo vírus da hepatite C (HVC) tornou-se causa em maior ascensão nos Estados Unidos, contribuindo para a crescente incidência do CHC no país, que triplicou, enquanto a taxa de sobrevivência em cinco anos continuou abaixo dos 12%.

Os dados epidemiológicos referentes ao CHC em alguns países, como Brasil e Portugal, continuam exíguos e dispersos, dificultando a organização e o planejamento de atividades promotoras de saúde, com impacto na prevenção e no diagnóstico precoce da patologia. No Brasil, no município de São Paulo, segundo dados divulgados pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a incidência do câncer primário de fígado foi de 2,07/100.000 habitantes. A idade média dos doentes foi de 54,7 anos, existindo uma relação masculino/feminino de 3,4:1. A positividade para HbsAg foi de 41,6%; para o anti-HVC, de 26,9%; presença de alcoolismo crônico, de 37%; e de cirrose, de 71,2%.⁵

As estimativas realizadas pelo GLOBOCAN referentes a 2008 sugerem que a taxa de incidência é de 3,5/100.000 habitantes para o sexo masculino e de 1,2/100.000 habitantes para o sexo feminino, traduzindo-se em 477 novos casos por ano. As taxas de mortalidade são, segundo a mesma fonte, de 3,4 e 1,1/100.000 habitantes para o sexo masculino e feminino, respectivamente.

Fatores de risco

Os principais fatores de risco para o CHC incluem a infecção pelo HVB e HVC, as doenças hepáticas derivadas do consumo de álcool, a exposição a aflatoxinas e, principalmente, a esteatose hepática não alcoólica (NAFLD – do inglês *Non-alcoholic fatty liver disease*).⁶ Causas menos comuns incluem a hemocromatose hereditária (HH), a deficiência da Alfa₁-Antitripsina, a hepatite autoimune, algumas porfirias e a doença de Wilson. A distribuição desses fatores de risco entre os doentes com CHC é altamente variável e depende de região geográfica, raça e grupo étnico.⁷

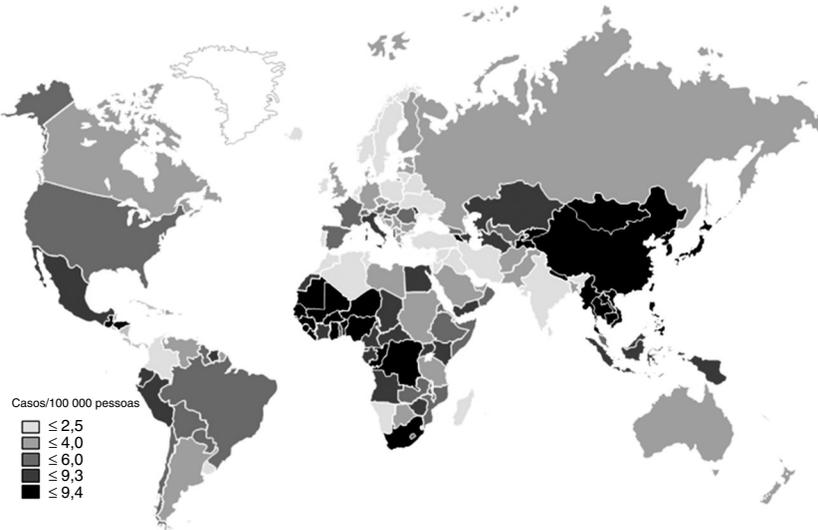


Figura 1 – Variação regional das taxas de incidência de CHC (idade padronizada). As taxas de incidência apresentadas (número de casos por 100.000 habitantes) são referentes a ambos os sexos e todas as idades.^{106,107.}

A maioria dos fatores de risco leva à formação e à progressão de cirrose, que está presente em 80-90% dos doentes com CHC. O risco cumulativo em cinco anos para que doentes portadores de cirrose desenvolvam CHC varia entre os 5% e 30%, dependendo da causa, com o maior risco entre os infetados com HVC, região geográfica ou grupo étnico – 17% nos EUA e 30% no Japão, por exemplo – e o estágio da cirrose, com o maior risco para pacientes com a doença descompensada.⁸

À escala mundial, aproximadamente 50% de todos os doentes adultos com CHC sofrem de infeção crônica com HVB, enquanto, em crianças, essa associação ocorre em praticamente todos os casos. Em zonas endêmicas da Ásia e da África,

onde a infeção por HVB é vertical, cerca de 90% das pessoas infectadas sofrem evolução crônica da doença, com frequente integração do vírus no DNA hospedeiro.^{9,10} A relação entre HVB e câncer varia muito segundo os países considerados e os tipos de provas laboratoriais utilizadas para o diagnóstico da doença,¹¹ o que está sendo modificado com as novas técnicas de diagnóstico, em especial de PCR.

Apesar de o HVB poder causar CHC na ausência de cirrose, entre 70% a 80% dos doentes sofrem de cirrose hepática consequente à infeção com HVB. O risco de CHC entre pessoas com infeção com HVB, aqueles que apresentam positividade para antígeno de superfície de Hepatite B (AgHBs), é

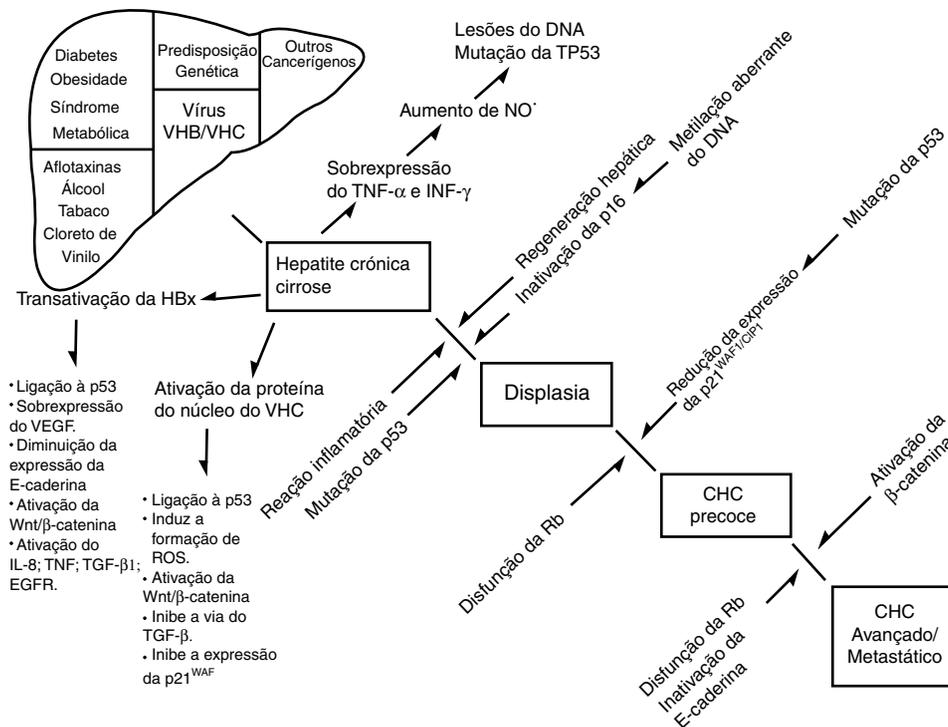


Figura 2 – Eventos moleculares no desenvolvimento das etapas do carcinoma hepatocelular.^{39,46-48,50,53-56,58-61,63,65-67,70-74.}

