

JAZON ROMILSON DE SOUZA ALMEIDA

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE UM NOVO
MARCADOR TUMORAL, A
DESGAMACARBOXIPROTROMBINA,
NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA
HEPATOCELULAR**

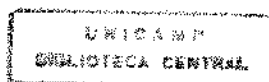
*Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas, para obtenção do título de Doutor em
Medicina na área de Medicina Interna.*

Orientadora: *Prof.^a Dr.^a Elza Cotrim Soares†*

Co-orientador: *Prof. Dr. José Carlos Pareja†*

Campinas

1997



ADE BC
 NÚMERO: Unicamp
64a
 EX. 31541
281197
☐ 0 ☒ X
R\$ 11,00
30/08/97
 CPF

CM-00099923-5

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP

A164a

Almeida, Jazon Romilson de Souza

Avaliação da eficácia de um novo marcador tumoral, a desgamacarboxiprotrombina (DCP), no diagnóstico do carcinoma hepatocelular (CHC) / Jason Romilson de Souza Almeida. Campinas, SP : [s.n.], 1997.

Orientador : Elza Cotrim Soares

Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Epidemiologia*. 2. Ultra-sonografia*. 3. Cirrose hepática*. I. Elza Cotrim Soares. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Banca examinadora da tese de Doutorado

Orientador: Profa. Dra. Elza Cotrim Soares

Co-orientador: Prof. Dr. Jose Carlos Pareja

Membros:

1.

2.

3.

4.

5.

Curso de pós-graduação Medicina, área Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

07/08/96

*A minha mãe, Alvacy e o meu pai, Lourenço
(in memoriam), que com amor e dedicação
incentivaram meu crescimento pessoal.*

*A minha querida esposa, Rejane Glêa, pelo amor
com que compartilhou os momentos difíceis da
elaboração deste estudo.*

*Aos meus filhos, André, Felipe, Mariana e
Henrique, pelo apoio, carinho e colaboração
neste trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial a minha orientadora, Dra. Elza Cotrim Soares, pela persistência, estímulo, paciência e pelo exemplo de luta no crescimento do ensino e da pesquisa científica

Aos Drs. Antonio Frederico Novaes de Magalhães, Rogério Antunes Pereira Filho, Adriana Sevá Pereira, Paulo Roberto de Souza, pela contribuição em minha formação médica.

À Dra. Maria Aparecida Mesquita, pelo inestimável apoio na realização dos gráficos.

Ao Dr. Ademar Yamanaka, que me incentivou no aprendizado da ultrasonografia, contribuindo, assim, na minha formação em Gastroenterologia.

Ao Dr. José Murilo Robilotta Zeitune, pelo auxílio na elaboração deste estudo.

Ao Dr. José Carlos Pareja, pelo apoio dado ao meu estágio no Japão, que foi de suma importância para o início deste trabalho.

À Dra. Cecília Amélia Fazzio Escanhoela, pela revisão anátomo-patológica, essencial no desenvolvimento deste trabalho.

À Nancy Fusae Nishimura - chefe do Laboratório de Imunoparasitologia, Natalícia Hifumi Hara e Derci Lopes Ricci que realizaram a análise laboratorial.

Aos estatísticos Eliani Guelli e Hélio José de Abreu - Comissão de Pesquisa-Estatística, pela orientação objetiva e clara, importante na concretização deste trabalho.

Às bibliotecárias da Faculdade de Ciências Médicas, Marisabel Regina Rodriques do Amaral e Sandra Lúcia Pereira que gentilmente contribuíram na revisão e obtenção das Referências Bibliográficas.

Aos amigos e colegas, na luta do dia a dia, agradeço ao Drs. Fábio Guerrazzi, Ciro Garcia Montes, Mauro Dantas Nader, José Olympio Meirelles dos Santos, Sônia Letícia Lorena, Carlos Fusaro Carmona, Roseli dos Santos Albuquerque, Brasílio Toshikatsu Okubo, Jovino Soares Neto e Roberto Magalhães, agradeço a cooperação.

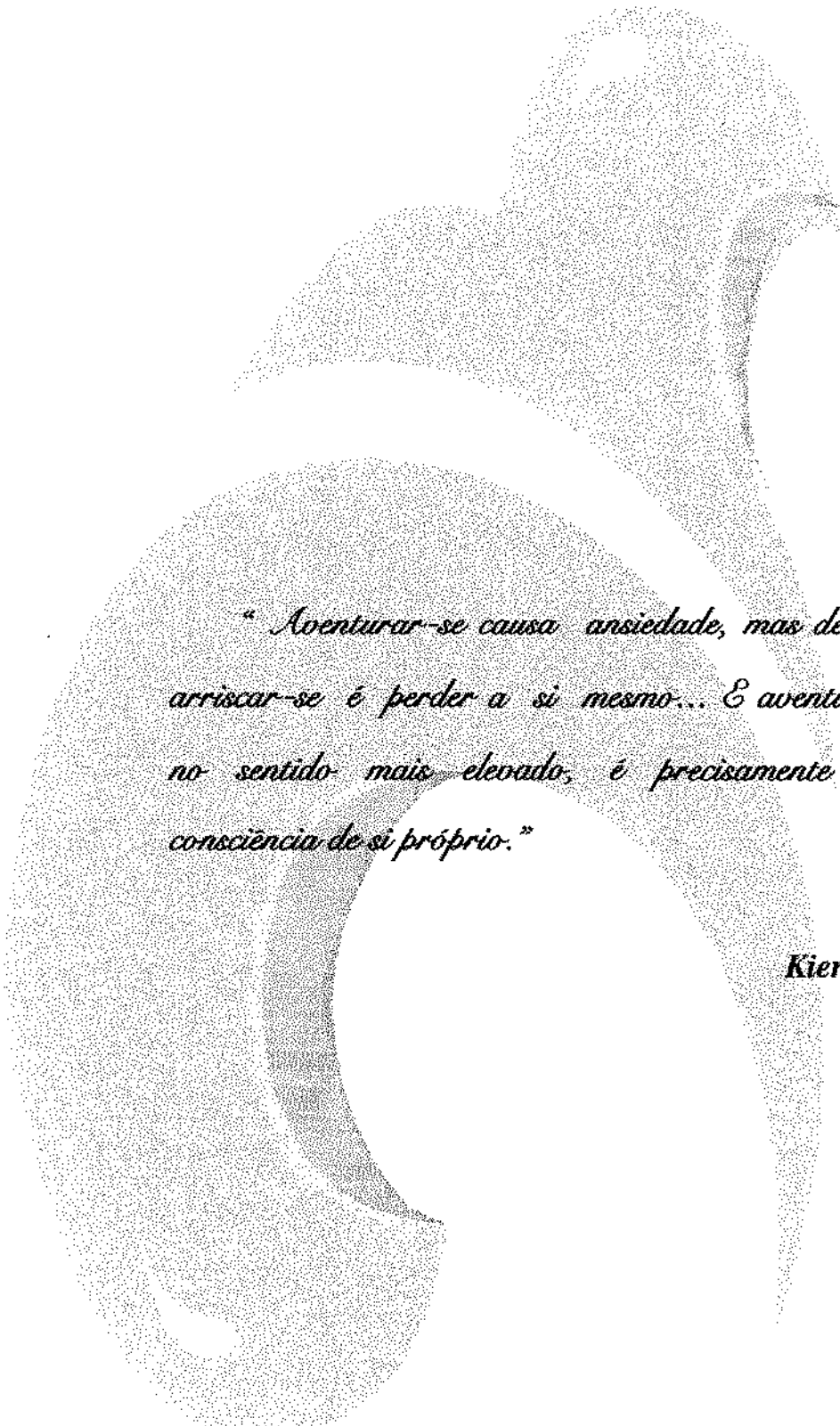
Ao meu irmão, Dr. José Roberto de Almeida, pelo apoio e orientação em minha formação pessoal.

Aos demais funcionários do Gastrocentro e do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, que direta ou indiretamente contribuíram na realização desta pesquisa.

Aos professores do Terceiro Departamento de Medicina Interna da Universidade Médica e Farmacêutica da Cidade de Toyama - Japão, por terem me acolhido, orientado e fornecido o material necessário para o desenvolvimento desta tese; em especial, ao Dr. Akiharu Watanabe, titular do Departamento de Gastroenterologia e Hematologia.

Aos Drs. Tetsu Shimabukuro e Keiichi Yamamoto, coordenadores do projeto JICA (Japan International Cooperation Agency), que nos forneceram o equipamento para a realização dos exames.

*Este trabalho foi realizado no Laboratório de
Imunoparasitologia e Serviço de Ultra-sonografia do
Gastrocentro, na Disciplina de Gastroenterologia
Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP.*



“Aventurar-se causa ansiedade, mas deixar de arriscar-se é perder a si mesmo... E aventurar-se, no sentido mais elevado, é precisamente tomar consciência de si próprio.”

Kierkgaard

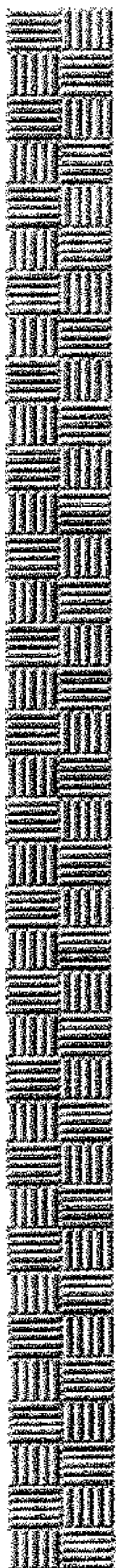
SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	<i>i</i>
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Importância Epidemiológica do Carcinoma Hepatocelular (CHC).....	2
1.2. Diagnóstico do Carcinoma Hepatocelular (CHC) por Método de Imagem..	8
1.3. Marcadores Tumorais no Diagnóstico do Carcinoma Hepatocelular.....	10
1.3.1. Alfafetoproteína (A.F.P.).....	10
1.3.2. Desgamacarboxiprotrombina (DCP).....	14
2. OBJETIVOS.....	18
3. CASUÍSTICA E MÉTODO.....	20
3.1. Casuística.....	21
3.2. Método.....	23
3.2.1. Critérios para o diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular	23
3.2.2. Critérios para o diagnóstico de Cirrose Hepática	28
3.2.3. Critérios para o diagnóstico de Hemangioma Hepático.....	29
3.2.4. Critérios para o diagnóstico de Metástase Hepática	29

3.2.5. Critérios para a seleção dos pacientes do grupo Controle.....	30
3.2.6. Ultra-sonografia - Técnica.....	30
3.2.7. Desgamacarboxiprotrombina (DCP).....	31
3.2.7.1. Técnica.....	31
3.2.8. Análise estatística.....	33
3.2.8.1. Análise de variância.....	33
3.2.8.2. Comparação múltipla.....	33
3.2.8.3. Análise descritiva das variáveis desgamacarboxiprotrombina (DCP), alfafetoproteína(A.F.P.) e tamanho do tumor.....	33
3.2.8.4. Análise de regressão logística.....	34
3.2.8.5. Coeficiente de correlação linear.....	34
3.2.8.6. Análise dos valores de desgamacarboxiprotrombina(DCP) e alfafetoproteína (A.F.P.), considerando-se os grupos CHC-B e CHC-J.....	34
3.2.8.7. Análise do tamanho do tumor, considerando-se os grupos CHC-B e CHC-J.....	34
3.2.8.8. Análise da sensibilidade e especificidade da desgamacarboxiprotrombina (DCP) e da alfafetoproteína (A.F.P.) e dos valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina (DCP).....	35
4. RESULTADOS.....	36

4.1. Análise das variáveis sexo e idade nos grupos brasileiros.....	37
4.2. Análise das variáveis sexo e idade nos pacientes japoneses.....	38
4.3. Análise da variável desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos grupos brasileiros.....	39
4.3.1. Análise da desgamacarboxiprotrombina(DCP) nos grupos brasileiros.....	40
4.3.2. Análise de regressão logística da variável desgamacarboxiprotrombina (DCP) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC.....	41
4.3.3. Análise de regressão logística considerando-se as variáveis desgamacarboxiprotrombina (DCP) e alfafetoproteína (A.F.P.) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC.....	41
4.3.4. Correlação entre a desgamacarboxiprotrombina (DCP) e alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos brasileiros.....	42
4.3.5. Análise dos valores plasmáticos da desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos grupos brasileiros.....	47
4.3.6. Avaliação da sensibilidade, especificidade, valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina (DCP) no grupo brasileiro com CHC.....	47
4.3.7. Avaliação da desgamacarboxiprotrombina (DCP) e da alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos CHC-B e CHC-J.....	48
4.3.8. Análise da variável tamanho do tumor e desgamacarboxiprotrombina DCP).....	49

4.4. Análise da alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos brasileiros...	53
4.4.1. Análise de regressão logística da alfafetoproteína (A.F.P.) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC.....	53
4.4.2. Avaliação da sensibilidade e especificidade da alfafetoproteína (A.F.P.)..	54
4.4.3. Análise da variável tamanho do tumor e alfafetoproteína (A.F.P.).....	55
4.5. Análise da variável tamanho do tumor.....	55
4.5.1. Análise da variável tamanho do tumor, entre os grupos CHC-B e CHC-J.	59
5. DISCUSSÃO.....	60
6. CONCLUSÃO.....	73
7. SUMMARY.....	75
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
9. ANEXOS.....	106



Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a contribuição de um novo marcador tumoral, a desgamacarboxiprotrombina (DCP), no diagnóstico do carcinoma hepatocelular (CHC) e compará-lo com a alfafetoproteína (A.F.P.). Foram estudados 124 pacientes, sendo 92 brasileiros e 32 japoneses. Os pacientes brasileiros foram divididos em cinco grupos: 19 pacientes com carcinoma hepatocelular (grupo I), 19 com cirrose hepática (grupo II), 17 com hemangioma hepático (grupo III), 17 com metástase hepática (grupo IV) e 20 com dispepsia, sem doença hepática (grupo V). Os pacientes japoneses constituíram um outro grupo com CHC.

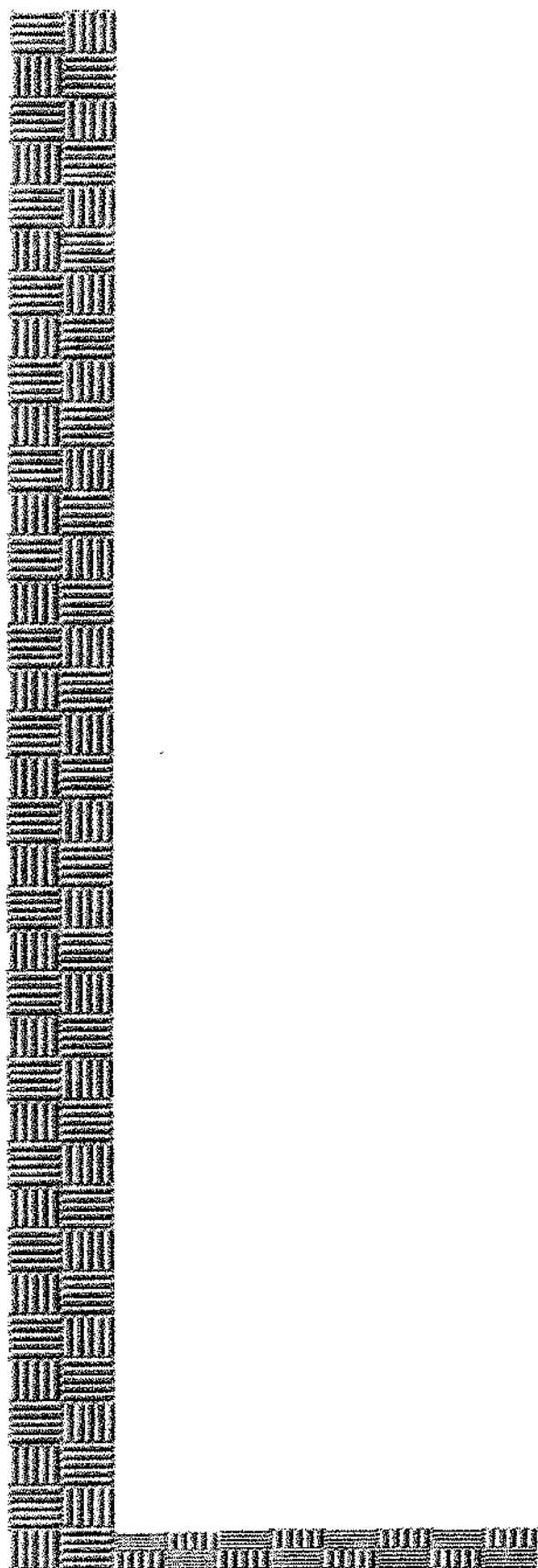
Os exames incluídos no protocolo foram: fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, tempo de protrombina (TP), expresso em RNI (International Normalized Ratio), A.F.P., DCP, ultrasonografia, tomografia computadorizada, sorologia para vírus B e C e biópsia hepática. Para o diagnóstico histológico do CHC, foi utilizado o grau de diferenciação histológico segundo Edmondson-Steiner.

A dosagem do nível plasmático da DCP foi realizada em todos os pacientes, utilizando-se o método de enzima imuno-ensaio (EIA) (E-1023: Eitest MONO - P - II, Eisai C., Ltd., Tokyo).

A positividade da DCP nos pacientes com CHC foi de 57,9%. Nos outros grupos, de 13,7%. A sensibilidade e especificidade foram de 57,9% e 86,3%, respectivamente. O valor predição positivo, de 52,4 % e negativo, de 88,7%.

A concentração plasmática da DCP apresentou-se elevada nos pacientes com tumores acima de 5,0 cm e naqueles com lesões multinodulares. Houve associação entre o nível plasmático de DCP e o nível sérico de A.F.P. nos pacientes com CHC ($n = 49$; $r = 0,58998$; $p = 0,0001$).

Concluiu-se que, a DCP é um marcador tumoral complementar para o diagnóstico do carcinoma hepatocelular e que sua combinação com a A.F.P. é importante, pois aumenta a taxa de positividade do diagnóstico do CHC.



1. Introdução

1.1. IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DO CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC)

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor hepático maligno primário mais freqüente em todo o mundo (OKUDA *et al.*, 1985; OKUDA, 1986b; CALVET *et al.*, 1990a; JOHNSON, 1993; DIAMANTIS *et al.*, 1994; KAR & CARR, 1995), chegando a ser um problema social importante em muitos países (OKUDA *et al.*, 1985), particularmente da Ásia e África (Subsaara) (EDMONDSON & PETERS, 1983; OKUDA, 1986a; WANEBO & VEZERIDIS, 1993).

A incidência do CHC varia de uma região geográfica para outra (OKUDA, PETERS, SIMSON, 1984; OKUDA *et al.*, 1985; GONÇALVES, PEREIRA, ZAGO, 1988), provavelmente, devido aos diferentes fatores etiológicos (OKUDA, 1992a). No entanto, é difícil determinar a real incidência do CHC, visto que a estatística é freqüentemente baseada no diagnóstico clínico, sem a confirmação histológica adequada (OKUDA, 1992a; CARRILHO, 1995). A incidência mundial tem sido estimada entre 0,25 a 1 milhão de casos novos por ano (DI BISCEGLIE *et al.*, 1988; CROCÉ *et al.*, 1993).

No Japão, a incidência do CHC tem aumentado nos últimos 20 anos (OKUDA, 1992b; SUGA *et al.*, 1994), sendo, agora, o terceiro tipo de câncer em homens e o quinto em mulheres. Apresenta uma taxa acima de 20 casos por 100.000 habitantes, anualmente (OKUDA, 1992a; KATO *et al.*, 1994). Atualmente, a freqüência de CHC é maior que 6% ao ano em pacientes com cirrose hepática (CH), nos quais realizou-se rastreamento (OKA *et al.*, 1990; OKUDA, 1992b).

Países como Cingapura, Zimbábue e Taiwan apresentam elevada incidência: 34, 65 e 100 casos por 100.000 habitantes por ano, respectivamente (WANEBO & VEZERIDIS, 1993). A Espanha e outras regiões do Mediterrâneo apresentam incidência intermediária, com taxa entre 5 e 20 casos por 100.000 habitantes por ano (CALVET *et al.*, 1990a; OKUDA, 1992a). Nos Estados Unidos, a incidência é baixa, em torno de 2,9/100.000 habitantes por ano, em homens, e 1,2/100.000 habitantes por ano, em mulheres (WANEBO & VEZERIDIS, 1993). No Brasil, a incidência do CHC é pouco elevada, sendo

maior no Norte, Nordeste e Sudeste, do que no Sul do País (GUEDES E SILVA *et al.*, 1984; GONÇALVES *et al.*, 1984; GONÇALVES *et al.*, 1988).

Mundialmente, o CHC é mais freqüente no sexo masculino, sendo a relação masculino/feminino em torno de 4:1 (DI BISCEGLIE *et al.*, 1988; CROCE *et al.*, 1993). No Brasil, tem sido observada maior predominância no sexo masculino (GUEDES *et al.*, 1984; GONÇALVES *et al.*, 1984).

O fator idade varia de acordo com as regiões geográficas onde se encontram os doentes, sendo menor em regiões com alta incidência e maior naquelas com média e baixa (GONÇALVES *et al.*, 1988).

O prognóstico do CHC é ruim (SHIOTA *et al.*, 1983; COTTONE *et al.*, 1989; OKA *et al.*, 1990). Este mau prognóstico é atribuído ao tamanho do tumor, múltiplos sítios de origem e a coexistência com cirrose hepática (CH) no momento do diagnóstico (CHEN *et al.*, 1982; WATANABE *et al.*, 1984).

No início da década de 60, os números diagnosticados isoladamente em autópsia, eram os mesmos (OKUDA *et al.*, 1987b; OKUDA, 1992b). No período de 1980-1983, o número de pacientes com CHC em autópsia excedeu o de pacientes com CH. A presença de CHC como complicação de CH, em autópsia, passou de 20 a 40%, para cerca de 80% (OKUDA *et al.*, 1992b). Cinco por cento dos pacientes com CH compensada têm CHC. Este percentual eleva-se para 15% nos pacientes com sangramento por rotura de varizes esofágicas (CALVET *et al.*, 1990a).

A cirrose hepática (CH) é amplamente reconhecida como um fator importante no desenvolvimento do CHC (OHNISHI *et al.*, 1982; EBARA *et al.*, 1986; QUEIROZ *et al.*, 1987; OKUDA *et al.*, 1989; CALVET *et al.*, 1990b; COLOMBO *et al.*, 1991; OKUDA & OKUDA, 1991; COLOMBO, 1993; TSUKUMA *et al.*, 1993; IMBERTI *et al.*, 1993; SUGA *et al.*, 1994; TSAI *et al.*, 1994; BALLARDINI *et al.*, 1994; FATTOVICH *et al.*, 1994; MIES & MASSAROLLO, 1995), provavelmente pelas alterações estruturais que provoca e por sua atividade replicativa associada à doença crônica (SHERMAN &

SHAFRITZ, 1984; POPPER & ACS, 1985; JOHNSON & WILLIAMS, 1987; SCHAFFNER, 1991). O significado da associação entre CHC e cirrose ainda é obscuro, já que não há, nas diferentes regiões do mundo, uma explicação consensual (COLOMBO, 1992; PIVA *et al.*, 1993). A regeneração celular na cirrose pode ser um fator oncogênico quando estiver associada com anormalidades do padrão hormonal, alterações no arranjo das células do parênquima hepático, produção alterada dos fatores de crescimento e expressão oncogênica anormal (JOHNSON & WILLIAMS, 1987; PIVA *et al.*, 1993).

Estudos epidemiológicos têm evidenciado um papel importante do vírus da hepatite B (VHB) no desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (KUBO *et al.*, 1977; PEREIRA *et al.*, 1977; BEASLEY *et al.*, 1981; BRÉCHOT *et al.*, 1982; OMATA *et al.*, 1982; POPPER, GERBER, THUNG, 1982; SAKUMA, TAKAHARA, OKUDA, 1982; NAKASHIMA *et al.*, 1982; PAGLIARO, SIMONETI, CRATI, 1983; GOVINDARAJAN, HEVIA, PETERS, 1984; RAIMONDO *et al.*, 1984; THE LIVER STUDY CANCER OF JAPAN, 1984; ZAMAN *et al.*, 1985; GONÇALVES *et al.*, 1986; THE LIVER STUDY CANCER OF JAPAN, 1987; OKUDA *et al.*, 1987b; POPPER, SCHAFFRITZ, HOOFNAGLE, 1987; BEASLEY, 1988; SAKUMA *et al.*, 1988; TANAKA & HATTORI, 1992; TANG *et al.*, 1993; BAC *et al.*, 1994). A associação entre o VHB e CHC foi proposta pela primeira vez na década de 50, porém, somente na década de 70, com o desenvolvimento de testes sorológicos, os detalhes epidemiológicos puderam ser melhor entendidos (JOHNSON, 1993). Há evidências do aparecimento de CHC em pacientes com infecção crônica por VHB ou em portadores de AgHBs. Em áreas com alta incidência de CHC há, também, elevada incidência de portadores de AgHBs, e, em regiões com baixo número de portadores de AgHBs há também baixa incidência de CHC (SHIKATA, 1992).

Definiu-se também que, o AgHBs está significativamente elevado em pacientes com CHC, quando comparados àqueles sem esta patologia ou grupo controle. Estudo realizado em Taiwan demonstrou que, 90% dos pacientes com CHC eram AgHBs positivos (OKUDA, 1992a). Entre certos animais infectados cronicamente por um vírus semelhante ao da hepatite B no homem (HepaDNA), ocorre espontaneamente o desenvolvimento de CHC (ROGLER, HINO, SU, 1987). Apesar de tantas evidências, o mecanismo de ação

preciso do VHB na patogênese do CHC é ainda especulativo (WATANABE *et al.*, 1994). Parece que a integração do VHB-DNA no genoma do CHC (SHIKATA, 1992) e nos tecidos com hepatite crônica, está freqüentemente associada com deleção e translocação cromossômicas (LEVRERO *et al.*, 1993; WATANABE *et al.*, 1994). Estudos prospectivos relatam que, pacientes com infecção persistente pelo VHB têm um risco 94 vezes maior de desenvolver CHC do que os não portadores do vírus B (BEASLEY, 1982; WATANABE *et al.*, 1994). No Japão, no início da década de 70, o VHB foi responsável por mais de 40% dos casos de CHC, utilizando-se a técnica de imunoprecipitação para o diagnóstico, mas, atualmente, empregando-se métodos mais sensíveis, corresponde a menos de 20% dos casos (SAKAMOTO *et al.*, 1988; OKUDA, 1992b).

Estudos realizados no Brasil revelaram também a associação do HVB com o CHC (GONÇALVES & PEREIRA, 1983; GONÇALVES *et al.*, 1984; GUEDES E SILVA *et al.*, 1984; GONÇALVES *et al.*, 1986a; GONÇALVES *et al.*, 1986b; GONÇALVES *et al.*, 1988; GONÇALVES & PEREIRA, 1991; MENDES, 1991; COTRIM *et al.*, 1992). Em São Paulo, CARRILHO *et al.* (1995) encontraram AgHBs em 34,1% dos pacientes com CHC. Na Bahia, COTRIM *et al.* (1988) observaram 42,5% de AgHBs reagente em 40 pacientes com CHC. No Espírito Santo, em 95 casos estudados de CHC, a freqüência de AgHBs positivo foi de 55% (GONÇALVES *et al.*, 1986b).

Em nosso País, no período de 1992 a 1994 foram diagnosticados 291 casos novos de CHC. Em 236 casos pesquisados, 39,4% apresentavam AgHBs positivo (GONÇALVES, PEREIRA, GAYOTTO, 1995).

O papel do vírus da hepatite C (VHC) no desenvolvimento do CHC tem sido discutido (GILLIAN, GEISINGER, RICHTER, 1984; COHEN, GANG, ZELDIS, 1987; KIYOSAWA *et al.*, 1990; KAKLAMANI *et al.*, 1991; LEVRERO *et al.*, 1991; OKUDA, 1992a; SHIKATA, 1992; RUIZ *et al.*, 1992; RESNICK & KOFF, 1993; TOMIMATSU *et al.*, 1993; HARUNA *et al.*, 1994; SILINI *et al.*, 1995; CASTELLS *et al.*, 1995). No Japão, estudo recente sugere que 83 % dos pacientes com CHC são anti-VHC positivos. No entanto, a integração do genoma VHC no DNA hospedeiro ainda não foi confirmada. A

hepatocarcinogênese, nos pacientes VHC positivos com CH, permanece desconhecida (WATANABE *et al.*, 1994).

A infecção pelo VHC apresenta elevada morbidade e mortalidade. Sua origem e achados clínicos são bastante heterogêneos. Tornam-se crônicos em torno de 50 a 60 % dos casos (ALTER, 1990; ALTER *et al.*, 1992; KORETZ *et al.*, 1993; SILINI *et al.*, 1995), apresentando curso clínico insidioso e assintomático, evoluindo para CH em aproximadamente 20% dos pacientes num período de 10 anos (KIYOSAWA *et al.*, 1990; DI BISCEGLIE *et al.*, 1991). Destes, 15% podem apresentar CHC (ALTER, 1990), com incidência anual de 3% (COLOMBO *et al.*, 1991).

O VHC é um vírus RNA (CHOO *et al.*, 1989) sendo, mundialmente, a maior causa de hepatite pós-transfusional e esporádica não-A e não-B. Muitos pacientes infectados pelo VHC podem ser diagnosticados através de testes sorológicos, padronizados para anti-VHC, e através da detecção do VHC-RNA, por PCR, ou por ambos os métodos (MAHANEY *et al.*, 1994). No Brasil, dados relativos à associação de VHC com CHC foram pesquisados em 193 pacientes com CHC, e 26,9% apresentaram VHC (GONÇALVES *et al.*, 1995). Não há dúvida de que o VHC e VHB têm importante papel na patogênese do CHC, apesar do mecanismo da carcinogênese hepática ainda permanecer desconhecido (DIAMANTIS *et al.*, 1994; WATANABE *et al.*, 1994; HARUNA *et al.*, 1994), consistindo, provavelmente, num processo complexo, que envolve fatores extracelulares e mecanismos intracelulares de controle da proliferação (BALLARDINI *et al.*, 1994).

O vírus da hepatite D (VHD) parece não ter um papel importante no desenvolvimento do CHC, e os trabalhos demonstram uma prevalência muito baixa dos marcadores deste vírus (GOVINDARAJAN, *et al.*, 1984; RAIMONDO *et al.*, 1984).

O etanol não é carcinogênico por si só, porém, estudos epidemiológicos sugerem que ele exerce um papel indireto na carcinogênese hepática (LIEBER *et al.*, 1986; PEREIRA & GONÇALVES, 1990). Ressalta-se pacientes com CH alcoólica e AgHBs positivos, que desenvolvem CHC, têm idade média 10 anos abaixo daquela dos cirróticos

não alcoólicos, que também apresentam CHC (OHNISHI *et al.*, 1982; GONÇALVES *et al.*, 1986b; COTRIM, 1988).

A aflatoxina é uma micotoxina produzida pelo *Aspergillus flavus* que está envolvida na carcinogênese (OKUDA & SUZUKI, 1981). Dos vários análogos, a aflatoxina B1 é o mais tóxico (OKUDA & OKUDA, 1991). Em certas regiões da África, onde há contaminação alimentar causada por grãos de amendoim, existe maior freqüência de CHC (GONÇALVES & PEREIRA, 1991). No entanto, não existe prova direta de que a aflatoxina cause CHC no homem (ALPERT *et al.*, 1971; PEERS & LINCELL, 1973). Recentemente, tem sido demonstrado que existe relação entre exposição a aflatoxina e a presença de mutação no gene p53, que é supressor de tumor, favorecendo o surgimento do CHC (LEWIN, 1995).

A associação entre CHC e contraceptivos orais é discutível (OKUDA & OKUDA, 1991). É provável que esta relação seja mais casual do que causal (GOODMAN & ISHAR, 1982; OKUDA, 1992b). Por outro lado, sabe-se que o adenoma hepatocelular e a hiperplasia nodular focal estão associados ao uso de anticoncepcionais (OKUDA & OKUDA, 1991; RAVOET, BLEIBERG, GERARD, 1993).

A hemocromatose primária freqüentemente é acompanhada de CHC (NAKANUMA *et al.*, 1990). Em alguns estudos, a incidência de carcinoma hepatocelular em pacientes com hemocromatose primária foi de 4,5% a 18,9%. A taxa de ferro parece estar relacionada diretamente com a carcinogênese (BLUMBERG *et al.*, 1990).

A CH, principalmente nos casos de etiologia por vírus B e C, forma um grupo de alto risco para o desenvolvimento do CHC. Assim, o crescente conhecimento de tal associação fez aumentar o interesse pelo estudo desta patologia, especialmente no Japão, Itália e Estados Unidos. O acompanhamento sistemático destes pacientes tem grande relevância, já que possibilita o diagnóstico precoce do CHC, que, por sua vez, trará melhor alternativa terapêutica e maior sobrevida.

No Brasil, os avanços recentes dos meios diagnósticos, particularmente os de imagens, têm permitido maior número de diagnósticos do CHC, o que aumentou o interesse por esta patologia (GONÇALVES *et al.*, 1995).

1.2. DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC) POR MÉTODO DE IMAGEM

O avanço nos vários métodos de diagnóstico por imagens, como a ultrasonografia (US), tomografia computadorizada (TC), ressonância magnética (RM) e arteriografia hepática (AH), mudou a estratégia do diagnóstico nos casos precoces do CHC (SHINAGAWA *et al.*, 1984; WATANABE *et al.*, 1984).

Na prática clínica, a introdução da US de tempo real, utilizando-se transdutor linear e convexo de alta resolução, tornou este método muito útil na detecção do CHC de tamanho pequeno (OHTO, KIMURA, SHINAGAWA, 1980; OKUDA, 1981; TAKASHIMA *et al.*, 1982; SHEU *et al.*, 1984; TANAKA *et al.*, 1986; TANAKA *et al.*, 1990; SHEU *et al.*, 1985; OKA *et al.*, 1990; GARCIA *et al.*, 1995). No entanto, sua capacidade diagnóstica depende da experiência do examinador (SHINAGAWA *et al.*, 1984).

A facilidade proporcionada pela ultra-sonografia, que pode ser realizada em ambulatório ou na enfermaria, e o fato de ser não-invasiva, inócua e de baixo custo, tornou o seu uso cada vez mais freqüente.

O fígado é um excelente órgão para ser avaliado pela US, especialmente na detecção do CHC pequeno. No indivíduo normal, o parênquima hepático é visto como uma estrutura de padrão ecogênico fino e homogêneo, borda hepática aguda e superfície lisa. Bordas rombas, superfície irregular, hipertrofia de lobo caudado, alargamento do lobo hepático direito e atrofia do fígado, geralmente sugerem doença hepática crônica (YAMANAKA, 1992). As alterações focais do parênquima podem ser facilmente reconhecidas como imagens hiperecogênicas, hipoeecogênicas, isoecogênicas ou anecóicas.

Há três tipos de imagem sugestivo de CHC: hipoecogênico, isoecogênico e hiperecogênico. Geralmente o padrão é homogêneo, mas, em alguns casos, apresenta-se com aspecto heterogêneo (padrão mosaico ou tipo misto) (SAGAKUCHI, TOHARA, OKA, 1992).

Os aspectos ultra-sonográficos sugestivos de CHC são: lesão hipoecogênica com halo (pseudocápsula), padrão mosaico, sombra acústica lateral e reforço acústico posterior (SHEU *et al.*, 1984; TANAKA *et al.*, 1986).

A ultra-sonografia pode detectar lesões de 1,0 cm de diâmetro, porém, sua acurácia é baixa para lesões situadas abaixo do diafragma, especialmente na região súpero-lateral do lobo direito. Como complementação do método, se houver lesão suspeita, a citologia aspirativa e a biópsia podem ser feitas guiadas pelo US (KOBAYASHI *et al.*, 1985).

Para detectar-se lesão pequena do CHC, a efetividade da US tem sido largamente aceita (TAKASHIMA *et al.*, 1982; TANAKA *et al.*, 1986; KOBAYASHI *et al.*, 1985; WATANABE *et al.*, 1986; GANDOLFI *et al.*, 1987; COTTONE *et al.*, 1994). Estudos demonstraram sensibilidade de 90% e especificidade de 93% no diagnóstico do CHC, com este método (COTTONE *et al.*, 1983; MARINGHINI *et al.*, 1988).