maior em homens idosos expostos há muito tempo ao vírus, que apresentam história familiar de CHC, foram expostos a micotoxinas do tipo aflatoxinas, consomem álcool ou tabaco, apresentam coinfeção por HVC ou vírus de hepatite delta (HVD), têm níveis elevados de replicação viral de HVB, e/ou foram infectados por HVB do genótipo C.^{10,12-15} O risco estimado de CHC é 15-20 vezes maior entre pessoas infectadas com HVC, comparativamente a não infectados, sendo a maior parte do risco adicional limitada àqueles com fibrose hepática avançada ou cirrose.¹⁶

Um estudo da análise molecular evolucionária demonstrou que a infecção por HVC ocorreu em grande número de jovens adultos no Japão na década de 1920, no sul da Europa na década de 1940 e na América do Norte nas décadas de 1960 e 1970. Esses casos, na América do Norte, ocorreram como resultado da partilha de agulhas contaminadas entre toxicó-dependentes e devido a transfusões sanguíneas,¹⁷ tendo sido descrito o primeiro caso em 1989.

Marcadores de infecção por HVC são encontrados em 80-90% dos pacientes com CHC no Japão, 44-66% na Itália e 30-50% nos Estados Unidos.⁷ Os fatores de risco para HCH entre indivíduos infetados com HVC incluem idade avançada no momento da infecção, sexo masculino, coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) ou com HVB e, provavelmente, diabetes ou obesidade.¹⁸⁻²¹ O consumo abusivo e prolongado de álcool, definido pela ingestão diária de 40-60 g, tomando bebida padrão contendo 13,7 g de álcool, é fator de risco bem-estabelecido para o CHC, quer de forma isolada independente, com um aumento do risco por um fator de 1,5-2,0, quer combinado com outros fatores de risco, como a infecção por HVC ou, em menor grau, com a infecção com HVB.¹⁶

O desenvolvimento de rastreio eficaz ao doador de sangue, para o HVB na década de 1980 e para o HVC na década de 1990, reduziu drasticamente a incidência de hepatite viral associada a transfusões, reduzindo suas taxas de 33% para 0,3% nos EUA.²² O desenvolvimento de vacinas eficazes contra HVB para pré-exposição profilática e a combinação com imunoglobulinas da hepatite B para pós-exposição profilática reduziu drasticamente a incidência da infecção de HVB.^{23,24} Em Taiwan, a incidência de CHC em crianças depois da vacinação universal pelo HVB reduziu de 0,70 para 0,35 casos por 100.000 crianças.²⁵

A incidência de HVC também diminuiu após o rastreio de doadores de sangue, em 1990, mas devido ao tempo de latência de 20 anos, desde a infecção aguda até ao aparecimento de cirrose e de CHC, o impacto da diminuição do HVC não será visto antes de 2015. É esperado que a incidência de casos de CHC relacionados com o HVC continue a diminuir. O desenvolvimento de vacina eficaz para a infecção por HVC ainda não ocorreu devido à elevada taxa de mutação do vírus. Para doentes com infecção crônica pelo HVB ou HVC, o tratamento com o interferon alfa tem sido associado à redução da incidência de CHC.²⁶⁻²⁸

Diversos estudos conduzidos em países ocidentais mostram que 30% a 40% dos doentes com CHC não apresentavam infecção crônica por HVB ou HVC, sugerindo a presença de outras causas para a doença. Alguns pacientes apresentaram alterações clínicas ou bioquímicas compatíveis com esteatose hepática, como obesidade ou síndrome metabólica. Em

estudos de coorte com base populacional de EUA, Escandinávia, Taiwan e Japão, o CHC foi 1,5-2,0 vezes mais frequente em obesos do que em não obesos.²⁹⁻³² Vários estudos de casos controlados e alguns estudos de coorte demonstraram que, em média, o CHC tem probabilidade duas vezes mais de se desenvolver em pessoas com diabetes mellitus tipo 2 do que nos não diabéticos.^{33,34} A esteatose hepática não alcoólica, que está presente em praticamente 90% de pessoas obesas e em quase 70% de pessoas com diabetes mellitus tipo 2, parece se apresentar como possível fator de risco para CHC.³⁵ Por causa dos escassos dados que estabelecem associação direta entre a progressão de esteatose hepática e CHC, as estimativas atualmente disponíveis do risco não são claras. Contudo, devido à elevada incidência da síndrome metabólica nos países ocidentais, qualquer aumento, por menor que seja, do risco de obesidade ou diabetes podem traduzir-se em elevado número de casos de CHC.

Os mecanismos patogênicos envolvidos incluem peroxidação lipídica e estresse oxidativo, com produção de radicais livres como passo para a iniciação e a promoção tumoral, ativação crônica do inibidor da quinase kappa beta (IKK- β), que leva à inflamação, e fibrose hepática, devido à hiperinsulinemia e hiperglicemia.³⁶

As aflatoxinas, em especial a aflatoxina B1 (AFB-1), são potentes carcinógenos hepáticos produzidas por fungos (*Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*), contaminantes comuns dos cereais armazenados.³⁷ Mutação genética causada pela AFB-1 no códon 249 no eixo 7 do gene supressor tumoral TP53 (transversão GC para TA) foi identificada e positivamente correlacionada com a exposição à aflatoxina em meta-análises composta por 49 estudos.^{38,39} Além disso, as aflatoxinas são sinérgicas com a infecção crônica por HVB para o desenvolvimento de CHC.¹¹

Vias moleculares do hepatocarcinoma

A relação entre as vias moleculares da hepatocarcinogênese e os fatores de risco associados a esta patologia é motivo de investigação, objetivando a quimioprevenção e tratamento adequados, personalizados e eficazes do CHC (fig. 2).

A infecção crônica por HVB envolve três mecanismos distintos na mediação da hepatocarcinogênese. O primeiro mecanismo envolve a integração do DNA viral ao genoma do hospedeiro, induzindo instabilidade cromossômica.^{40,41} O segundo mecanismo proposto envolve várias mutações gênicas por inserção, resultando na integração do genoma do HVB em locais específicos que podem ativar genes endógenos, p.ex., RAR (receptor do ácido retinóico) β , ciclina A e TRAP1.⁴²⁻⁴⁴ O terceiro mecanismo envolve a modulação da proliferação celular por meio da expressão de proteínas virais, em particular a proteína X do HVB (HBx), com 154 aminoácidos (16,5-kDa), que pode transativar ou sobre-expressar uma variedade de genes virais e celulares.^{44,45}

Muitos estudos relacionam a HBx com o processo de transformação maligna que ocorre no CHC. Estudos evidenciam que a HBx pode coativar o processo de transcrição de alguns genes celulares e virais importantes, coordenando o equilíbrio entre a proliferação celular e a apoptose.^{46,47} Promotores celulares de genes associados à proliferação, como a

interleucina 8 (IL-8), o fator de necrose tumoral (TNF), o fator de transformação do crescimento (TGF- β 1) e o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) são ativados, assim como fatores de transcrição, com a transativação da HBx.^{48,49}

A HBx também parece estar envolvida na ativação de cascatas sinalizadoras envolvendo a via Ras/Raf/MAPK, contribuindo para a desregulação de pontos de verificação do ciclo celular,⁵⁰ bem como para a ativação de diversos oncogenes, como o *c-myc*, *c-jun* e o *c-fos*, no citoplasma.^{51,52} Estudos também demonstraram duas vias pelas quais a HBx pode ativar a via Wnt/ β -catenina, em colaboração com a proteína proto-oncogênica Wnt-1, pela estabilização da β -catenina citoplasmática em células de CHC⁵³ ou pela ativação da quinase regulada por sinal extracelular (Erk), que leva à fosforilação e, por sua vez, à inativação da cínase-3 β da síntese do glicogênio (GSK-3 β), estabilizando a β -catenina.⁵⁴

Outro mecanismo alternativo de ativação da Wnt em CHC é pela repressão da E-caderina, por parte da HBx, na transcrição, pela hipermetilação do promotor da E-caderina.⁵⁵ Esses mecanismos mostram a associação da HBx com a diminuição da expressão da E-caderina e o acúmulo de β -catenina no citoplasma e/ou no núcleo, levando à ativação aumentada da β -catenina.⁵⁶ No estado normal, a β -catenina é alvo de degradação por meio da quinase da caseína I α e da GSK-3 β .⁵⁷ De 20 a 90% de todos os CHC evidenciam ativação da β -catenina, o que tem aumentado o interesse no estudo dessa via como alvo terapêutico atrativo.⁵⁸⁻⁶⁰

Tal como acontece a diversas proteínas codificadas por DNA de vírus, a HBx pode ligar-se a p53, formando complexos proteína-proteína e inativando atividades críticas dependentes da p53, como a apoptose mediada pela p53,⁶¹ ou mesmo reprimir a transcrição da TP53.⁶² Esses efeitos moduladores da HBx sobre a p53 fornecem a base da transformação maligna das células. Adicionalmente a esse papel na apoptose, a HBx pode também contribuir para a tumorigênese em CHC pela sobreexpressão do potente fator angiogênico de crescimento do endotélio vascular (VEGF), evidenciado em estudos, sob condição de hipóxia.^{63,64}

Estudos clínicos e epidemiológicos atribuem maior agressividade ao HVC que ao HVB, já que é maior a frequência de casos de CHC em pacientes com cirrose induzida por HVC. Contrariamente ao HVB, o HVC é um vírus de RNA que não é integrado ao genoma do hospedeiro, contudo ocorrem diversas interações vírus-hospedeiro, tidas como responsáveis pela hepatocarcinogênese indireta do vírus. A proteína do núcleo do HVC é altamente conservada e tem sido amplamente estudada, já que se acredita que desempenha papel importante na hepatocarcinogênese por meio da modulação da proliferação celular, da apoptose e da resposta imunológica.

Essa proteína do núcleo do HVC induz a formação de ROS por meio da interação com a proteína choque Hsp60, além de se ligar à p53, à p73 e à proteína Rb.^{47,65} Essa interação com proteínas supressoras tumorais parece explicar o fato de a proteína estar associada com a inibição da p21^{WAF1}, levando à inibição da apoptose e à promoção do ciclo celular.⁴⁷

As vias Raf1/MAPK e Wnt/ β -catenina são ativadas pela proteína do núcleo do HVC, ao mesmo tempo em que inibe a via do TGF- β e ativa o receptor TNF- α , e a via do NF- κ B.^{58,66,67} Estudos também demonstram que a frequência de mutações gênicas

da β -catenina em CHC de pacientes com HVC é aproximadamente o dobro, comparando as outras causas.⁶⁸

Como já se sabe, a inflamação crônica e a infecção estão frequentemente associadas ao aumento do risco de câncer. As infecções causadas pelos HVB e pelo HVC causam inflamação com produção de radicais livres, quimiocinas e citocinas, resultando em danos do DNA, proliferação celular, fibrose e angiogênese. Exemplo da resposta ao estresse inflamatório é a própria via da p53.⁶⁹ Radicais livres, como as espécies reativas de oxigênio ou de azoto, podem diretamente causar danos no DNA e nas proteínas, e/ou indiretamente causar danos nessas macromoléculas via peroxidação lipídica.

Crescentes evidências indicam que o monóxido de azoto (NO⁻), importante molécula de sinalização e de biorregulação catalisada pela família de enzimas NOS, desempenha papel importante na carcinogênese.^{70,71} Durante hepatite crônica, a sobre-expressão de algumas citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e INF- γ e IL-1, levam ao aumento das concentrações de NO⁻ nos hepatócitos humanos.⁷² O NO⁻ pode causar danos no DNA de forma a induzir uma resposta ao estresse pela via anticarcinogênica da p53 ou causar mutações de genes relacionados ao câncer, como a TP53.⁷⁰

A inativação mutacional do gene TP53 tem sido muito descrita por ser um dos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese do CHC, especialmente em áreas geográficas em que a exposição à aflotoxina B1 (AFB1) é proeminente.^{39,73,74} Contudo, e apesar da mutação G>T no códon 249 do gene da TP53 estar bem relacionada à exposição da AFB1, a maioria dos casos de CHC evidencia ausência de mutações de TP53, relacionando essa inativação a outros mecanismos, como as interações com proteínas virais.⁷⁵

O CHC exibe alto grau de heterogeneidade genética, o que sugere que múltiplas vias moleculares podem estar envolvidas na gênese de subconjuntos de neoplasias hepatocelulares. Entender as bases moleculares e celulares das transformações neoplásticas que ocorrem no fígado permite o desenvolvimento de melhores estratégias para a prevenção e/ou tratamentos mais eficazes para o CHC.