No entanto, às vezes torna-se difícil avaliar todo o parênquima hepático pela US, em virtude dos arcos costais, ar nas alças intestinais ou pulmão, densidade do tecido gorduroso e especialmente em fígado atrófico. Nestes pacientes a tomografia computadorizada (TC) tem papel importante como complemento do exame ultra-sonográfico. A TC é também relevante para visualizar-se a lesão e sua relação com o tecido hepático ao redor da mesma, determinando sua localização e extensão (MATSUI & ITAI, 1992).

Apesar das vantagens apresentadas, a TC é menos precisa que a US no diagnóstico de CHC com diâmetro inferior a 2,0 cm. Estes dois métodos devem ser

complementares e realizados periodicamente em pacientes com alto risco de desenvolverem CHC.

A TC pode ser realizada em associação com a angiografia, existindo três combinações entre estes dois métodos: TC durante a infusão de contraste na artéria hepática (TCA), TC durante portografia arterial (TCPA) e TC após infusão de Lipiodol intra-arterial (TC Lipiodol) (MATSUI & ITAI, 1992). As lesões com menos de 3,0 cm de diâmetro são adequadamente detectadas por esses métodos. A Angio-TC define melhor as lesões hipovascularizadas com menos de 3,0 cm do que a angiografia isolada (TAKAYASU *et al.*, 1986).

Em estudo retrospectivo, realizado no Japão, comparando os métodos de imagens em 100 pacientes que apresentavam CHC com lesões até 3,0 cm de diâmetro, foram encontrados os seguintes resultados em relação a sensibilidade: angiografia (81%), angio-TC (82%), US (84%), TCPA (91%), TC Lipiodol (93%), e ultra-sonografia intra-operatória (96%) (TAKAYASU *et al.*, 1990).

1.3. MARCADORES TUMORAIS NO DIAGNÓSTICO DO CARCINOMA HEPATOCELULAR (CHC)

1.3.1. Alfafetoproteína

A alfafetoproteína (A.F.P.) é uma glicoproteína que contém 4 % de açúcar em sua estrutura molecular (TAKETA, 1990) . Foi identificada pela primeira vez em 1956 na espécie humana. É uma proteína sérica composta de 590 resíduos de aminoácidos, com peso molecular de 72.000 dáltons e mobilidade eletroforética entre albumina e alfa-1-globulina. Apresenta concentração elevada durante o período fetal (McINTIRE *et al.*, 1975; WEPSIC & KIRKPATRICK, 1979; GIBBS *et al.*, 1987; KELSTEN *et al.*, 1988; GREENBERG,

ROSE, ALPERT, 1990; TOUKAN, KIMBALL, ALPERT, 1990; BALL, ROSE, ALPERT, 1990; BEASTALL *et al.*, 1991).

No início da gestação é produzida pelo saco vitelino e mucosa do trato gastrointestinal, porém, na oitava semana de desenvolvimento, o fígado ultrapassa em tamanho o saco vitelino e torna-se o local de maior síntese de A.F.P. (GITLIN & BOESMAN, 1967; WEPSIC & KIRKPATRICK, 1979). Durante o segundo e terceiro trimestre de gravidez ocorre aumento do nível sérico de A.F.P. materno. A determinação sérica de A.F.P. tem sido considerada efetiva no rastreamento de malformação fetal, como distúrbio do tubo neural e síndrome de Down, em gestante de alto risco (ALPERT, 1976; MILUNSKY *et al.*, 1980; ADRIAN, BISCEGLIE, HOOFNAGLE, 1989).

Após o nascimento, os níveis séricos de A.F.P. declinam, atingindo uma baixa concentração em torno do sexto ao oitavo mês de vida (WU, BOOK, SUDAR, 1981), e mantêm-se assim no adulto (GREENBERG, *et al.*, 1990). Vários autores demonstraram, através da técnica de radio-imunoensaio (RIA), que A.F.P. se encontra no soro de indivíduos normais, e que os níveis séricos aumentam regularmente com a idade (MARTEL, TUYNS, SIZARET, 1977).

FERGUSON-SMITH *et al.* (1984), e STAPLES (1986) relataram a elevação dos níveis séricos de A.F.P. hereditária, como traço autossômico dominante. Outras patologias, associadas com a elevação de A.F.P. sérica, incluem hemocromatose (CHAYVIALLE *et al.*, 1977), tirosinemia hereditária (TAKETA, 1990), telangiectasia-ataxia (WALDMANN & McINTIRE, 1972), hepatite e cirrose hepática (BERGMANN *et al.*, 1985; SUGIMOTO *et al.*, 1987; LOK & LAI, 1989).

A elevação sérica de A.F.P. varia de 31 a 52 % nos pacientes com hepatite aguda, de 15 a 58% naqueles com hepatite crônica e, de 11 a 47 % nos portadores de cirrose hepática. A A.F.P. apresenta, nestas patologias, níveis séricos acima de 10 ou 20 ng/ml (SILVER *et al.*, 1974; CHEN & SUNG, 1977; ALPERT & FELLER, 1978).

Em certas condições malignas, tais como: câncer de estômago (WALDMANN & McINTIRE, 1974; McINTIRE *et al.*, 1975), de pulmão (YOSHIMOTO *et al.*, 1987), do trato biliar (BROWN & ROBERTS, 1992), do pâncreas, metástase hepática, linfoma e CHC, podem ser encontradas, ocasionalmente, elevações de A.F.P. sérica. (WEPSIC & KIRKPATRICK, 1979; TAKETA, 1990).

Como marcador tumoral, a determinação da A.F.P. sérica tem indicação nos tumores primários do fígado: CHC em adultos e hepatoblastoma em crianças (BEASTALL *et al.*, 1991).

A associação entre A.F.P. sérica e CHC foi demonstrada em camundongos pela primeira vez por ABELEV *et al.* (1963). Tatarinov, detectou a presença de níveis elevados de A.F.P. em pacientes com CHC (TAKETA, 1990). Posteriormente, observou seis casos, sugerindo ser A.F.P. um marcador para o CHC (TATARINOV & NOGALLER, 1966).

A partir de então, a importância da elevação sérica de A.F.P. no diagnóstico de CHC foi bem documentada por outros autores (ALPERT, URIEL, deNECHAUD, 1968; SMITH & TODD, 1968; BLOOMER, 1980), sendo, esta glicoproteína, atualmente utilizada como marcador tumoral para o diagnóstico de CHC em adultos, hepatoblastoma em crianças (TAKETA, 1990; BEASTALL *et al.*, 1991), e no rastreamento de pacientes considerados de alto risco - portadores de cirrose hepática associada a vírus B e(ou) C - para o desenvolvimento do CHC (SHEU *et al.*, 1985; HEYWARD *et al.*, 1985; COTTONE *et al.*, 1988; MARINGHINI *et al.*, 1988; TREMOLDA *et al.*, 1989; COLOMBO *et al.*, 1991; SHIBATA *et al.*, 1991; KASHALA *et al.*, 1992).

Nos últimos anos, estudos têm enfatizado o uso de A.F.P. sérica como marcador tumoral na detecção do CHC pequeno - lesão menor ou igual a 2,0 cm (OKUDA *et al.*, 1975; CHAYVIALLE *et al.*, 1977; CHEN *et al.*, 1982; CHEN *et al.*, 1984; SHEU *et al.*, 1985; COTTONE *et al.*, 1988; LOK & LAI, 1989; HIROHASHI & SAKAMOTO, 1992; OKA *et al.*, 1994), e no avançado (ALPERT *et al.*, 1968; SMITH & TODD, 1968; WEPSIC & KIRKPATRICK, 1979; ADRIAN *et al.*, 1989; TAKETA, 1990).

Embora se trate de um marcador tumoral usado mundialmente, alguns estudos têm apresentando baixa sensibilidade, em torno de 38,7% (SHIBATA *et al.*, 1991), 40,0% (CRISTIANI *et al.*, 1994) e 46,6% (MARINGHINI *et al.*, 1988) no diagnóstico de CHC pequeno. No entanto, quando são utilizados valores de A.F.P. sérica acima de 400 ng / ml (RIA) ou acima de 500 ng / ml (RIA), estes são considerados específicos (SELL, 1981; COTTONE *et al.*, 1988; MARINGHINI *et al.*, 1988).

Estudos realizados em três grupos de pacientes com CHC encontraram elevação sérica de A.F.P. acima de 400 ng/ml em 16,7% dos pacientes, cujos tumores apresentavam diâmetros menores ou iguais a 2,0 cm, em 25% daqueles com CHC entre 2,0 - 3,0 cm e, em 39% dos CHC entre 3,0 - 5,0 cm . Este mesmo estudo demonstrou elevação sérica de A.F.P. acima de 100 ng/ml em 50% dos pacientes que apresentavam CHC com diâmetros entre 2,0 - 3,0 cm e, em 36% dos CHC menores ou iguais a 2,0 cm (SAWABU *et al.*, 1991).

Nem todos CHC secretam A.F.P.. Os níveis séricos de A.F.P. podem ser normais em mais de 40% dos pacientes com CHC pequeno (CHEN *et al.*, 1984; SHEU *et al.*, 1985; LOK & LAI, 1989). Mesmo em casos de CHC avançado, os níveis séricos de A.F.P. permanecem normais em 15 à 20% dos pacientes (CHEN & SUNG, 1977; LOK & LAI, 1989). É provável que os níveis séricos de A.F.P. estejam relacionados com o tamanho do tumor no momento do diagnóstico, seu curso clínico e padrão histológico.

Em relação ao grau de diferenciação histológico, os pacientes com CHC pobremente diferenciado, têm níveis séricos de A.F.P. mais elevados do que aqueles com tumores bem diferenciados (MATSUMOTO *et al.*, 1982; NOMURA, OHNISHI, TANABE, 1989; SASAKI *et al.*, 1996).

A determinação sérica de A.F.P., isolada, é considerada insuficiente para o diagnóstico de CHC . Muitos pacientes com tumor precoce apresentam níveis normais ou baixos (SHIRAKI *et al.*, 1995) e, níveis elevados são encontrados em doenças hepáticas benignas (ALPERT & FELLER, 1978; LOK & LAI, 1989). Portanto, estudos com outros marcadores tumorais são necessários para o diagnóstico de CHC.

1.3.2. Desgamacarboxiprotrombina (DCP)

A desgamacarboxiprotrombina (DCP) é um marcador utilizado no diagnóstico de CHC. Trata-se de uma protrombina anormal, cujo aumento é induzido pela deficiência de vitamina K ou antagonista-II, sendo, por este motivo, também denominada de PIVKA-II (LIEBMAN *et al.*, 1984; FUJIYAMA *et al.*, 1986; SOULIER, GOZIN, LEFRERE, 1986; OKUDA *et al.*, 1987a; HATTORI *et al.*, 1988; FUJIYAMA *et al.*, 1988; WEITZ & LIEBMAN, 1993; SUEHIRO *et al.*, 1994).

A protrombina (Fator II) é uma proteína da coagulação sangüínea, dependente da vitamina K, com peso molecular de 72.000 daltons(d) (TAGAWA, OMATA, OHTO, 1992). É sintetizada no fígado em sua forma biologicamente inativa, que contém 10 resíduos de ácido glutâmico (GLU). Esta protrombina inativa é convertida em sua forma ativa, após gamacarboxilação no retículo endoplasmático rugoso do hepatócito normal, em ácido gamacarboxiglutâmic (GLA), que têm a propriedade de adsorver o cálcio, importante na coagulação .

O sistema enzimático gamacarboxilase do hepatócito requer a vitamina K como co-fator no mecanismo dessa conversão. Assim, nos pacientes com deficiência de vitamina K ou que receberam antagonista desta, por exemplo, Warfarin, ocorre inibição da atividade da carboxilase. O ácido glutâmico (GLU) não é convertido em ácido gamacarboxiglutâmico (GLA), promovendo, assim, a liberação, na corrente sangüínea, de uma protrombina anormal (desgamacarboxiprotrombina) (BLANCHARD *et al.*, 1981; LIEBMAN, FURIE, FURIE, 1982; ONO *et al.*, 1990; TAGAWA *et al.*, 1992).

GANROT & NILEHN (1968) foram os primeiros a descrever uma protrombina anormal no plasma de pacientes que recebiam dicumarol (antagonista da vitamina K).

Posteriormente, BLANCHARD *et al.* (1981) mediram os níveis plasmáticos de DCP em pacientes com deficiência severa de vitamina K, em uso de antagonista desta vitamina e com doenças hepáticas, usando um anticorpo policlonal específico contra DCP. Os autores observaram que, os níveis plasmáticos de DCP retornaram aos valores normais

após administração de vitamina K. Entretanto, os baixos níveis de DCP nos pacientes com cirrose hepática e hepatites não se normalizaram após a reposição de vitamina K, sugerindo um distúrbio adquirido no sistema enzimático de carboxilação (BLANCHARD *et al.*, 1983).

LIEBMAN *et al.* (1984), usando um método competitivo por radio-imunoensaio (RIA) com anticorpo policlonal convencional, detectaram a elevação da concentração plasmática de DCP em 91% dos pacientes com CHC.

SOULIER *et al.* (1986) desenvolveram um método cromogênico para DCP utilizando *Staphylococcus coagulase*. Usando este método, os autores encontraram elevação de DCP no plasma, em 75% dos pacientes com CHC confirmado, histologicamente, não tendo sido observado aumento de DCP no plasma de pacientes com metástase hepática de outros tipos de câncer. Este estudo demonstrou que, a DCP é um marcador tumoral mais específico e sensível do que a A.F.P. no diagnóstico de CHC.

Recentemente, Motohara desenvolveu um método mais sensível que o mencionado, para avaliar DCP no plasma de pacientes com CHC, utilizando um anticorpo monoclonal monoespecífico (ELISA), preparado pela técnica de hibridização celular. O pesquisador demonstrou, que o método era útil no diagnóstico de CHC. Este anticorpo reage somente com a protrombina anormal e não apresenta reação cruzada com a protrombina plasmática normal (MOTOHARA *et al.*, 1985; MOTOHARA *et al.*, 1987; NAKAO *et al.*, 1991a; NAKAO *et al.*, 1991b).

Mais recentemente, NARAKI, WATANABE, SHIMOZORU (1986) desenvolveram um novo "kit" denominado E-1023 (Eitest Mono P-II) para a detecção de DCP, usando um sistema de duplo anticorpo, com anticorpos monoclonal para o DCP e policlonal para protrombina. Tal método é mais simples que o desenvolvido por Motohara. Vários métodos enzimáticos e imunoquímicos têm sido desenvolvidos para medir os níveis de DCP no sangue. No entanto, não se consegue garantir que eles meçam a mesma espécie de DCP, pelo fato de variações de GLA terem sido observadas em DCP isolado de pacientes com CHC. Conseqüentemente, deve ser considerado que há diferenças entre os métodos para medir DCP (LIEBMAN, 1989).

Utilizando o método *Staphylococcus coagulase*, pesquisadores relataram que, 54 de 75 pacientes com diagnósticos de CHC confirmado por biópsia, apresentavam elevação de DCP no plasma. Em 29 pacientes foi encontrado elevação de DCP e A.F.P.; em 25 houve somente elevação de DCP; e 9 apresentaram níveis séricos normais de DCP, com aumento de A.F.P.. Em 12 pacientes os marcadores tumorais foram negativos (WEITZ & LIEBMAN, 1993)

OKUDA *et al.* (1987a) empregando o método desenvolvido por Motohara, observaram elevação plasmática de DCP em 57,7% dos pacientes com CHC. Neste mesmo estudo, doses de vitamina K foram aplicadas em cinco pacientes com CHC. Tal tratamento resultou numa diminuição transitória dos níveis de DCP no plasma. Em um paciente apenas, o nível de DCP estava abaixo daquele considerado para diagnóstico. Duas a três semanas após o início do tratamento, os níveis sanguíneos de DCP retornaram aos valores de pré-tratamento em todos os pacientes.

FUJIYAMA *et al.*, (1988), utilizando o sistema de duplo anticorpo (EIA), desenvolvido por NARAKI *et al.* (1986), encontraram elevação plasmática de DCP em 63,3% (76 de 120) dos pacientes com CHC. TSAI *et al.* (1990), empregando o mesmo método, verificaram elevação plasmática de DCP em 19% dos pacientes com CHC pequeno (4 de 21).

TANABE *et al.*, (1988) usaram um anticorpo monoclonal específico (ELISA), ao estudarem a elevação dos níveis plasmáticos de DCP de 18 pacientes com CHC, cujo diâmetro era menor ou igual a 5,0 cm, e encontraram DCP elevada em apenas 3 pacientes (16,6%).