Sintomas

Os sintomas do CHC não são específicos, geralmente indicam CHC avançado e estão relacionados mais diretamente ao comprometimento da função do fígado. Pode existir dor abdominal (entre 40% e 60%), que pode indicar peritonite bacteriana espontânea, tumoração palpável no abdome à direita (23%), distensão abdominal (45%), falta de apetite (45%), icterícia (16%), ascite (26%), emagrecimento (29%), mal-estar geral (60%), sinais de encefalopatia hepática – desde sonolência até o coma – e hemorragia digestiva (7%).⁷⁶

Patologia e diagnóstico

O prognóstico para os doentes com CHC é, de maneira geral, sombrio. A sobrevivência varia desde algumas semanas até um ano, dependendo da extensão do envolvimento tumoral e de outros fatores de prognóstico.

O CHC pode apresentar quatro graus de diferenciação (classificação de Edmonson e Steiner, 1954) e cinco tipos histológicos diferentes:

- CHC esclerosante;
- carcinoma fibrolamelar (que apresenta maior facilidade para extração cirúrgica, portanto melhor prognóstico);
- carcinoma colangiocelular;
- hepatocolangiocarcinoma;
- hepatoblastoma (mais comum em crianças).

A transformação maligna dos hepatócitos em CHC é processo gradual que está associado a mutações genéticas, perdas alélicas, alterações epigenéticas e perturbação das vias celulares e moleculares. A expressão fenotípica dessas alterações pode ser manifestada por lesões precursoras que acompanham o CHC, denominadas nódulos displásicos.^{77,78} Esses nódulos são distintos dos nódulos regenerativos benignos associados à cirrose em virtude de seu elevado índice proliferativo e da clonalidade.

O *International Working Party of Terminology* do Congresso Mundial de Gastroenterologia classificou os nódulos displásicos, que são lesões nodulares distintas maiores que 5 mm em diâmetro, em nódulos displásicos de baixo grau (LGDN) e nódulos displásicos de alto grau (HGDN).⁷⁹ Os nódulos LGDN mostram apenas displasias leves e não expressam qualquer relação com as neoplasias. Já os nódulos HGDN são caracterizados por maior densidade celular (alterações de pequenas células) que os tecidos circundantes, exibindo formações características do tipo "nódulo dentro do nódulo", assemelhando-se ao CHC bem diferenciado tanto à radiologia quanto à anatomia patológica.^{80,81}

A distinção entre nódulos HGDN e CHC em fase inicial é um desafio ainda por resolver. Painel de três marcadores imuno-histoquímicos de transformação maligna, como a proteína de choque térmico (HSP) 70, a glutamina sintetase e o glicoproteína-3, tem sido usado para os distinguir.^{82,83} Além disso, dados moleculares com base nos perfis de expressão quantitativa gênica com os genes LYVE-1, a E-caderina e a survivina, permitem o diagnóstico seguro de CHC em estágio inicial.⁸⁴

O diagnóstico do CHC pode ser feito por meio de exames de imagem, marcadores tumorais (exame de sangue) e anátomo-patológico (biópsia). Como nem sempre há aumento dos marcadores tumorais e a realização de biópsia pode não ser possível (pela deficiência de coagulação da insuficiência hepática, ascite ou por dificuldade de acesso pela localização do tumor) ou recomendável (há risco teórico, por relatos anecdóticos, de disseminação do tumor pelo trajeto da agulha), o diagnóstico do CHC pode ser fechado pela presença de exame de imagem com lesão típica e aumento em marcador tumoral ou pela presença de imagem típica em duas modalidades diferentes de exame de imagem.

As diretrizes para o diagnóstico de CHC⁷⁶ sugerem que os doentes com cirrose e com massa detectada em estudo radiológico não necessitam de confirmação por biópsia para o diagnóstico de CHC. Critérios para esse diagnóstico são: lesão de pelo menos 2 cm de diâmetro com padrões vasculares típicos em imagens dinâmicas obtidas numa tomografia computadorizada (TC) e ecografia com contraste ou ressonância

magnética (RM) que demonstra realce na fase arterial com rápida depuração do contraste na fase portal.

Para lesões de 1-2 cm de diâmetro são necessários pelo menos dois estudos imagiológicos dinâmicos com realce típico das características do CHC. Lesões <1 cm de diâmetro devem ser seguidas por ecografia com contraste a cada 3-6 meses. Essas diretrizes são suportadas pela elevada incidência de nódulos regenerativos em fígados cirróticos que se mantêm estáveis durante muitos anos, mas que podem sofrer transformação maligna para CHC devido à mudança no suprimento vascular com desvio do sangue da veia porta para a artéria hepática e consequente aumento de tamanho. A biópsia percutânea de lesão hepática em doente cirrótico aumenta o risco de hemorragia, disseminação de células tumorais e resultados falso negativos devido à localização radiológica imprecisa, particularmente com lesões pequenas.

A alfa-fetoproteína (AFP) sérica, glicoproteína normalmente produzida pelo fígado fetal e saco vitelino, pode apresentar-se elevada com o desenvolvimento de CHC. A AFP é particularmente indicativa caso sua concentração esteja maior que 500 µg/L, sendo os valores normais entre 10-20 µg/L,^{85,86} apesar de 20% dos CHC não estarem associados a valores elevados de AFP sérica e aumentos moderados de AFP poderem ser encontrados em outras condições, como na hepatite ativa de qualquer etiologia (viral, drogas, autoimune), mulheres grávidas com alterações fetais como a espinha bífida e doentes com cânceres de células germinativas ou câncer gástrico. A AFP sérica também tem sido usada para realçar a sensibilidade de ecografias sem contraste no rastreamento de indivíduos com alto risco de CHC.^{87,88}

Estadiamento e tratamento

Devido à estreita associação entre CHC e cirrose, o prognóstico de casos individuais depende da severidade do estado de cirrose e do grau de envolvimento maligno do CHC. A maioria dos critérios de estadiamento para o prognóstico de CHC incorpora elementos acerca da extensão tumoral e da severidade da cirrose. Entretanto, os parâmetros TNM incluem tamanho, multifocalidade, envolvimento vascular e metástases à distância, mas não as características da cirrose.⁸⁹

Para o prognóstico de doentes com cirrose, os parâmetros da avaliação de doença hepática crônica, como os usados na classificação de Child-Pugh, são incorporados na maioria dos critérios de classificação do CHC, incluindo CLIP (*Cancer of the Liver Italian Program score*), JIS (*Japan Integrated Staging Score*), CUPI (*Chinese University Prognostic Index*) e *French Prognostic Classification*.⁹⁰⁻⁹³

Classificação de Okuda

A classificação de Okuda (1985) tem como objetivo prever a média de sobrevida de pacientes com CHC não submetidos a qualquer tipo de tratamento minimamente eficaz – clínico ou hepatectomia. Com base em apenas quatro parâmetros relativamente simples e objetivos (apesar de ser difícil definir se a proporção do tumor em relação ao tamanho total do fígado é maior ou menor de 50%), é definido o estágio do tumor, com

Tabela 1 – Terapias dirigidas em carcinoma hepatocelular¹⁰⁸⁻¹¹³

Fármaco	Tipo de fármaco	Alvo molecular	Via de sinalização afetada	Aprovação (EMA e FDA)
Sorafenibe	Inibidor TC	VEGFR, PDGFR, RAF	VEGFR, PDGFR, RAS/MAPK	Aprovado
Sunitinibe	Inibidor TC	VEGFR, PDGFR, c-kit	VEGFR, PDGFR, c-kit	Não Aprovado (Em ensaios de fase II ou III)
Bevacizumabe	Anticorpo monoclonal ao ligando	VEGFR	VEGFR	
Cetuximabe	Anticorpo monoclonal ao ligando	EGFR	EGFR	
Trastazumabe	Anticorpo monoclonal ao receptor	Her-2/neu	Her-2/neu	
Erlotinibe	Inibidor TC	EGFR	EGFR	
Gefitinibe	Inibidor TC	EGFR	EGFR	
Lapatinibe	Inibidor TC	Her-2/neu	Her-2/neu	
Rapamicina	Inibidor cínase ST	mTOR	PIK3/Akt/mTOR	
Everolímus	Inibidor cínase ST	mTOR	PIK3/Akt/mTOR	
XL-765	Inibidor cínase ST	PI3K	PIK3/Akt/mTOR	

EMA, European Medicines Agency; FDA, Food and Drug Administration; TC, tirosina cínase; ST, serina/treonina; VEGFR, fator de crescimento endotelial vascular; PDGFR, fator de crescimento derivado de plaquetas; MAPK, proteína-quinases ativadas por mitógenos; mTOR, proteína-alvo da rapamicina em mamíferos; PIK3, fosfatidilinositol 3-quinases; Akt, proteína quinase B.

seu devido prognóstico estimado em semanas. A ressalva em relação a essa classificação é que os tratamentos clínicos evoluíram muito desde 1985, em especial com o surgimento de novos agentes quimioterápicos, o aprimoramento das técnicas de quimioembolização e de tratamentos percutâneos, com o auxílio de novos instrumentos, como os bisturis de argônio e Yag-laser, além da melhoria das técnicas de hepatectomia. A classificação mantém sua importância em relação à previsão de prognóstico para pacientes sem tratamento como base de comparação com os tratamentos disponíveis.^{94,95}

O sistema CLIP (*Cancer of the Liver Italian Program score*) engloba a classificação de Child-Pugh, que avalia a função hepática, a fração de fígado acometido (como na classificação de Okuda), o nível sérico de alfa-fetoproteína e a infiltração pelo câncer dos vasos hepáticos, especialmente a veia porta. Com a pontuação obtida, é possível comparar com a expectativa de vida esperada em condições semelhantes.⁹⁶

Já o sistema BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*) é o padronizado internacionalmente e recomendado pela Associação Americana para o Estudo das Doenças do Fígado (AASLD) e da Associação Europeia para o Estudo do Fígado (EASL), e baseia-se apenas em parâmetros clínicos.^{76,97} Recentemente (2012), a EASL em conjunto com a Associação Europeia para o estudo e tratamento do câncer (EORTC), publicaram as diretrizes clínicas para a vigilância, o diagnóstico e as estratégias terapêuticas do CHC, atualizando o painel de recomendações proposto em 2001⁹⁸ e até agora usado.⁹⁹

O sistema BCLC classifica o CHC em muito precoce, precoce, intermediário, avançado e terminal, baseado nos critérios de Child-Pugh, estado funcional, tamanho tumoral, multifocalidade e a presença de invasão da veia porta. Os doentes em estágios muito precoces e precoces são passíveis de modalidades de tratamento curativas que incluem a ressecção, o transplante hepático, a injeção percutânea de etanol ou a ablação por radiofrequência.

Já os pacientes com CHC em estágio intermediário são passíveis de tratamento por quimioembolização. Para os doentes em estágios avançados, como acontece em grande parte dos

casos diagnosticados, os tratamentos recomendados incluem os inibidores de várias tirosinaquinase ou a participação de ensaios clínicos de fase III e IV, visto que os tratamentos acima indicados raramente são eficazes. Os doentes em estágios terminais não são normalmente considerados para o tratamento específico e será indicado tratamento paliativo para o controle dos sintomas.

O CHC em estágio precoce se apresenta como pequeno nódulo com diâmetro inferior a 2 cm e pode ser classificado em dois tipos: CHC pequeno distintamente do tipo nodular, que é bem-demarcado e, por vezes, encapsulado, ou do indistintamente (vagamente) do tipo nodular, que é maldefinido e sem barreiras claras.^{100,101} Os nódulos displásicos e o CHC precoce são geralmente assintomáticos e usualmente são descobertas acidentais em estudos radiográficos ou detectados como resultado de procedimentos de rastreio. O CHC precoce pode ser indolente ou de crescimento lento (até 1 ano) até sofrer progressão tumoral rápida. Nesses estágios precoces, o CHC progride gradualmente com o aumento do volume tumoral, seguido de invasão dos ramos da veia porta, estendendo-se à veia porta principal. A invasão da veia porta é geralmente acompanhada de rápido aumento da concentração sérica da AFP, mesmo sem haver alterações do tamanho do tumor primário do fígado. O tumor pode também invadir diretamente os ramos da veia hepática ou a veia cava inferior intra-hepática, propagando para a veia cava superior ou para a aurícula direita como trombo tumoral. A invasão da artéria hepática é muito menos comum.