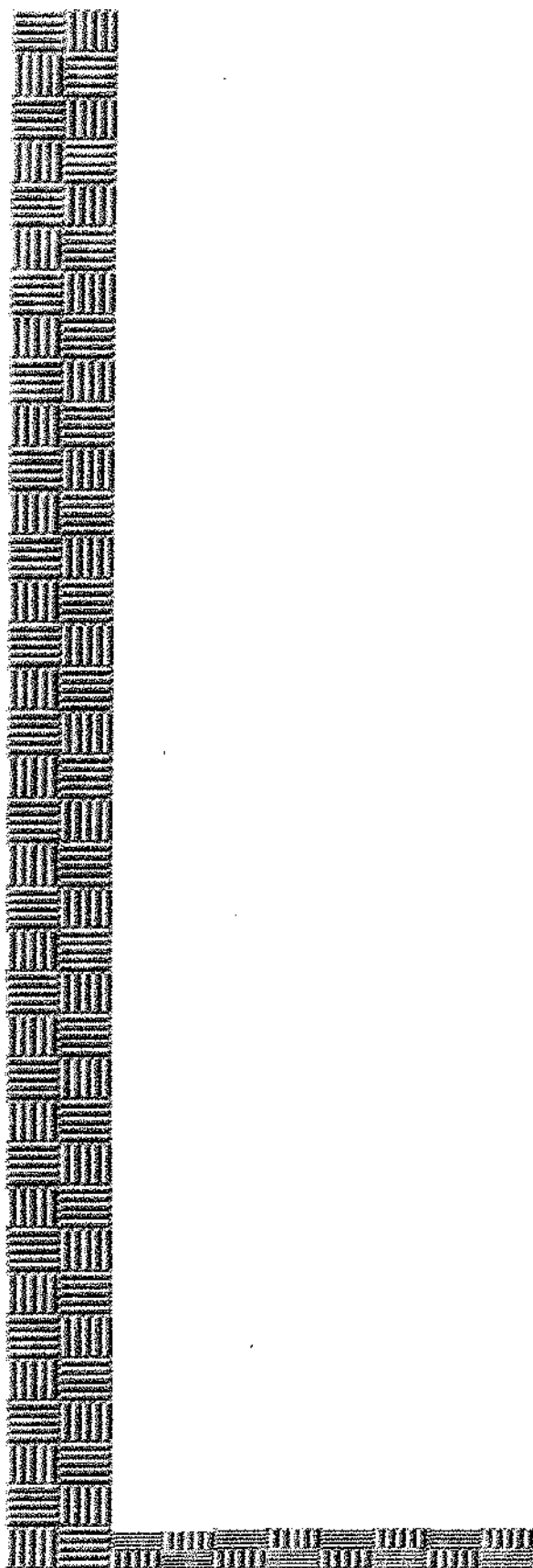
Outros estudos medindo a concentração de DCP no plasma, com o uso também do "kit" EIA (EITEST Mono-P-II), demonstraram que não houve elevação de DCP nos pacientes com tumor único, cujo diâmetro era menor que 2,0 cm. Ocorreu elevação somente em 30,8% com tumor entre 2,0 - 5,0 cm, em 83,3% com tumor maior que 5,0 cm, e em 63,2% com múltiplos tumores. Assim, a elevação de DCP no plasma parece estar relacionada com o tamanho e a multiplicidade das lesões (KASAHARA *et al.*, 1993).

A dificuldade dos métodos correntes para detectarem a elevação de DCP em CHC pequeno, pode estar relacionada a heterogeneidade de expressão das células do tumor em secretar DCP. Talvez em pacientes com tumores maiores haja um número mais elevado de células que secretem DCP, facilitando sua detecção. Os níveis de DCP no plasma de pacientes com metástase hepática, cirrose e hepatite crônica, foram inferiores a 0,3 U.A/ml (menos de 300 ng/ml). Um percentual abaixo de 5,0% com doença hepática não-maligna que apresentam elevação de DCP acima de 0,1 U.A/ml (menos de 100 ng/ml) (WEITZ & LIEBMAN, 1993).

Estudo realizado por FUJIYAMA *et al.* (1991) encontrou DCP elevada no plasma em 6,7% dos pacientes com metástase hepática, em 2,2% daqueles com hepatite crônica ativa e em 3,7% dos pacientes com cirrose hepática .

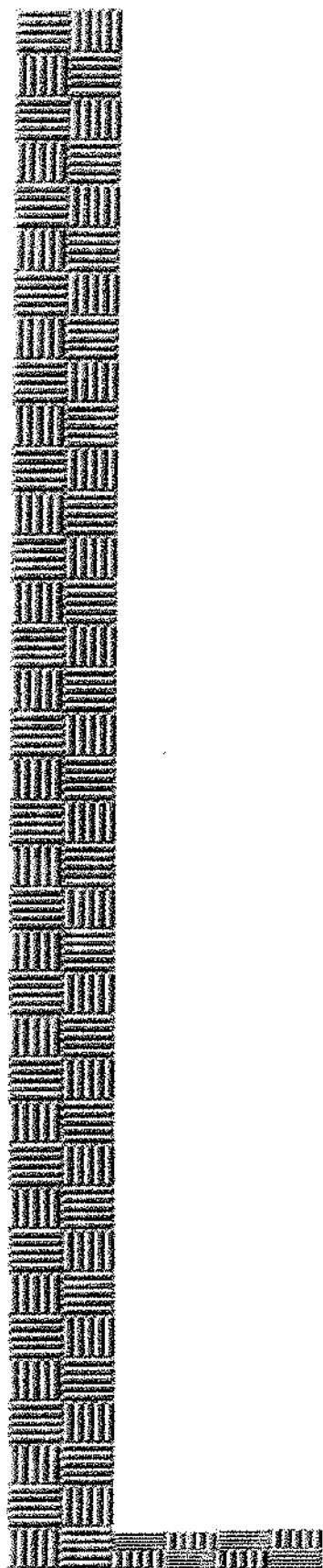
Diagnosticar-se CHC pequeno, isto é, lesão menor que 2,0 cm (OKUDA, 1986a; KANAI *et al.*, 1987), faz-se necessário, para que a melhor forma de tratamento seja escolhida, e, assim, aumentar-se a sobrevida dos pacientes. Apesar da grande evolução nos métodos de imagem, como a ultra-sonografia, tomografia computadorizada, arteriografia e ressonância magnética, é essencial pesquisarem-se novos procedimentos que elevem a sensibilidade e especificidade do diagnóstico do CHC.

No Japão, a detecção de DCP é utilizada em vários centros. Assim, a possibilidade do emprego, em nosso País, de marcadores tumorais sorológicos sensíveis no diagnóstico de CHC, ou mesmo como “screening” no acompanhamento de pacientes com cirrose hepática, motivou a realização do presente estudo.



2. Objetivos

- 2.1. Estudar a contribuição da desgamacarboxiprotrombina no diagnóstico do carcinoma hepatocelular.
- 2.2. Avaliar a contribuição da desgamacarboxiprotrombina no diagnóstico diferencial entre o carcinoma hepatocelular e outras doenças hepáticas.
- 2.3. Comparar a desgamacarboxiprotrombina com a alfafetoproteína no diagnóstico do carcinoma hepatocelular.
- 2.4. Avaliar a sensibilidade, especificidade, valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina no diagnóstico do carcinoma hepatocelular.



3. Casuística e Método

3.1. CASUÍSTICA

O estudo foi realizado em 124 indivíduos, 92 dos quais inscritos no Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP e atendidos na Disciplina de Gastroenterologia Clínica, no período de 1991 a 1995.

Os 32 indivíduos restantes eram japoneses, acompanhados no Serviço de Gastroenterologia do Hospital da Universidade de Toyama (Toyama Medical and Pharmaceutical University), Japão, atendidos em 1994.

A primeira parte da pesquisa, realizada no Brasil, constou de cinco grupos de indivíduos pareados por sexo e idade:

- a) Grupo I - 19 pacientes brasileiros com carcinoma hepatocelular (CHC-B), todos do sexo masculino, com idades variando entre 29 a 87 anos, com média de 61,2 anos (desvio padrão de 12,4).
- b) Grupo II - 19 pacientes com cirrose hepática (CH), 5 do sexo feminino e 14 do masculino, com idades variando entre 13 a 72 anos, com média de 46,2 anos (desvio padrão de 14,3).
- c) Grupo III - 17 pacientes com hemangioma hepático (HH), 11 do sexo feminino e 6 do masculino, com idades variando entre 31 a 81 anos, com média de 53,9 anos (desvio padrão de 13,7).
- d) Grupo IV - 17 pacientes com metástase hepática (MH), 11 do sexo feminino e 6 do masculino, com idades variando entre 45 a 76 anos, com média de 59,3 anos (desvio padrão de 8,8).
- e) Grupo V - 20 pacientes com dispepsia e sem doenças hepáticas constituíram o grupo controle (C), 7 do sexo feminino e 13 do masculino, com idades variando entre 30 a 78 anos, com média de 60,5 anos (desvio padrão de 12,0). Estes pacientes procederam do Ambulatório de Dispepsia, tendo sido excluída a doença gastrointestinal.

A segunda parte do estudo incluiu os indivíduos estudados no Japão, com as seguintes características: 32 pacientes japoneses com carcinoma hepatocelular (CHC), 8 do sexo feminino e 24 do masculino, com idades variando entre 45 a 79 anos, com média de 61,7 anos (desvio padrão de 8,8).

Todos os pacientes foram atendidos no Ambulatório de Hepatologia da Universidade de Toyama (Toyama Medical and Pharmaceutical University), na cidade de Toyama (Japão), sendo alguns acompanhados pelo autor deste trabalho, durante o período de setembro a dezembro de 1994, no Terceiro Departamento de Clínica Médica, Serviço do Professor Watanabe.

Os demais pacientes foram examinados no Ambulatório de Fígado, na Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

O atendimento deste ambulatório é feito por um grupo de Médicos e Docentes da UNICAMP. Na presença de CHC ou suspeita de haver lesão focal hepática, os pacientes eram encaminhados ao Ambulatório de Lesões Focais Hepáticas da Disciplina de Gastroenterologia - UNICAMP, para confirmação diagnóstica. No Ambulatório eram acompanhados pelo mesmo médico, de acordo com o protocolo anexo (anexo 1). A partir da definição diagnóstica, eram agrupados em: carcinoma hepatocelular, metástase hepática, hemangioma hepático ou apenas cirrose hepática sem lesões focais.

Os critérios de inclusão foram os seguintes: pacientes adultos que apresentassem condições de ser acompanhados ambulatorialmente, com suspeitas de CHC, MH ou HH e que haviam sido encaminhados ao nosso Serviço, além dos pacientes com CH e controles sem lesões focais.

Foram excluídos deste trabalho os pacientes que estivessem em uso de inibidores de vitamina K nos últimos dois meses (dicumarol), pacientes em uso de antibióticos e aqueles com outras patologias malignas.

Todos os exames eram realizados rotineiramente pelo Serviço de Gastroenterologia Clínica na investigação das respectivas patologias. Aos pacientes eram

explicada as seqüências de exames que seriam feitas após a obtenção de consentimento. Os indivíduos controles, sem patologia hepática, deram permissão para que os exames fossem realizados (US e coleta de sangue).

3.2 . MÉTODO

Os pacientes seguiram um protocolo que, além de dados epidemiológicos, incluía a realização dos seguintes exames: fosfatase alcalina (FA), gamaglutamiltransferase (GGT), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), tempo de protrombina expresso em “ratio normalized international” (RNI), alfafetoproteína (A.F.P.), desgamacarboxiprotrombina (DCP), ultra-sonografia (US), tomografia computadorizada (TC), sorologia para vírus B e C .

Os resultados de FA e GGT foram padronizados em número de vezes o valor normal (anexo 1).

3.2.1. Critérios para o diagnóstico de Carcinoma Hepatocelular

O critério utilizado para o diagnóstico do CHC foi a presença de um ou vários sinais detectados pelos métodos a seguir:

a) Ultra-sonografia

Os exames ultra-sonográficos foram realizados em todos os pacientes utilizando-se um aparelho de tempo real Toshiba Medical Systems Diagnostic Ultrasounds, Model SSA - 250 A (20730-116EC), com transdutor linear, convexo (3,75 Mhz).

Os principais achados ultra-sonográficos, característicos de CHC incluem:

- 1 - Lesão hipoecogênica, arredondada com halo periférico ou zona marginal hipoecogênica (cápsula fina) (fig. 1)

- 2 - Estrutura interna complexa, heterogênea (padrão mosaico) (fig.2)
- 3 - Presença de sombra acústica bilateral (fig. 3).
- 4 - Reforço acústico posterior, refletindo atenuação pelo tecido tumoral (TANAKA *et al.*, 1986; SAKAGUCHI *et al.*, 1992) (fig. 4)

b) Tomografia computadorizada (TC)

Os achados sugestivos de CHC incluem:

- 1) Área hipodensa, irregular com margem mal definida.
- 2) Imagem nodular, bem definida, com cápsula fibrosa fina ao redor, apresentando arquitetura interna heterogênea (padrão mosaico).
- 3) Presença de nódulos hipodensos, pequenos, apresentando diâmetros de 0,5 - 1,0 cm, que não se fundem uns aos outros e que são distribuídos difusamente, tanto na fase pré quanto na fase pós-contraste da TC.
- 4) Área hiperdensa durante a fase arterial, tornando-se hipodensa na fase portal, durante a realização de TC dinâmica com injeção rápida de contraste.
- 5) Presença de trombo dentro da veia porta e hepática, observado pela TC dinâmica, como lesão sólida hipervascularizada (MATSUI, 1992).



fig. 1 - Corte intercostal oblíquo do lobo direito: lesão hipoecognica com halo fino (cápsula fina)

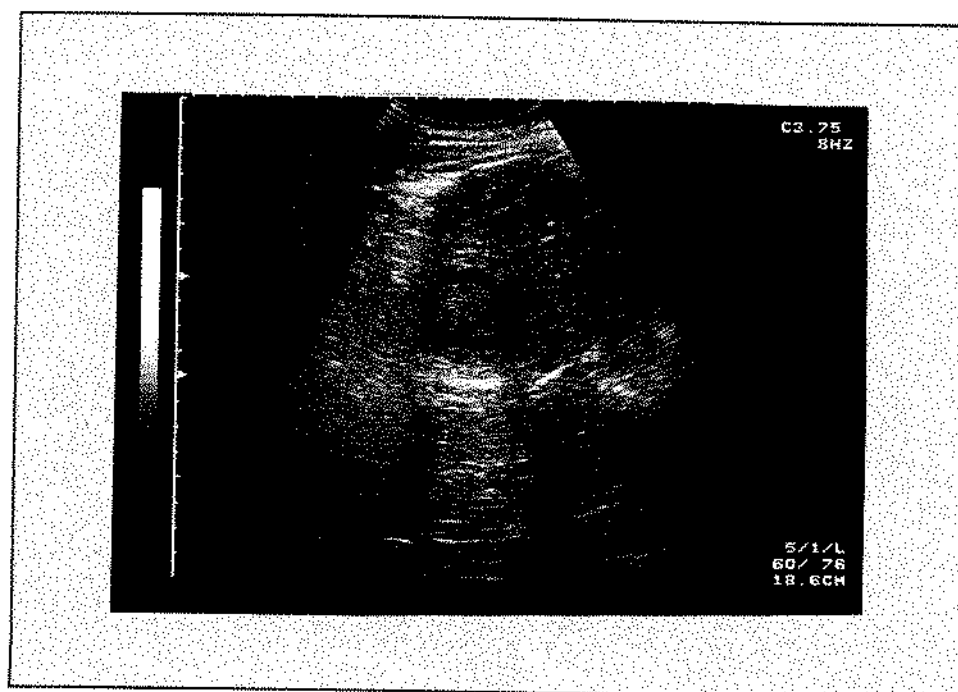


fig. 2 - Corte intercostal do lobo direito: lesão com estrutura interna complexa (padrão mosaico)

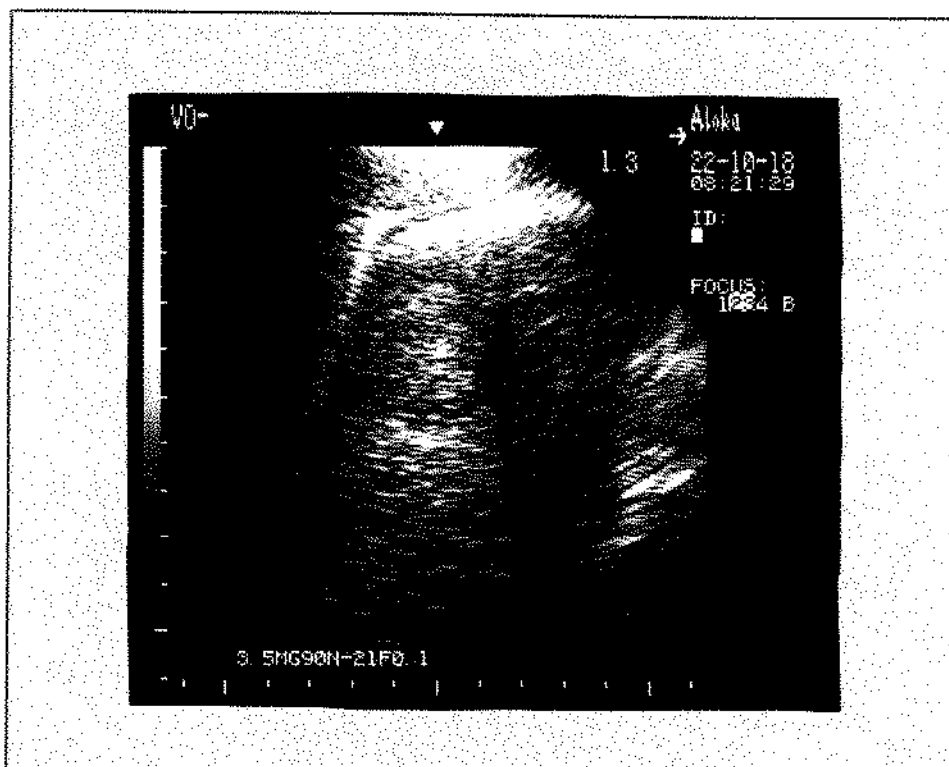


fig. 3 - Corte subcostal do lobo direito: lesão com estrutura interna complexa e sombra acústica bilateral.