A disseminação do CHC ocorre primariamente via hematogênica para pulmões, ossos e cérebro em estágios tardios. Essas lesões metastáticas são tipicamente hipervasculares, como o tumor primário, e predispõem-se a hemorragias (hemoptise ou hemorragia intracraniana). As metástases ósseas podem ser solitárias ou múltiplas, e podem produzir sintomatologia isolada, como a compressão de par craniano ou de nervo periférico.

Para a detecção de metastização de CHC, a TC com contraste de crânio, tórax, abdome e pelvis, bem como as cintilografias

ósseas, são exames padronizados. As aquisições dinâmicas com contraste não são geralmente necessárias, mas caso sejam realizadas podem demonstrar hipervascularização arterial das lesões metastáticas do mesmo modo que o tumor primário. O PET não tem demonstrado consistência confiável que justifique sua incorporação em exames de rotina no estadiamento do CHC.¹⁰²

Múltiplos tumores podem surgir em fígado cirrótico, particularmente com infecção crônica por HVC, ou podem representar metástases hepáticas consequente a trombose da veia porta, a partir do tumor primário e da disseminação hematogênica para o fígado.

A heterogeneidade clínica e genética desta doença dita o fato da pouca resposta terapêutica efetiva no CHC. A terapia dirigida a alvos moleculares, quer a genes, quer aos seus receptores, pretende inativar oncogenes ativados, recuperar genes supressores tumorais ou qualquer molécula ou gene envolvido no desenvolvimento do CHC, corrigindo assim erros ou funções anormais ou comportamento biológico. Recentemente, muitas moléculas baseadas no genoma são candidatas à terapia dirigida. Foram descobertas por meio de estudos com *microarray*, na análise de aberrações epigenéticas do genoma total, de sistemas de sequenciação de alto rendimento. Alguns genes ou moléculas-alvo em estudo são VEGFR, EGFR, DDEF1, VANGL1, WDRPUH, Ephrin-A1, GPC3, PFTK1, entre outros.^{103,104} Muitas dessas moléculas para terapia dirigida, como anticorpos monoclonais, moléculas pequenas e moléculas antisense, já estão na fase II e III de ensaios clínicos, havendo no momento dados promissores. Atualmente, apenas o Sorafenib, inibidor multiquinase do VEGFR e da quinase RAS, está aprovado pela *Food and Drug Administration* e pela *European Medicines Agency*^{104,105} (tabela 1).

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90.
- Ferlay J, Parkin DM, Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer.* 2010;46:765-81.
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010;127:2893-917.
- INE. Óbitos pela causa tumor maligno do fígado e das vias biliares intra-hepáticas do CID 10: Resultados 2002-2011. Lisboa. 2012.
- Gonçalves CS, Pereira FEL, Gayotto LCC. Hepatocellular carcinoma in Brazil: report of a national survey (Florianópolis, SC, 1995). *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1997;39:165-70.
- Baffy G, Brunt EM, Caldwell SH. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease: an emerging menace. *J Hepatol.* 2012;56:1384-91.
- El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2007;132:2557-76.
- Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology.* 2004;127 5 Suppl 1:S35-50.
- El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2012;142:1264-73.
- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *Vaccine.* 2012;30:2212-9.
- Lutwick L. Relation between aflatoxin, hepatitis-B virus, and hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 1979;313:755-7.
- Chen CJ, Yang HI, Iloeje UH. Hepatitis B virus DNA levels and outcomes in chronic hepatitis B. *Hepatology.* 2009;49 5 Suppl:S72-84.
- Yang HI, Yeh SH, Chen PJ, Iloeje UH, Jen CL, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100:1134-43.
- Pollicino T, Saitta C, Raimondo G. Hepatocellular carcinoma: the point of view of the hepatitis B virus. *Carcinogenesis.* 2011;32:1122-32.
- Fallot G, Neuveut C, Buendia M-A. Diverse roles of hepatitis B virus in liver cancer. *Curr Opin Virol.* 2012;2:467-73.
- Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol.* 2002;155:323.
- Tanaka Y, Kurbanov F, Mano S, Orito E, Vargas V, Esteban JI, et al. Molecular tracing of the global hepatitis C virus epidemic predicts regional patterns of hepatocellular carcinoma mortality. *Gastroenterology.* 2006;130:703-14.
- Davis GL, Alter MJ, El-Serag H, Poynard T, Jennings LW. Aging of hepatitis C virus (HCV)-infected persons in the United States: a multiple cohort model of HCV prevalence and disease progression. *Gastroenterology.* 2010;138: 513-21.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *N Engl J Med.* 2003;348:1625-38.
- Moller H, Mellemegaard A, Lindvig K, Olsen J. Obesity and cancer risk: a Danish record-linkage study. *Eur J Cancer.* 1994;30A:344-50.
- EASL. Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2011;55:245-64.
- Alter HJ, Houghton M. Hepatitis C virus and eliminating post-transfusion hepatitis. *Nature Med.* 2000;6:1082-6.
- Ni Y, Chang MH, Huang LM, Chen HL, Hsu HY, Chiu TY, et al. Hepatitis B virus infection in children and adolescents in a hyperendemic area: 15 years after mass hepatitis B vaccination. *Ann Intern Med.* 2001;135:796-800.
- Harpaz R, McMahon BJ, Margolis HS, Shapiro CN, Havron D, Carpenter G, et al. Elimination of new chronic hepatitis B virus infections: results of the Alaska immunization program. *J Infect Dis.* 2000;181:413-8.
- Chang MH, Chen CJ, Lai MS, Hsu HM, Wu TC, Kong MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. *N Engl J Med.* 1997;336:1855-9.
- Lin SM, Sheen IS, Chien RN, Chu CM, Liaw YF. Long-term beneficial effect of interferon therapy in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology.* 1999;29:971-5.
- Brunetto M, Oliveri F, Koehler M, Zahm F. Effect of interferon-alpha on progression of cirrhosis to hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *Lancet.* 1998;351:1535-9.

28. Lin S, Yu M, Lee C, Chien R, Sheen I. Interferon therapy in HBeAg positive chronic hepatitis reduces progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2007;46:45-52.
29. Calle E, Rodriguez C. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *N Engl J Med.* 2003;348:1625-8.
30. Moller H, Mellemegaard A, Lindvig K. Obesity and cancer risk: a Danish record-linkage study. *Eur J Cancer.* 1994;30A:344-50.
31. Wolk A, Gridley G, Svensson M. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control.* 2001;12:13-21.
32. Calle E, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:579-91.
33. El-serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2004;126:460-8.
34. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:369-80.
35. Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology.* 2003;37:1202-19.
36. Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis.* 2007;11:75-104.
37. Peers F, Bosch X, Kaldor J, Linsell A, Pluijmen M. Aflatoxin exposure, hepatitis B virus infection and liver cancer in Swaziland. *Int J Cancer.* 1987;39:545-53.
38. Hsu I, Metcalf RA, Sun T, Welsh JA, Wang NJ, Harris CC. Mutational hot spot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature.* 1991;350:427-8.
39. Bressac B, Kew M, Wands J, Ozturk M. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature.* 1991;350:429-31.
40. Minami M, Daimon Y, Mori K, Takashima H, Nakajima T, Itoh Y, et al. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis in chronic hepatitis B patients as an early drastic genetic change leading to hepatocarcinogenesis. *Oncogene.* 2005;24:4340-8.
41. Shafritz DA, Shouval D, Sherman HI, Hadziyannis SJ, Kew MC. Integration of hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Studies in percutaneous liver biopsies and post-mortem tissue specimens.* *N Engl J Med.* 1981;305:1067-73.
42. Paterlini-Bréchet P, Murakami Y, Saigo K, Chami M, Mugnier C, Lagorce D, et al. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis occurs frequently in human liver cancers and recurrently targets human telomerase gene. *Oncogene.* 2003;22:3911-6.
43. Wang J, Chenivresse X, Henglein B, Bréchet C. Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. *Nature.* 1990;343:555-7.
44. Gozuacik D, Murakami Y, Saigo K, Chami M, Mugnier C, Lagorce D, Okanou T, et al. Identification of human cancer-related genes by naturally occurring Hepatitis B Virus DNA tagging. *Oncogene.* 2001;20:6233-40.
45. Murakami S. Hepatitis B virus X protein: a multifunctional viral regulator. *J Gastroenterol.* 2001;36:651-60.
46. De Mitri MS, Cassini R, Bernardi M. Hepatitis B virus-related hepatocarcinogenesis: molecular oncogenic potential of clear or occult infections. *Eur J Cancer.* 2010;46:2178-86.
47. Tsai W-L, Chung RT. Viral hepatocarcinogenesis. *Oncogene.* 2010;29:2309-24.
48. Andrisani OM, Barnabas S. The transcriptional function of the hepatitis B virus X protein and its role in hepatocarcinogenesis (Review). *Int J Oncol.* 1999;15:373-9.
49. Morris SM, Baek JY, Koszarek A, Kannngum S, Knoblauch SE, Grady WM. Transforming growth factor-beta signaling promotes hepatocarcinogenesis induced by p53 loss. *Hepatology.* 2012;55:121-31.
50. Tarn C, Lee S, Hu Y, Ashendel C, Andrisani OM. Hepatitis B virus X protein differentially activates RAS-RAF-MAPK and JNK pathways in X-transforming versus non-transforming AML12 hepatocytes. *J Biol Chem.* 2001;276:34671-80.
51. Natoli G, Avantaggiati ML, Chirillo P, Costanzo A, Artini M, Balsano C, Levrero M. Induction of the DNA-binding activity of c-jun/c-fos heterodimers by the hepatitis B virus transactivator pX. *Mol Cell Biol.* 1994;14:989-98.
52. Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein activates Ras-GTP complex formation and establishes a Ras, Raf, MAP kinase signaling cascade. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91:10350-4.
53. Cha M-Y, Kim C-M, Park Y-M, Ryu W-S. Hepatitis B virus X protein is essential for the activation of Wnt/beta-catenin signaling in hepatoma cells. *Hepatology.* 2004;39:1683-93.
54. Ding Q, Xia W, Liu JC, Yang JY, Lee DF, Xia J, et al. Erk associates with and primes GSK-3beta for its inactivation resulting in upregulation of beta-catenin. *Mol Cell.* 2005;19:159-70.
55. Lee J-O, Kwun HJ, Jung JK, Choi KH, Min DS, Jang KL. Hepatitis B virus X protein represses E-cadherin expression via activation of DNA methyltransferase 1. *Oncogene.* 2005;24:6617-25.
56. Lian Z, Liu J, Li L, Li X, Clayton M, Wu MC, Wang HY, et al. Enhanced cell survival of Hep3B cells by the hepatitis B x antigen effector, URG11, is associated with upregulation of beta-catenin. *Hepatology.* 2006;43:415-24.
57. Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science.* 2004;303:1483-7.
58. Thompson MD, Monga SPS. WNT/beta-catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology.* 2007;45:1298-305.
59. Luu HH, Zhang R, Haydon RC, Rayburn E, Kang Q, Si W, et al. Wnt/beta-catenin signaling pathway as a novel cancer drug target. *Curr Cancer Drug Targets.* 2004;4:653-71.
60. Kundu JK, Choi K-Y, Surh Y-J. beta-Catenin-mediated signaling: a novel molecular target for chemoprevention with anti-inflammatory substances. *Bioch Biophys Acta.* 2006;1765:14-24.
61. Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, Wang XW, Harris CC. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat.* 2003;21:201-16.
62. Lee SG, Rho HM. Transcriptional repression of the human p53 gene by hepatitis B viral X protein. *Oncogene.* 2000;19:468-71.
63. Moon E-J. Hepatitis B virus X protein induces angiogenesis by stabilizing hypoxia-inducible factor-1alpha. *FASEB J.* 2004;18:382-4.
64. Lee SW, Lee YM, Bae SK, Murakami S, Yun Y, Kim KW. Human hepatitis B virus X protein is a possible mediator of hypoxia-induced angiogenesis in hepatocarcinogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;268:456-61.
65. Bartosch B, Thimme R, Blum HE, Zoulim F. Hepatitis C virus-induced hepatocarcinogenesis. *J Hepatol.* 2009;51:810-20.
66. Block TM, Mehta AS, Fimmel CJ, Jordan R. Molecular viral oncology of hepatocellular carcinoma. *Oncogene.* 2003;22:5093-107.
67. Chen CM, You LR, Hwang LH, Lee YH. Direct interaction of hepatitis C virus core protein with the cellular lymphotoxin-beta receptor modulates the signal pathway of the lymphotoxin-beta receptor. *J Virol.* 1997;71:9417-26.