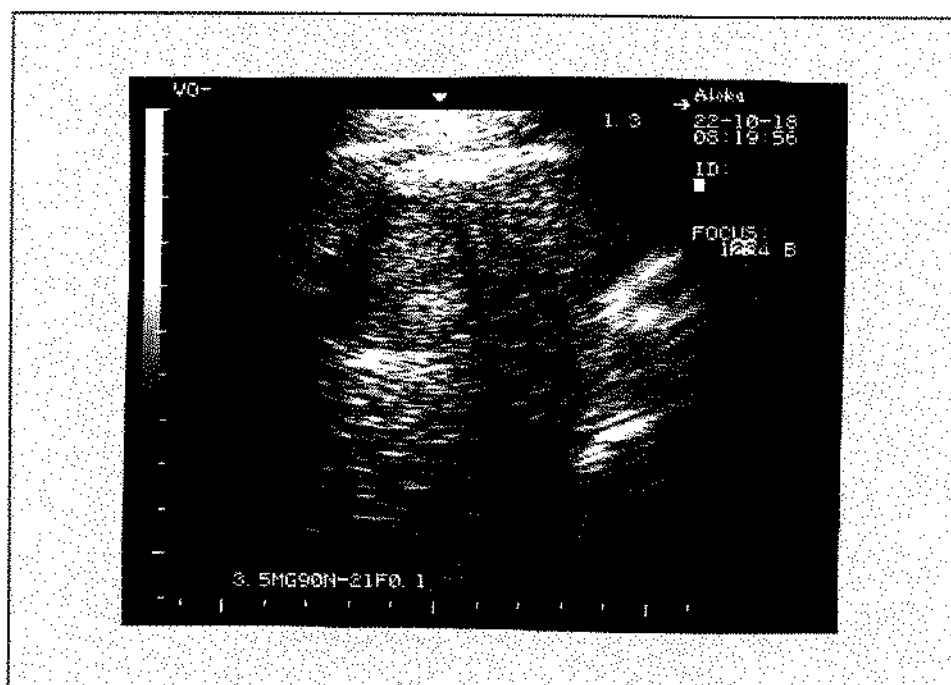


fig. 4 - Corte subcostal do lobo direito: lesão com estrutura interna complexa (padrão mosaico) e reforço acústico posterior.

c) Biópsia hepática

As biópsias hepáticas foram realizadas dirigidas pela ultra-sonografia, utilizando-se agulha de biópsia do tipo Menghini modificada, de 21 gauge, através de uma guia metálico conectado ao transdutor (Convex Probe-Oriented MF 2414 B Puncture Adaptor Operating Instructions MNI - O224, Aloka Co., LTD).

O material de biópsia coletado foi enviado ao Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP e o material examinado sempre pela mesma patologista. Para o diagnóstico anatomo-patológico do CHC, foi utilizado o grau de diferenciação histológico proposto por EDMONDSON & STEINER (1954): grau I, II, III e IV (anexo II). Este método foi empregado como padrão - ouro (gold standard) neste estudo para o diagnóstico do CHC.

d) Alfafetoproteína

A determinação sérica da alfafetoproteína foi realizada no Laboratório Central do Hospital das Clínicas-UNICAMP, pelo método de fluorometria enzima imunoensaio (Baxter Diagnostic Inc. Deerfield, IL 60015-4633 USA).

As amostras de sangue foram centrifugadas e, o soro, armazenado em refrigerador à temperatura de 2° a 8° C, podendo ser avaliado em 24 horas ou permanecer por tempo maior à temperatura de -20° C. O nível sérico de A.F.P. considerado normal foi de 8,5 ng/ml.

Na Universidade de Toyama (Toyama Medical and Pharmaceutical University), a determinação de A.F.P. foi realizada pelo método de imuno-eletroforese, considerando-se como valor normal 10 ng/ml (DAKO-alpha-1-fetoprotein (A.F.P.) standard).

Em decorrência das diferenças de corte de A.F.P. pelos métodos utilizados, foi realizada uma padronização de valores, dividindo-se o nível de A.F.P. de cada paciente pelo índice normal de corte do método, e, assim, o nível de A.F.P. foi expresso pelo número de

vezes o valor normal de corte. Portanto, a concentração sérica de A.F.P., igual ou 40 vezes maior que o valor normal (ng/ml), foi considerada como específica de carcinoma hepatocelular (CHC), e corresponde aos valores séricos de A.F.P. entre 340-400 ng/ml (SHELL, 1981; MARINGHINI *et al.*, 1988; COTTONE *et al.*, 1988).

3.2.2. Critérios para o diagnóstico de cirrose hepática

Os critérios utilizados para o diagnóstico de cirrose hepática, foram os seguintes:

- a - História clínica com sinais de doença hepática crônica (eritema palmar, ginecomastia, aranhas vasculares, presença de circulação colateral superficial, hepatomegalia e esplenomegalia)
- b - Endoscopia alta apresentando varizes esofagianas.
- c - Ultra-sonografia hepática caracterizando-se os seguintes achados: fígado de tamanho aumentado ou atrófico, superfície irregular, bordas rombas, irregularidades nos vasos supra-hepáticos e parênquima hepático heterogêneo (YAMANAKA, 1992).
- d - Alterações das provas de funções hepáticas tais como: atividade de protrombina, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gamaglutamiltransferase (GGT), fosfatase alcalina (FA), e bilirrubina total e frações .
- e - Biópsia hepática realizada sempre que os pacientes apresentassem condições laboratoriais como: atividade de protrombina (AP) de 50 %, contagem de plaquetas acima de 70.000 /ml e ausência de ascite.

O material de biópsia, enviado para o Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Ciências Médicas - FCM - UNICAMP, era fixado em formol à 10 % e incluído em parafina.

3.2.3. Critérios para o diagnóstico de hemangioma hepático

Os critérios utilizados para o diagnóstico de hemangioma hepático foram os seguintes:

a - Ultra-sonografia

- Imagem hiperecogênica, arredondada, limite bem definido.
- Ausência de área marginal hipoeecogênica.
- Ausência de sombra acústica lateral (SAKAGUCHI *et al.*, 1992).

b - Tomografia Computadorizada Dinâmica

- Concentração de contraste em área marginal que se distribui difusamente para a região central.

3.2.4. Critérios para o diagnóstico de metástase hepática

Os pacientes com lesões focais suspeitas de metástases hepáticas eram encaminhados para o Ambulatório de Lesões Focais da Disciplina de Gastroenterologia clínica da Faculdade de Ciências Médicas - FCM - UNICAMP, onde, além da apreciação clínica, realizavam-se os seguintes exames para confirmação do diagnóstico:

- a - Antígeno carcino-embrionário (CEA).
- b- Alfetoproteína sérica.
- c - Ultra-sonografia.
- d - Endoscopia digestiva alta.
- e - Coloscopia.
- f - Biópsia da lesão focal hepática, guiada pelo US, nos casos em que não era possível o diagnóstico do tumor primário.

3.2.5. Critérios para a seleção dos pacientes do grupo controle

Foram considerados como controle os pacientes acompanhados no Ambulatório de Dispepsia da Disciplina de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Os pacientes foram pareados por sexo e idade em relação aos demais grupos brasileiros, sendo considerados normais aqueles que apresentassem exame ultra-sonográfico dentro do padrão de normalidade, análise bioquímico-laboratorial normal, e sorologia negativa para vírus B e C. Nestes pacientes já havia sido realizada anteriormente, investigação endoscópica do trato digestivo alto.

3.2.6. Ultra-sonografia - Técnica

O exame ultra-sonográfico foi realizado em todos os pacientes após jejum de 12 horas, utilizando-se um aparelho de tempo real Toshiba Medical Systems Diagnostic Ultrasounds, Model SSA - 250 A (20730-116EC), com transdutor linear, convexo (3,75 Mhz).

Na realização do procedimento ultra-sonográfico, empregamos a seguinte padronização de exame:

- a - Paciente em decúbito dorsal - corte longitudinal no epigástrio incluindo a aorta. Avaliaram-se a superfície, borda e parênquima do lobo esquerdo hepático e veia hepática esquerda.
- b - Paciente em decúbito dorsal - corte subcostal oblíquo em região de epigástrio, próximo ao esterno. Analisaram-se parênquima do lobo hepático esquerdo, lobo caudado e veia porta esquerda (porções umbilical, transversa e os segmentos portais esquerdos).
- c - Paciente em decúbito dorsal - corte intercostal direito oblíquo, no qual avaliaram-se a veia porta direita, segmento ântero-superior (S8), pósterio-superior (S7), segmento pósterio-inferior (S6), veia hepática direita (VHD) e rim direito.

- d - Paciente em decúbito dorsal - corte subcostal direito, no qual analisaram-se a veia porta direita, veia hepática direita, vesícula e lobo quadrado (S4).
- e - Paciente em decúbito lateral esquerdo - corte subcostal direito, no qual avaliaram-se superfície hepática, parênquima, veias hepáticas direita, média e esquerda e os segmentos ântero-inferior (S5) e pósterio- superior (S8).
- f - Paciente em decúbito dorsal - corte transversal no epigástrico, no qual analisaram-se o pâncreas, veia esplênica, veia mesentérica superior, aorta e veia cava inferior.
- g - Paciente em decúbito dorsal - corte intercostal esquerdo, no qual avaliaram-se as dimensões do baço, o parênquima esplênico e o rim esquerdo.

3.2.7. Desgamacarboxiprotrombina (DCP)

Neste estudo, a concentração plasmática de DCP foi realizada em todos os pacientes. O método utilizado foi o de enzima imunoensaio (EIA), com um sistema de duplo anticorpo, sendo um deles monoclonal específico para a DCP, e, o outro, um anticorpo policlonal para protrombina (E-1023: Eitest MONO - P II, Eisai Co., Ltd., Tóquio). Este método foi desenvolvido por NARAKI *et al.* (1986).

3.2.7.1. Técnica

a - Preparo do plasma (amostra)

Após jejum de 6 horas, foram coletadas amostras de 5 ml de sangue através da veia antecubital, obtidas com uma seringa contendo 3,8 % de uma solução de citrato de sódio (nona parte de sangue para uma parte de anticoagulante). Foram enviadas para o laboratório dentro de 3 horas, centrifugadas a 3.000 R.P.M. durante 10 minutos. O plasma obtido foi estocado à temperatura de -20° C. Para avaliação, as amostras foram descongeladas e utilizadas à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada através de espectrofotômetro com comprimento de onda de 405 nm.

b - Preparo da solução de antígeno padrão:

- 1 - Reconstituir o padrão de DCP contendo 8,0 U.A/ml.
- 2 - Fazer quatro diluições com diluente próprio, sendo, a concentração final de cada uma, de 2,0 U.A/ml; 0,5 U.A/ml; 0,125 U.A/ml e 0,0625 U.A/ml, respectivamente.

c - Procedimento de análise:

- 1 - Preparar a curva padrão utilizando-se 100 µl de cada diluição preparada previamente e analisarem-se em duplicata as diferentes concentrações, inclusive a de 8,0 U.A/ml e o branco. Adicionar 100 µl do plasma a ser testado.
- 2 - Incubar por 16 a 24 horas à 10 °C.
- 3 - Lavar os poços três vezes com solução específica para lavagem.
- 4 - Adicionar 100 µl do anticorpo ligado à enzima peroxidase.
- 5 - Início da segunda reação: Incubar durante uma à duas horas à 10 °C.
- 6 - Proceder a lavagem como no item 3.
- 7 - Adicionar 100 µl da solução de substrato (peróxido de hidrogênio a 3%).
- 8 - Início da terceira reação: Incubar durante uma hora à temperatura de 20 a 30 °C.
- 9 - Para interromper a reação, utilizar 100 µl de "solução stop".
- 10- Uma cor azul esverdeada surgirá mais intensa quanto maior for a concentração de DCP no plasma testado.
- 11- Realizar a leitura da absorbância através de espectrofotômetro com comprimento de onda de 405 nm, usando-se água destilada como branco.

Por este método a taxa normal de DCP no plasma é menor que 0,1 Unidade Arbitrária por mililitro (U.A/ml). Uma Unidade Arbitrária (1 U.A) é equivalente a 1 ng de protrombina purificada de acordo com Laurell (MOTOHARA *et al.*, 1985). O valor máximo de DCP no plasma foi considerado igual ou acima de 8,0 U.A/ml. Todas as dosagens dos níveis plasmáticos de DCP nos grupos brasileiros foram testadas no Laboratório de Imunopatologia do Gastrocentro da UNICAMP. Nos pacientes japoneses, as dosagens dos níveis plasmáticos de DCP foram realizadas no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Toyama.

Os resultados da DCP foram comparados com os obtidos de A.F.P. nos pacientes com diagnóstico de CHC e outras doenças hepáticas.

3.2.8. Análise estatística

3.2.8.1. Análise de variância

Para comparar-se a média de idade entre os grupos brasileiros (I, II, III, IV, V) foi realizada análise de variância (AGRESTI & FINLAY, 1986c).

3.2.8.2. Comparação múltipla

Para o estudo da comparação múltipla entre os grupos utilizaram-se o método de Scheffe (MILLIKEN & JOHNSON, 1984).

3.2.8.3. Análise descritiva das variáveis desgamacarboxiprotrombina (DCP), alfafetoproteína (A.F.P.) e tamanho do tumor

Efetuuou-se análise descritiva das variáveis DCP, A.F.P. e tamanho do tumor em cada grupo de pacientes, mostrando-se a média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo de cada variável (AGRESTI & FINLAY, 1986a)

3.2.8.4. Análise de regressão logística

As variáveis DCP e A.F.P. foram empregadas num modelo logístico por apresentarem distribuição bastante assimétrica (diferença entre as médias e medianas). Portanto, foram transformadas aplicando-se o logaritmo natural (somamos o valor 0,0001). Esta análise foi realizada apenas para os grupos brasileiros.

O modelo explica a probabilidade de um paciente apresentar CHC em função dos valores observados de DCP e A.F.P. (AGRESTI & FINLAY, 1986b).

3.2.8.5. Coeficiente de correlação linear

Para o cálculo do coeficiente de correlação entre DCP e A.F.P., foi empregado o método não-paramétrico de Spearman (que usa postos das observações) (TOLEDO & OVALLE, 1989).

3.2.8.6. Análise dos valores de desgamacarboxiprotrombina (DCP) e de alfafetoproteína (A.F.P.), considerando-se os grupos CHC-B e CHC-J.

Com a finalidade de compararem-se os valores de DCP e A.F.P. entre os grupos CHC-B e CHC-J, foi realizada a transformação logarítmica (para normalizar os dados e estabilizar a variância). Foi utilizado o **Teste “t”** para médias (AGRESTI & FILAY, 1986d).

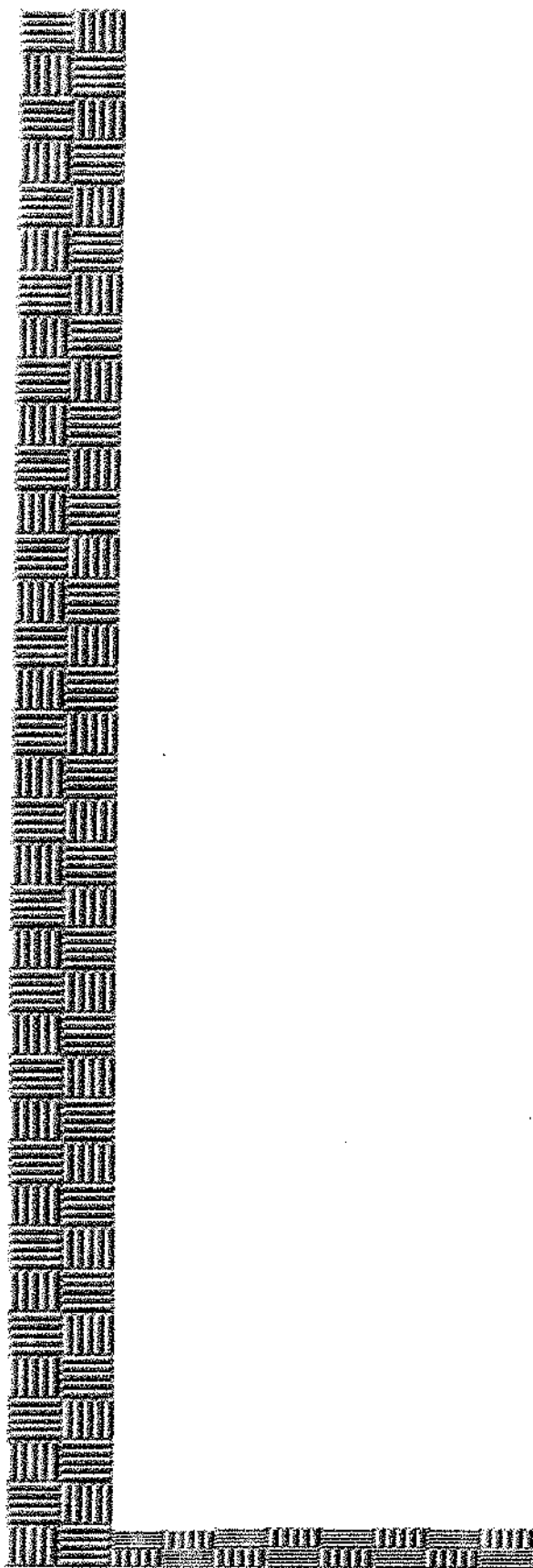
3.2.8.7. Análise no tamanho do tumor, considerando-se os grupos CHC-B e CHC-J.

Para verificar-se a diferença significativa no tamanho do tumor, entre os grupos CHC-B e CHC-J, foi utilizado o teste não-paramétrico de **Wilcoxon** (AGRESTI & FINLAY, 1986d).

3.2.8.8. Análise da sensibilidade e especificidade da desgamacarboxi-protrombina (DCP) e alfafetoproteína (A.F.P.), e dos valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina(DCP).

Foram verificadas a sensibilidade, especificidade da DCP e da A.F.P. e os valores de predição positivo e negativo da DCP em relação ao diagnóstico histológico de CHC (FLETCHER, FLETCHER, WAGNER, 1991).

Neste trabalho foi considerado estatisticamente significativo o valor de $p < 0,05$.



4. Resultados

4.1. ANÁLISE DAS VARIÁVEIS SEXO E IDADE NOS GRUPOS BRASILEIROS

Todos os pacientes brasileiros com carcinoma hepatocelular (CHC-B) eram do sexo masculino. Naqueles com cirrose hepática (CH) houve predomínio do sexo masculino (Tabela 1).

Tabela 1 - Distribuição de sexo e diagnóstico nos grupos brasileiros.

GRUPO	MASCULINO		FEMININO		TOTAL
	n	%	n	%	
CHC-B	19	100,0	0	0,00	19
CH	14	73,7	5	26,3	19
HH	6	35,3	11	64,7	17
MH	6	35,3	11	64,7	17
C	13	65,0	7	35,0	20
TOTAL	58	63,0	34	37,0	92

CHC-B : carcinoma hepatocelular- brasileiro

CH : cirrose hepática

HH : hemangioma hepático

MH: metástase hepática

C: controle

n : número

No grupo CHC-B as idades mínima e máxima foram de 29 e 87 anos respectivamente. Comparando-se a média de idade entre os grupos, utilizando-se análise de variância, verificamos que houve diferença significativa ($p=0.0014$).

Através da comparação múltipla, observamos que o grupo CHC-B apresentou média de idade significativamente maior que o grupo CH (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise descritiva de idade e diagnóstico nos grupos brasileiros.

GRUPO	n	VALOR		
		MÍNIMO	MÁXIMO	X ±SD
CHC-B	19	29	87	61,2 ± 12,4 *
CH	19	13	72	46,2 ± 14,2
HH	17	31	81	53,9 ± 13,7
MH	17	45	76	59,3 ± 8,8
C	20	30	78	60,5 ± 12,0

CHC-BI : carcinoma hepatocelular - brasileiro

CH: cirrose hepática

HH: hemangioma hepático

MH: metástase hepática

C: controle

n: número

X±SD : média + desvio padrão

* p < 0,05

4.2. ANÁLISE DAS VARIÁVEIS SEXO E IDADE NOS PACIENTES JAPONESES

Nos pacientes japoneses com carcinoma hepatocelular (CHC-J) houve predomínio do sexo masculino em relação ao feminino (Tabela 3). As idades mínima e máxima foram 45 e 79 anos respectivamente (Tabela 4).

Tabela 3 - Distribuição de sexo no grupo japonês com carcinoma hepatocelular (CHC-J).

GRUPO	MASCULINO		FEMININO		TOTAL
	n	%	n	%	
CHC - J	24	75,0	8	25,0	32

CHC - J : carcinoma hepatocelular - japonês
n : número

Tabela 4 - Análise descritiva de idade no grupo japonês com carcinoma hepatocelular (CHC-J).

GRUPO	n	VALOR		
		MÍNIMO	MÁXIMO	X $\pm$ SD
CHC - J	32	45	79	61,7 $\pm$ 8,8

CHC - J: carcinoma hepatocelular - japonês
X $\pm$ SD: média $\pm$ desvio padrão
n: número

4.3. ANÁLISE DA VARIÁVEL DESGAMACARBOXI PROTROMBINA (DCP) NOS GRUPOS BRASILEIROS

O valor máximo de DCP no grupo CHC-B foi 8,00 U.A/ml, no grupo com CH, 1,19 U.A/ml e no grupo com MH, 3,20 U.A/ml.

Tabela 5 - Análise descritiva da desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos grupos brasileiros.

GRUPO	n	X $\pm$ SD (U.A/ml)	M	VALOR	
				MÍNIMO	MÁXIMO
CHC-B	19	2,99 $\pm$ 3,77	0,30	0,00	8,00
CH	19	0,13 $\pm$ 0,29	0,00	0,00	1,19
HH	17	0,00 $\pm$ 0,00	0,00	0,00	0,00
MH	17	0,42 $\pm$ 0,95	0,00	0,00	3,20
C	20	0,00 $\pm$ 0,01	0,00	0,00	0,05

CHC-B : carcinoma hepatocelular- brasileiro

CH: cirrose hepática

HH: hemangioma hepático

MH: metástase hepática

C: controle

X $\pm$ SD: média+desvio padrão

UA: unidade arbitrária

n: número

M: mediana

4.3.1. Análise da desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos grupos brasileiros

Não foi possível testar se há diferença significativa entre as medianas de transformação logarítmica de DCP, visto que o conjunto de dados apresenta muitos valores empatados (tabela 6).

Tabela 6 - Valores da desgamacarboxiprotrombina *(DCP) nos grupos brasileiros.

GRUPO	n	X±SD	M	VALOR	
				MÍNIMO	MÁXIMO
CHC-B	19	-2,92 ±5,12	-1,20	- 9,21	2,08
CH	19	-6,39 ±3,85	-9,21	- 9,21	0,17
HH	17	-9,21 ±0,00	-9,21	-9,21	-9,21
MH	17	-6,60 ±4,23	-9,21	-9,21	1,16
C	20	-8,60 ±1,88	- 9,21	-9,21	-2,99

* transformação do logaritmo natural

CHC-B : carcinoma hepatocelular- brasileiro.

CH : cirrose hepática.

HH : hemangioma hepático.

MH : metástase hepática.

C : controle.

X ±SD : média ±desvio padrão

M : mediana

n : número

4.3.2. Análise de regressão logística da variável desgamacarboxiprotrombina (DCP) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC (N=92)

A transformação logarítmica de desgamacarboxiprotrombina (DCP) é um fator importante para determinar-se a chance de apresentar CHC ($p = 0,0001$). O acréscimo de uma unidade, na transformação logarítmica de DCP, equivale ao aumento de 1,282 vezes para chance de CHC.

4.3.3. Análise de regressão logística considerando-se as variáveis desgamacarboxiprotrombina (DCP) e alfafetoproteína (A.F.P.) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC (N=70)

As duas variáveis, DCP e A.F.P., são avaliadas utilizando-se a regressão logística. Observa-se que, o valor da transformação logarítmica de DCP não é

estatisticamente significativo ($p = 0,1724$), porém, o valor sérico da transformação logarítmica de A.F.P. é significativo ($p = 0,0009$) (tabela 7).

Tabela 7 - Regressão logística dos valores da desgamacarboxiprotrombina *(DCP) e da alfafetoproteína *(A.F.P.) nos grupos brasileiros.

Variável	Parâmetro	Erro Padrão	Probabilidade	Odds Ratio
* DCP	0,1333	0,0977	0,1724	1,143
* A.F.P.	0,9663	0,2196	0,0009	2,628
Média Geral	-1,3744	0,8130	0,0909	0,253

* transformação do logaritmo natural

4.3.4. Correlação entre DCP e A.F.P. nos grupos brasileiros

O coeficiente de correlação entre os valores de transformações logarítmicas da DCP e A.F.P., utilizando-se o coeficiente de **Spearman**, foi estatisticamente significativo, mostrando que há evidência de associação entre as duas variáveis nos grupos CHC-B, CHC-J e CHC-B+J (fig. 5, 6, 7). No entanto, não houve correlação nos grupos com MH e CH, HH e C (fig. 8, 9) (tabela 8).

Tabela 8 - Associação entre os valores plasmáticos da desgamacarboxiprotrombina (DCP) e os níveis séricos da alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos brasileiros com CHC, MH, CH, HH e C.

Grupos	n	r	p
CHC-B	17	0,61786	0,0082*
CHC-J	32	0,59515	0,0003*
CHC-B+J	49	0,58998	0,0001*
MH	13	0,20161	0,5089
CH, HH, C	40	0,19624	0,2249

CHC -B : carcinoma hepatocelular - brasileiro.

CHC -J : carcinoma hepatocelular - japonês.

CHC-B+J: carcinoma hepatocelular- brasileiro + japonês.

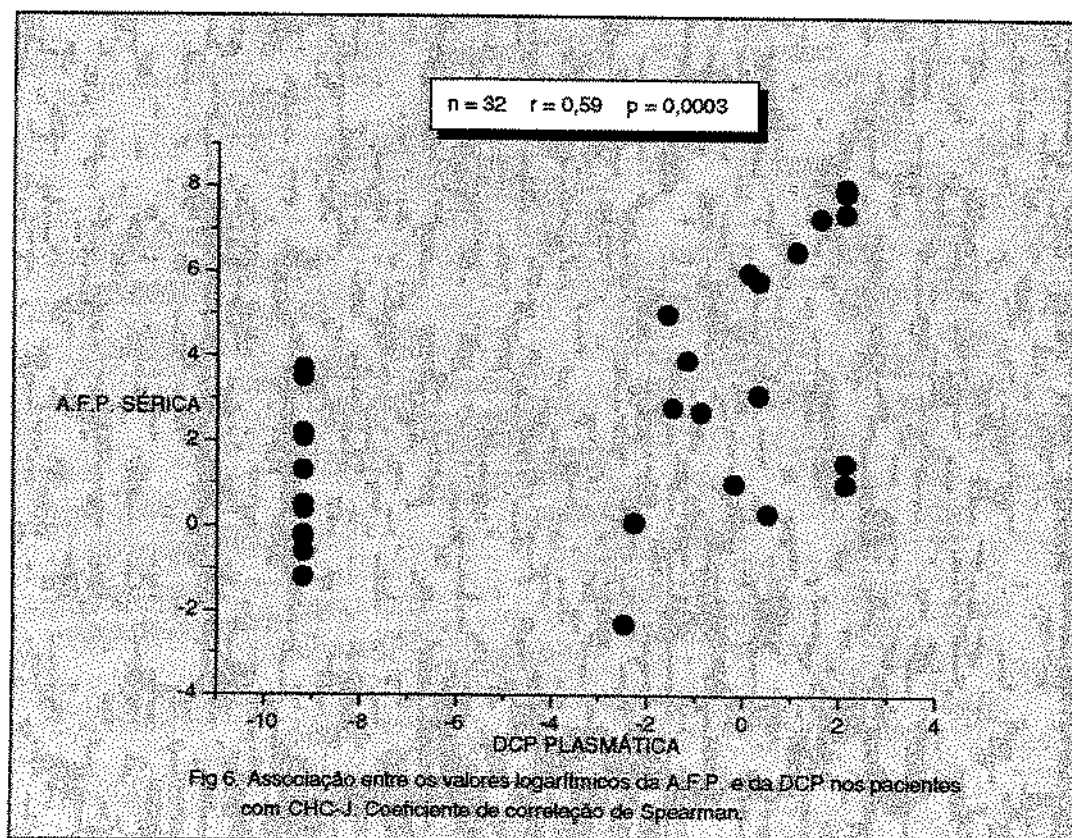
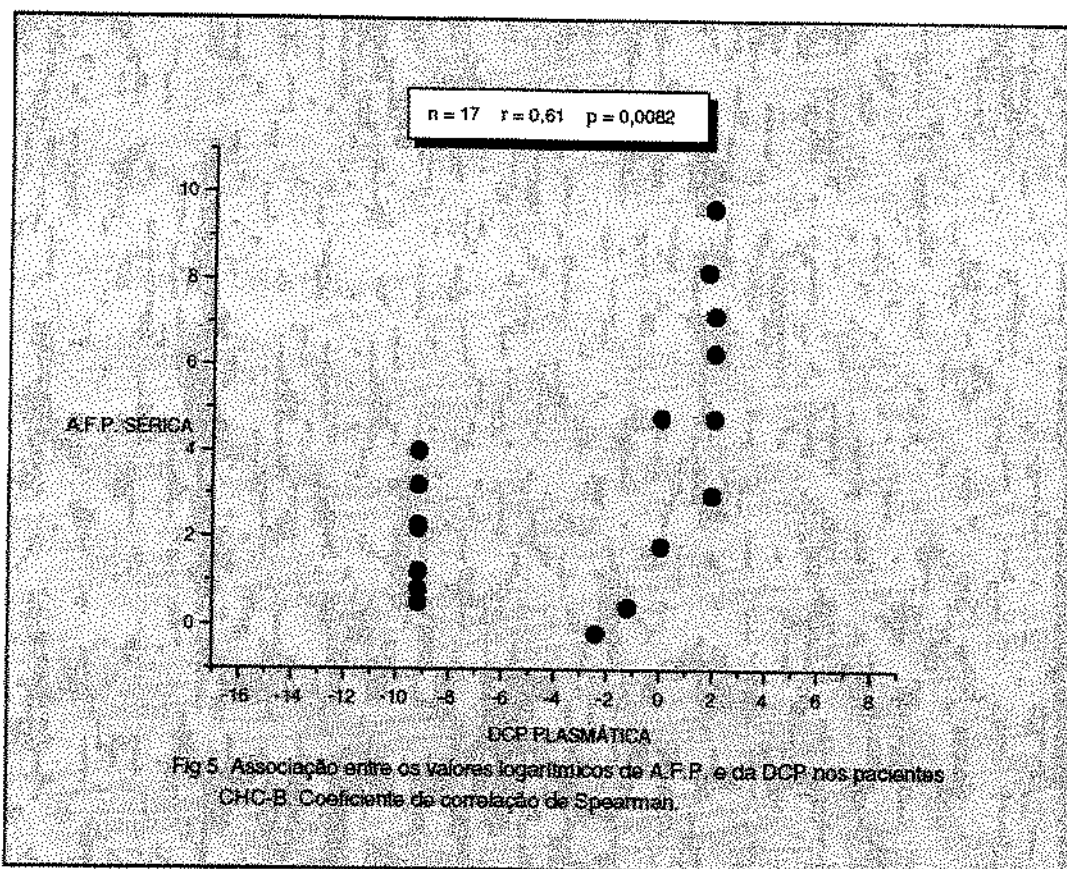
MH: metástase hepática.

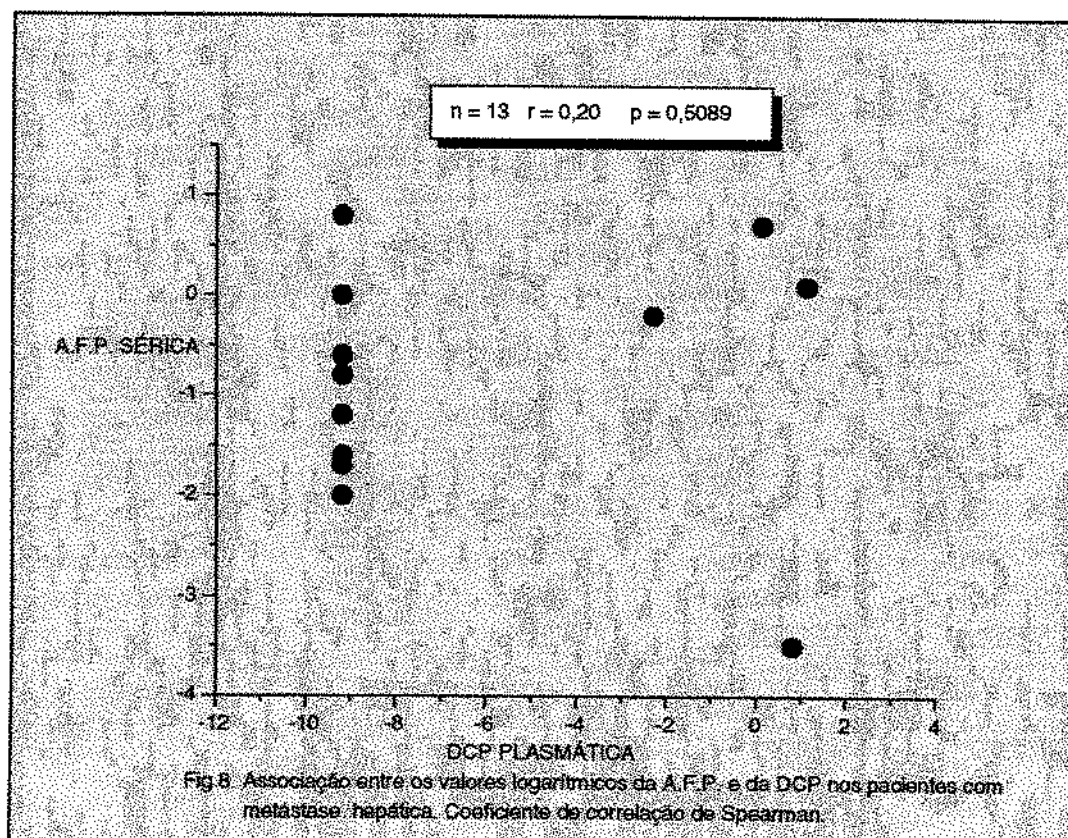
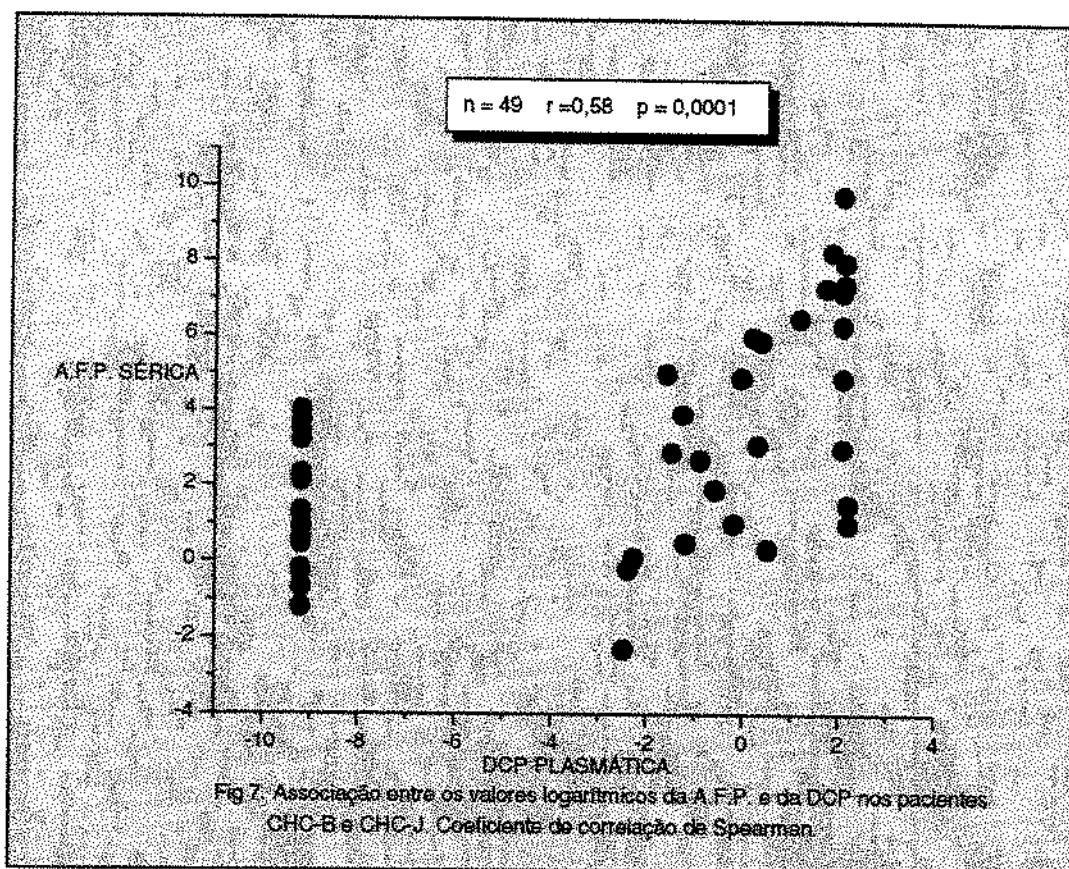
CH, HH, C : cirrose hepática, hemangioma hepático, controle.