68. Huang H, Fujii H, Sankila A, Mahler-Araújo BM, Matsuda M, Cathomas G, et al. Beta-catenin mutations are frequent in human hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus infection. *Am J Pathol.* 1999;155:1795-801.
69. Staib F, Robles AI, Varticovski L, Wang XW, Zeeberg BR, Sirotnin M, et al. The p53 tumor suppressor network is a key responder to microenvironmental components of chronic inflammatory stress. *Cancer Res.* 2005;65:10255-64.
70. Fukumura D, Kashiwagi S, Jain RK. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat Rev Cancer.* 2006;6:521-34.
71. Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol.* 2001;2:149-56.
72. De Vera ME, Shapiro RA, Nussler AK, Mudgett JS, Simmons RL, Morris SM, et al. Transcriptional regulation of human inducible nitric oxide synthase (NOS2) gene by cytokines: initial analysis of the human NOS2 promoter. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:1054-9.
73. Blonski W, Kotlyar DS, Forde KA. Non-viral causes of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2010;16:3603-15.
74. Ming L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morengi E, et al. Dominant role of hepatitis B virus and cofactor role of aflatoxin in hepatocarcinogenesis in Qidong, China. *Hepatology.* 2002;36:1214-20.
75. Aguilar F, Harris CC, Sun T, Hollstein M, Cerutti P. Geographic variation of p53 mutational profile in nonmalignant human liver. *Science.* 1994;264:1317-9.
76. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2005;42:1208-36.
77. Theise ND. Macroregenerative (dysplastic) nodules and hepatocarcinogenesis: theoretical and clinical considerations. *Semin Liver Dis.* 1995;15:360-71.
78. Theise ND, Schwartz M, Miller C, Thung SN. Macroregenerative nodules and hepatocellular carcinoma in forty-four sequential adult liver explants with cirrhosis. *Hepatology.* 1992;16:949-55.
79. Wanless IR. Terminology of nodular hepatocellular lesions. *Hepatology.* 22:983-93.
80. Kojiro M, Roskams T. Early hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules. *Semin Liver Dis.* 2005;25:133-42.
81. Roncalli M, Park Y, Di Tommaso L. Histopathological classification of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis.* 2010;42 Suppl 1:S228-34.
82. Suriawinata A, Thung SN. Molecular signature of early hepatocellular carcinoma. *Oncology.* 2010;78 Suppl 1:36-9.
83. Di Tommaso L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morengi E, et al. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology.* 2007;45:725-34.
84. Llovet JM, Chen Y, Wurmbach E, Roayaie S, Fiel MI, Schwartz M, et al. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis. *Gastroenterology.* 2006;131:1758-67.
85. Wu JT. Serum alpha-fetoprotein and its lectin reactivity in liver diseases: a review. *Ann Clin Lab Sci.* 1990;20:98-105.
86. Chan SL, Chan ATC, Yeo W. Role of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma: prognostication, treatment monitoring or both? *Future Oncol.* 2009;5:889-99.
87. Singal A, Wolk ML, Waljee A, Salgia R, Higgins P, Rogers MA, et al. Meta-analysis: surveillance with ultrasound for early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;30:37-47.
88. Sherman M, Peltekian KM, Lee C. Screening for hepatocellular carcinoma in chronic carriers of hepatitis B virus: incidence and prevalence of hepatocellular carcinoma in a North American urban population. *Hepatology.* 1995;22:432-8.
89. Vauthey J-N, Lauwers GY, Esnaola NF, Do KA, Belghiti J, Mirza N, et al. Simplified staging for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002;20:1527-36.
90. Daniele B, Annunziata M, Barletta E, Tinessa V, Di Maio M. Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) score for staging hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2007;37 Suppl 2:S206-9.
91. CLIP Prospective validation of the CLIP score: a new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2000;31:840-5.
92. Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). *J Gastroenterol.* 2003;38:207-15.
93. Leung TWT, Tang AM, Zee B, Lau WY, Lai PB, Leung KL, et al. Construction of the Chinese University Prognostic Index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, and the Cancer of the Liver Italian Program staging system: a study based on 926 patients. *Cancer.* 2002;92:1760-9.
94. Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment study of 850 patients. *Cancer.* 1985;56:918-28.
95. Okuda K. Natural history of hepatocellular carcinoma including fibrolamellar and hepato-cholangiocarcinoma variants. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002;17:401-5.
96. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology.* 1998;28:751-5.
97. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis.* 1999;19:329-38.
98. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol.* 2011;35:421-30.
99. European Association For The Study Of The Liver & European Organisation For Research And Treatment Of Cancer EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2012;56:908-14.
100. International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology.* 2009;49:658-64.
101. Kojiro M. Diagnostic discrepancy of early hepatocellular carcinoma between Japan and West. *Hepatol Res.* 2007;37 Suppl 2:S121-4.
102. Wolford RM, Papillion PW, Turnage RH, Lillien DL, Ramaswamy MR, Zibari GB. Role of FDG-PET in the evaluation and staging of hepatocellular carcinoma with comparison of tumor size, AFP level, and histologic grade. *Int Surg.* 2010;95:67-75.
103. Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2008;48:1312-27.
104. Midorikawa Y, Sugiyama Y, Aburatani H. Molecular targets for liver cancer therapy: From screening of target genes to clinical trials. *Hepatol Res.* 2010;40:49-60.
105. Thomas M. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* 2009;44 Suppl 1:136-41.
106. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10. GLOBOCAN 2008 v1.2, Lyon, France:

- International Agency for Research on Cancer; 2010. *Lancet Oncol.* 2012;13:607-15.
107. Bray F, Ren J, Masuyer E, Ferlay J. Estimates of global cancer prevalence in 2008 for 27 sites in the adult population. *Int J Cancer.* 2013;132:1133-45.
108. Zender L, Kubicka S. Molecular pathogenesis and targeted therapy of hepatocellular carcinoma. *Onkologie.* 2008;31:555-65.
109. Thomas MB, Chadha R, Glover K, Wang X, Morris J, Brown T, Rashid A, et al. Phase 2 study of erlotinib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2007;110:1059-67.
110. Zhu AX, Stuart K, Blaszkowsky LS, Muzikansky A, Reitberg DP, Clark JW, et al. Phase 2 study of cetuximab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2007;110:581-9.
111. Liu L, Cao Y, Chen C, Zhang X, McNabola A, Wilkie D, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5. *Cancer Res.* 2006;66:11851-8.
112. Faivre S, Raymond E, Boucher E, Douillard J, Lim HY, Kim JS, et al. Safety and efficacy of sunitinib in patients with advanced hepatocellular carcinoma: an open-label, multicentre, phase II study. *Lancet Oncol.* 2009;10:794-800.
113. Papaetis GS, Syrigos KN. Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies. *BioDrugs.* 2009;23:377-89.