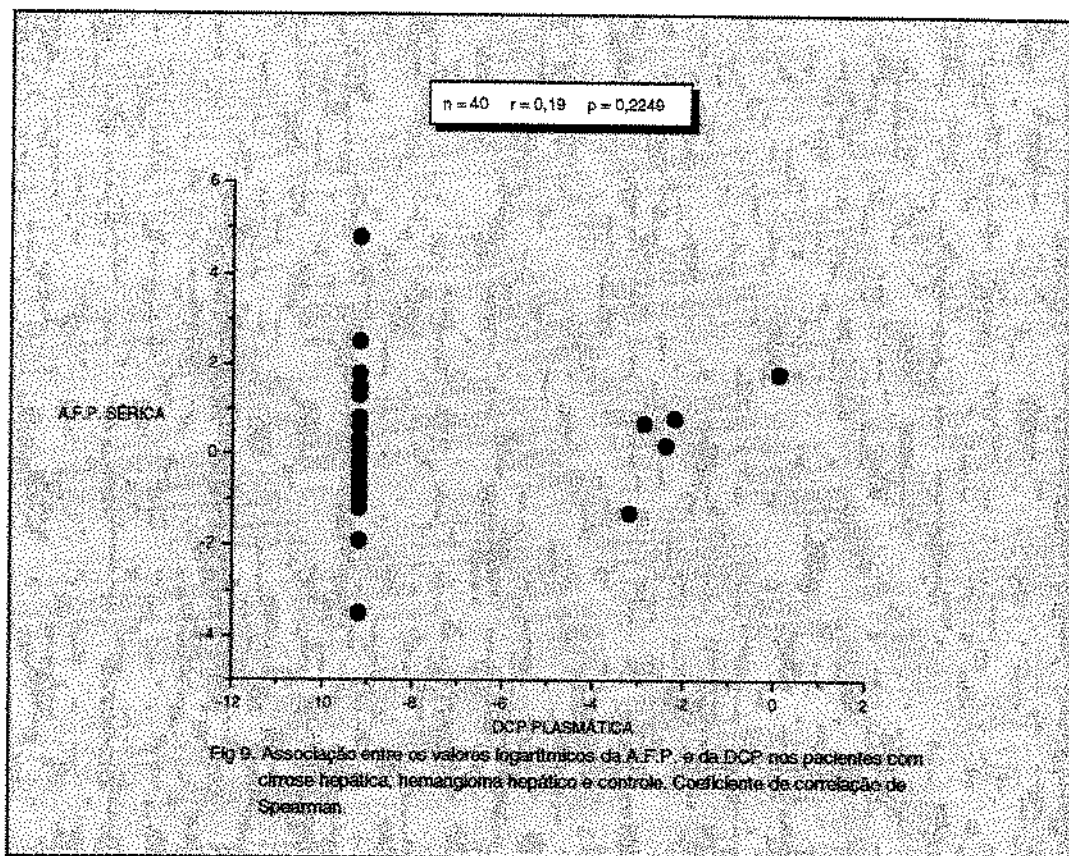
n: número.

r : coeficiente de correlação.

* $p < 0,05$







4.3.5. Análise dos valores plasmáticos da desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos grupos brasileiros

No grupo CHC-B foi encontrado DCP plasmática igual ou maior que 0,1 U.A/ml em 57,9 % dos pacientes. Nos outros grupos, a positividade foi de 12,3%. Há evidência de associação entre positividade e grupo ($p = 0,00009$) (tabela 9).

Tabela 9 - Positividade dos valores plasmáticos da desgamacarboxiprotrombina (DCP) no carcinoma hepatocelular (CHC-B) e demais grupos de brasileiros.

Grupo	Níveis Plasmáticos de DCP (U.A/ml)		Total	Positividade (%)
	(< 0,1)	(≥ 0,1)		
CHC-B	8	11	19	57,9 *
Demais grupos Brasileiros	63	10	73	13,7
Total	71	21	92	23,0

CHC - B : carcinoma hepatocelular -brasileiro. * $P < 0,05$
 Demais grupos brasileiros: CH; HH; MH; C.

4.3.6. Avaliação da sensibilidade, especificidade, valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina (DCP) no grupo brasileiro com CHC.

A sensibilidade da DCP foi de 57,9% com intervalo de confiança de 95% (34,0; 78,9); especificidade de 86,3% com intervalo de confiança de 95% (75,8; 92,9); valor de predição positivo de 52,4% com intervalo de confiança de 95% (30,3; 73,6) e valor predição negativo de 88,7% com intervalo de confiança de 95% (78,5; 94,7) nos pacientes com CHC-B (tabela 10).

Tabela 10 - Sensibilidade, especificidade, valores de predição positivo e negativo da desgamacarboxiprotrombina (DCP) no carcinoma hepatocelular (CHC-B) e demais grupos de brasileiros.

	%
SENSIBILIDADE	57,9
ESPECIFICIDADE	86,9
VALOR DE PREDIÇÃO POSITIVO	52,4
VALOR DE PREDIÇÃO NEGATIVO	88,7

CHC-B : carcinoma hepatocelular - brasileiro.

Demais grupos brasileiros : CH; HH; MH; C.

4.3.7. Avaliação da desgamacarboxi protrombina (DCP) e da alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos CHC-B e CHC-J.

As tabelas 11 e 12 mostram os valores de DCP e A.F.P. para os grupos brasileiro e japonês com carcinoma hepatocelular (CHC- B+J). Os resultados para as duas variáveis não foram significativos, isto é, não há evidências de diferença significativa entre as médias dos dois grupos.

Tabela 11 - Comparação dos valores plasmáticos de desgamacarboxiprotrombina *(DCP) nos grupos CHC-B e CHC-J.

Grupo	n	X $\pm$ SD	p
CHC-B	19	- 2,92 $\pm$ 5,12	0,5160 *
CHC-J	32	-3,88 $\pm$ 4,93	

* transformação do logaritmo natural

* CHC-B : carcinoma hepatocelular-brasileiro

CHC-J : carcinoma hepatocelular-japonês

X $\pm$ SD : média $\pm$ desvio padrão

*p > 0,05

n: número

Tabela 12 - Comparação dos valores de alfafetoproteína *(A.F.P.) entre os grupos CHC-B e CHC-J.

Grupo	n	X $\pm$ SD	p
* CHC-B	17	3,60 $\pm$ 2,94	0,2386
* CHC-J	32	2,54 $\pm$ 2,95	

* transformação do logaritmo natural

CHC-B : carcinoma hepatocelular-brasileiro

CHC-J : carcinoma hepatocelular-japonês

X $\pm$ SD : média+desvio padrão

n : número

p > 0,05

4.3.8. Análise das variáveis tamanho do tumor e desgamacarboxiprotrombina (DCP).

Para medir a associação entre as variáveis foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (não-paramétrico). A tabela 13 mostra que a correlação entre as variáveis tamanho do tumor e a transformação logarítmica da desgamacarboxiprotrombina (DCP), foi estatisticamente significativa no grupo CHC - B + J ($r = 0,31241$; $p = 0,0306$) e CHC-J ($r = 0,54471$; $p = 0,0013$) (fig. 10,11,12,13).

Tabela 13 - Associação entre o tamanho do tumor e o valor de desgamacarboxiprotrombina *(DCP) nos grupos brasileiro e japonês com carcinoma hepatocelular (CHC) e metástase hepática (MH).

Grupos	n	r	p
CHC - B+J	48	0,31241	0,0306
CHC- B	16	-0,03130	0,9084
CHC-J	32	0,54471	0,0013 *
MH	13	-0,42059	0,1524

CHC-B+J: carcinoma hepatocelular grupo brasileiro + japonês

CHC -B: carcinoma hepatocelular - brasileiro

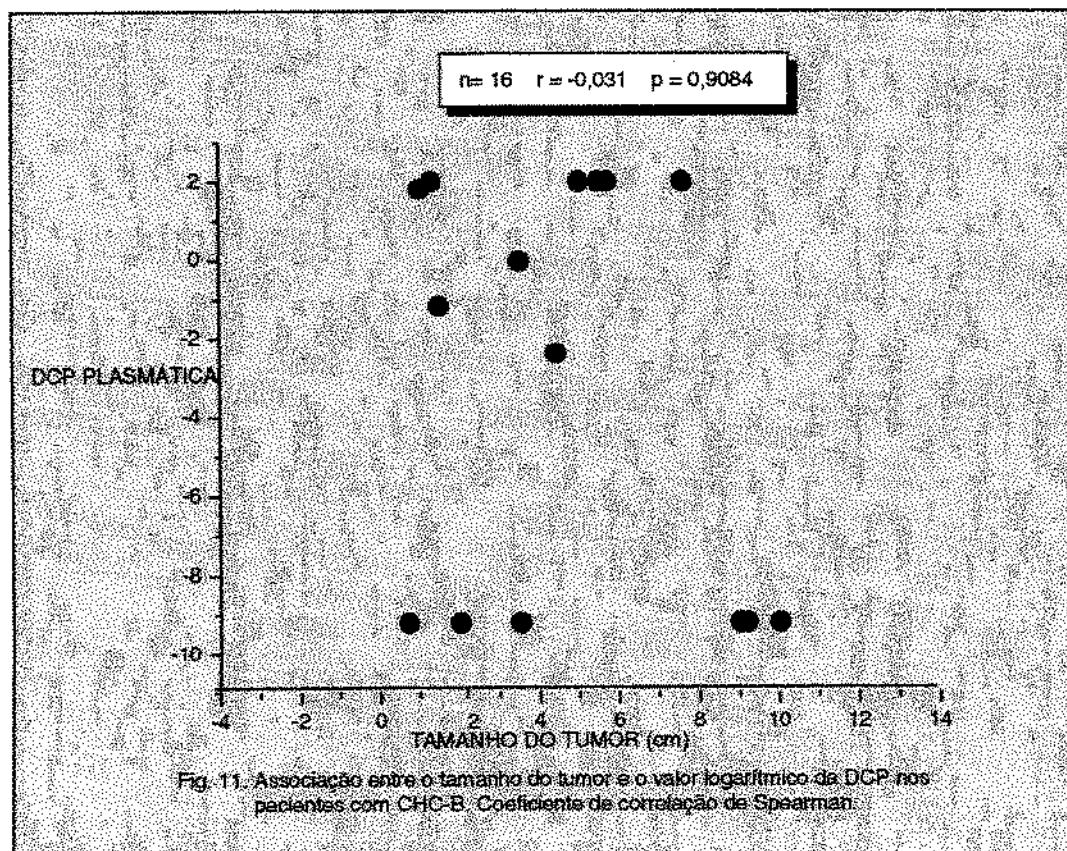
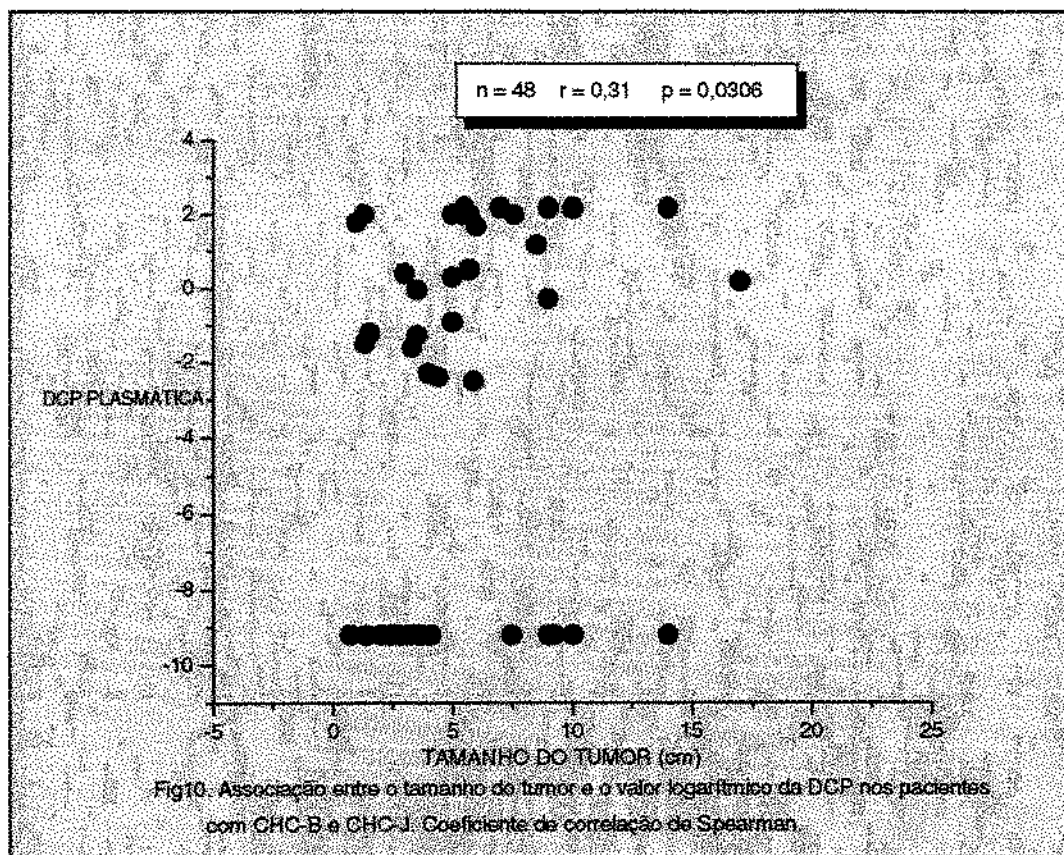
CHC -J: carcinoma hepatocelular - japonês

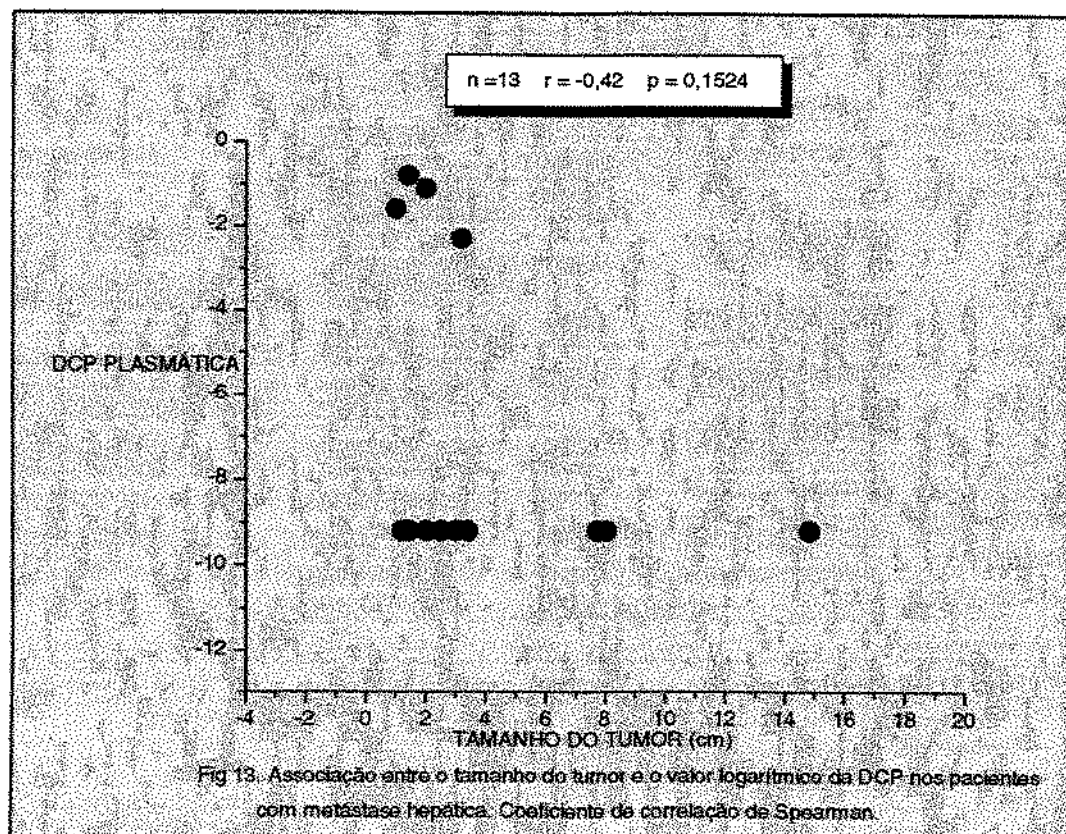
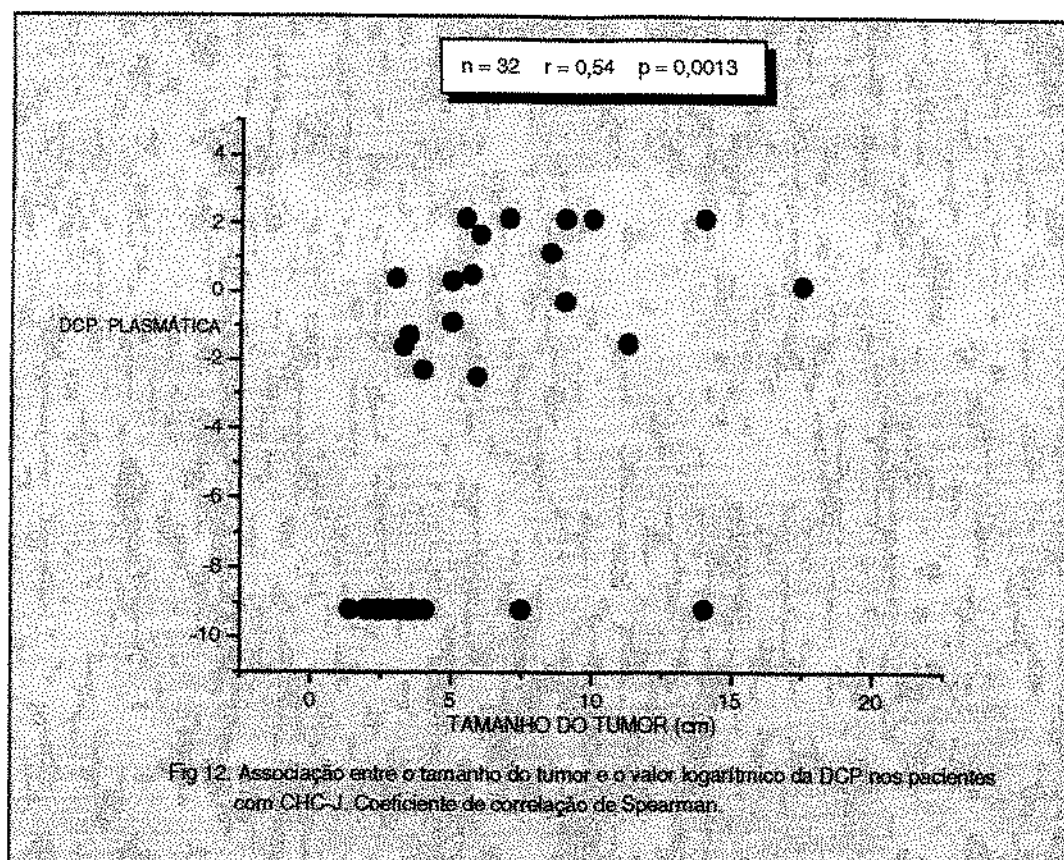
MH: metástase hepática

n: número

r : coeficiente de correlação

* p < 0,05





4.4. ANÁLISE DA ALFAPETOPROTEÍNA (A.F.P.) NOS GRUPOS DE BRASILEIROS

Os valores mínimo e máximo de A.F.P. no CHC-B foram 0,77 e 17.884,20 ng/ml, respectivamente, sendo possível observar que essa variável apresentou variação elevada nos grupos de brasileiros (Tabela 14).

Tabela 14 - Análise dos valores de alfafetoproteína (A.F.P.) nos grupos de brasileiros.

GRUPO	n	X±SD (ng/ml)	M	VALOR	
				MÍNIMO (ng/ml)	MÁXIMO (ng/ml)
CHC-B	17	1.423,58 ±4.355,71	20,77	0,77	17.884,20
CH	14	11,77 ±35,05	2,02	0,03	133,33
HH	17	0,97 ± 0,59	0,75	0,14	2,27
MH	13	0,75 ± 0,76	0,43	0,03	2,40
C	9	2,24 ±4,07	0,65	0,27	12,70

X ±SD : média ± desvio padrão.

ng: nanograma.

M: mediana

n : número

4.4.1. Análise de regressão logística da alfafetoproteína (A.F.P.) modelando a probabilidade de pertencer ao grupo CHC (N=70).

O valor sérico da transformação logarítmica de alfafetoproteína (A.F.P.) é um fator importante na chance de um paciente apresentar CHC ($p=0,0003$). O aumento de uma

unidade no valor da transformação logarítmica de A.F.P., equivale ao aumento de 2,763 na chance de que ele apresente CHC.

4.4.2. Avaliação da sensibilidade e especificidade da alfafetoproteína (A.F.P.)

Utilizando-se como nível de corte da A.F.P. um valor 20 vezes acima do valor normal (de 100 a 200 ng/ml), a sensibilidade apresentada foi de 47,4 % com intervalo de confiança de 95% (25,2 ; 70,5) e especificidade de 98,6% com intervalo de confiança de 95% (98,6; 99,9) nos pacientes com CHC-B e nos demais grupos de brasileiros (tabela 15).

Quando elevamos o nível de corte da A.F.P. para um valor 40 vezes acima do normal (de 340 a 400 ng/ml), a sensibilidade foi de 36,8% com intervalo de confiança de 95% (17,2 ; 61,4) e especificidade de 98,6 % com intervalo de confiança de 95% (91,6; 93,9) (tabela 15).

Tabela 15 - Sensibilidade e especificidade de alfafetoproteína (A.F.P.) com níveis de corte acima de 20 e de 40 vezes o valor normal nos pacientes brasileiros com carcinoma hepatocelular (CHC-B) e demais de grupos brasileiros.

CORTE (ng/ml)	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE
A.F.P. > 20	47,4%	98,6%
A.F.P. >40	36,8%	98,6%

A.F.P.: alfafetoproteína
ng: nanograma

4.4.3. Análise da variável tamanho do tumor e alfafetoproteína (A.F.P.)

Houve correlação entre o tamanho do tumor e a transformação logarítmica da alfafetoproteína (A.F.P.) ($r = 0,42575$; $p = 0,0151$), apenas para o grupo CHC-J. Foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman (não-paramétrico) para medir a associação entre as variáveis (Tabela 16) (fig. 14, 15, 16, 17).

Tabela 16 - Associação entre o tamanho do tumor e a alfafetoproteína *(A.F.P.) nos grupos brasileiro e japônês com carcinoma hepatocelular (CHC) e metástase hepática (MH).

Grupos	n	r	p
CHC- B+J	47	0,25892	0,2627
CHC-B	15	0,13620	0,6284
CHC-J	32	0,42575	0,0151 *
MH	10	0,34147	0,3342

*transformação do logaritmo natural

CHC- B+J : carcinoma hepatocelular - brasileiro + japônês

CHC-B : carcinoma hepatocelular brasileiro

CHC-J : carcinoma hepatocelular -japônês

MH: metástase hepática

r : coeficiente de correlação

* $p < 0,05$

4.5. ANÁLISE DA VARIÁVEL TAMANHO DO TUMOR

No grupo CHC-B os diâmetros mínimo e máximo dos tumores foram 0,7 e 10,0 cm, respectivamente. Observamos que não há diferença significativa entre os valores da média entre os grupos ($p = 0,5433$) (tabela 17).

Tabela 17 - Análise do tamanho do tumor nos grupos de brasileiros com carcinoma hepatocelular (CHC-B), hemangioma hepático (HH) e metástase hepática (MH).

GRUPO	n	X±SD	M	VALOR	
				MÍNIMO	MÁXIMO
CHC-B	16	4,59 ± 3,05	3,95	0,70	10,0
HH	17	3,66 ± 2,07	4,00	0,60	7,3
MH	13	3,97 ± 3,97	2,50	1,00	14,8

X ± SD: média ± desvio padrão

CHC-B: carcinoma hepatocelular-brasileiro

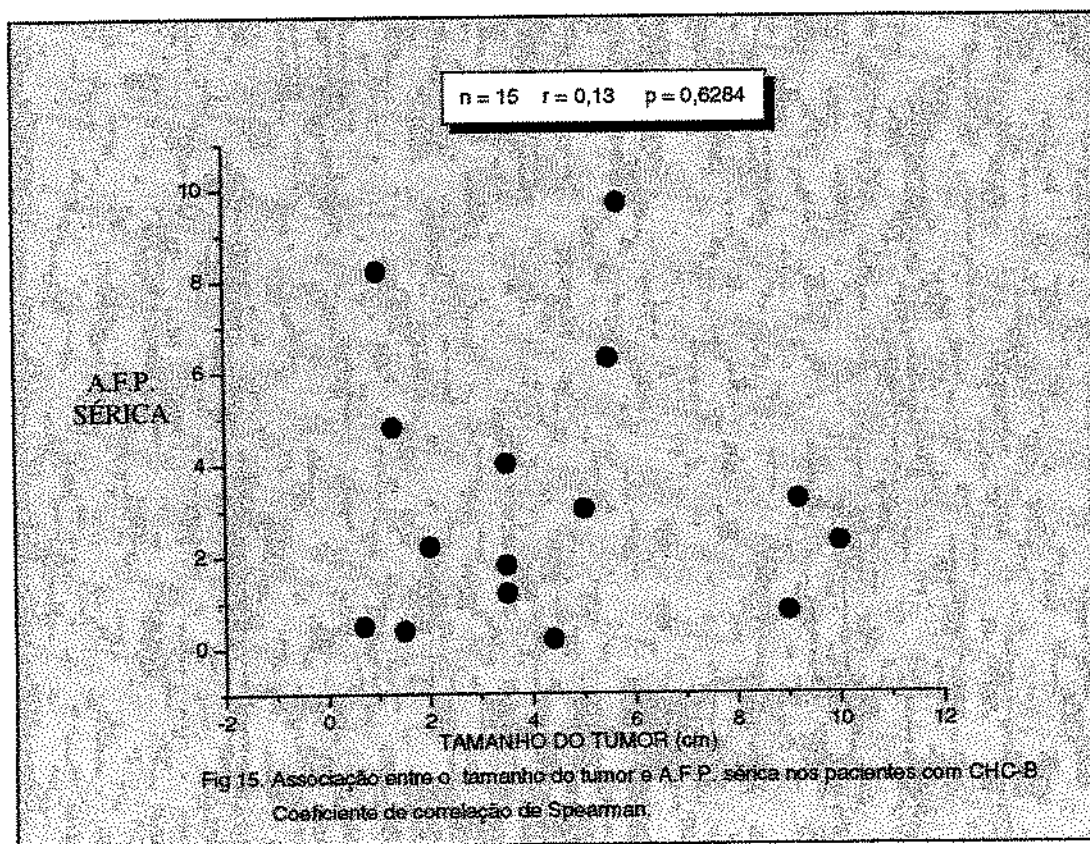
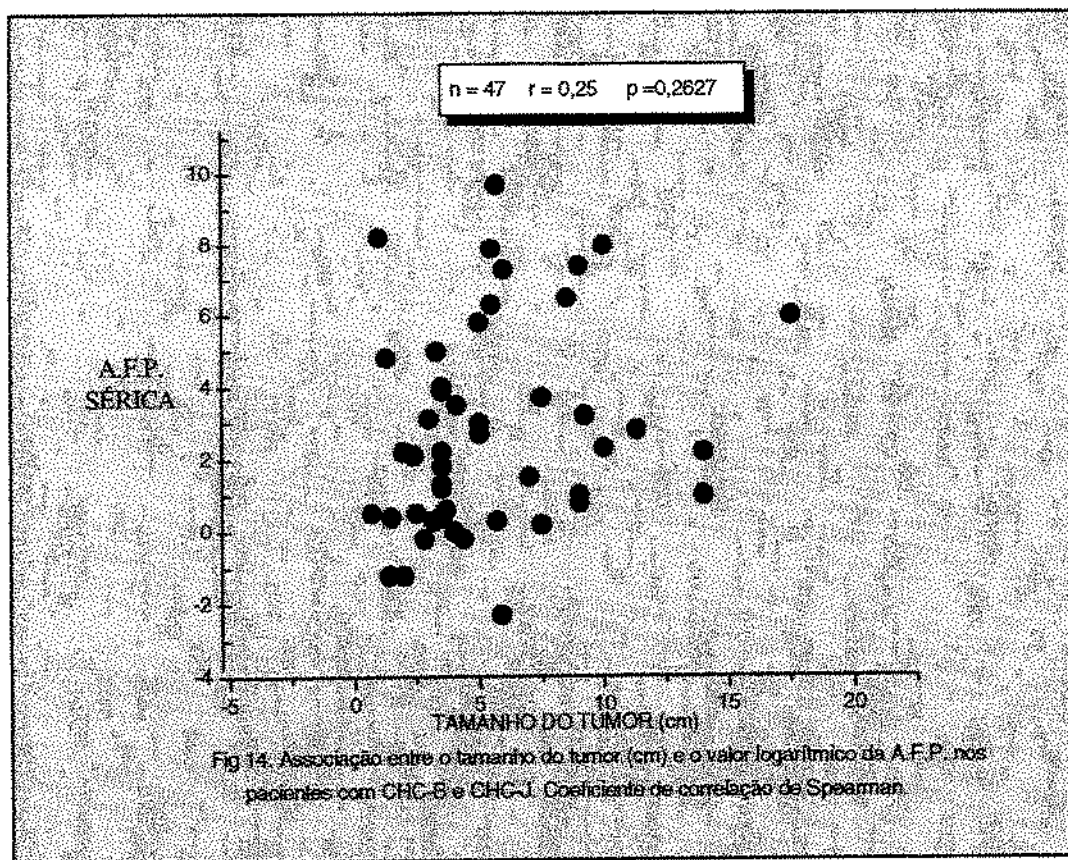
HH: hemangioma hepático

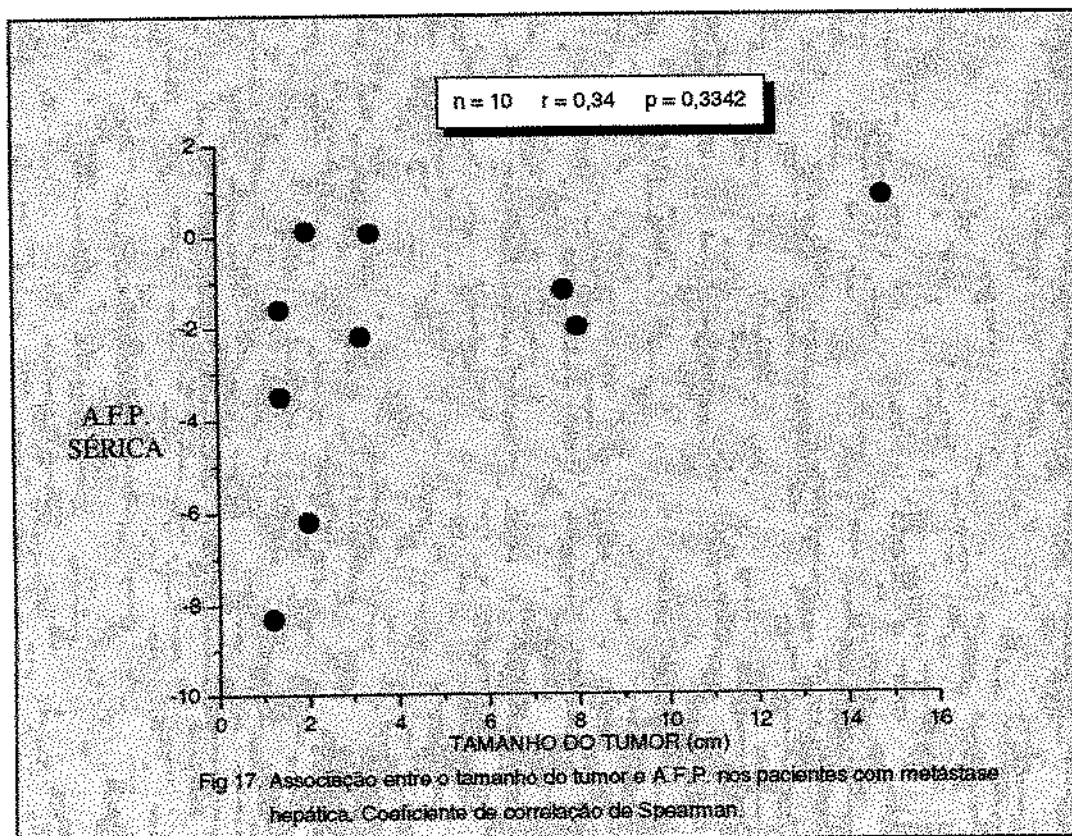
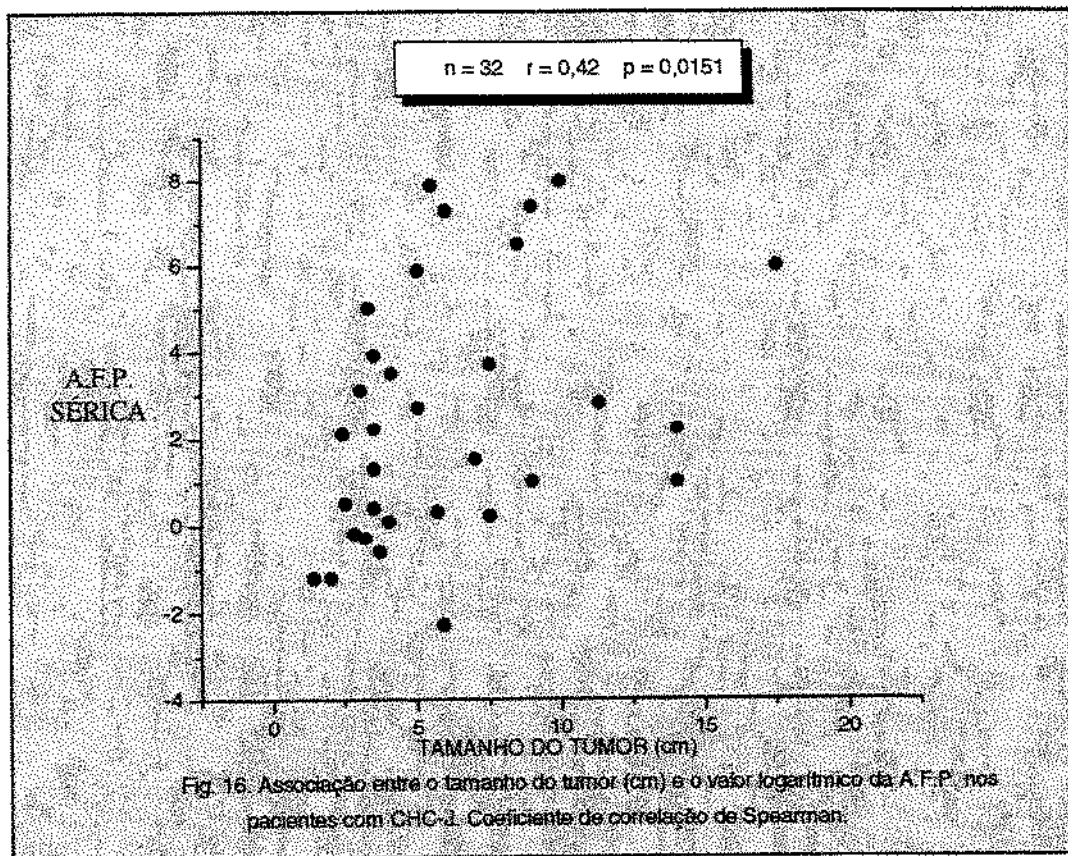
MH: metástase hepática

n: número

M: mediana

p > 0,05





4.5.1. Análise da variável tamanho do tumor entre os grupos CHC-B e CHC-J

Não há diferença estatisticamente significativa da variável tamanho do tumor entre os grupos CHC-B e CHC-J ($p = 0,2591$) (tabela 18).

Tabela 18 - Análise do tamanho do tumor nos grupos brasileiro e japonês com carcinoma hepatocelular (CHC).

Grupo	n	X $\pm$ SD	M	p
CHC-B	16	4,59 $\pm$ 3,05	3,95	0,2591 *
CHC-J	32	6,09 $\pm$ 3,9	5,00	

CHC-B : carcinoma hepatocelular - brasileiro

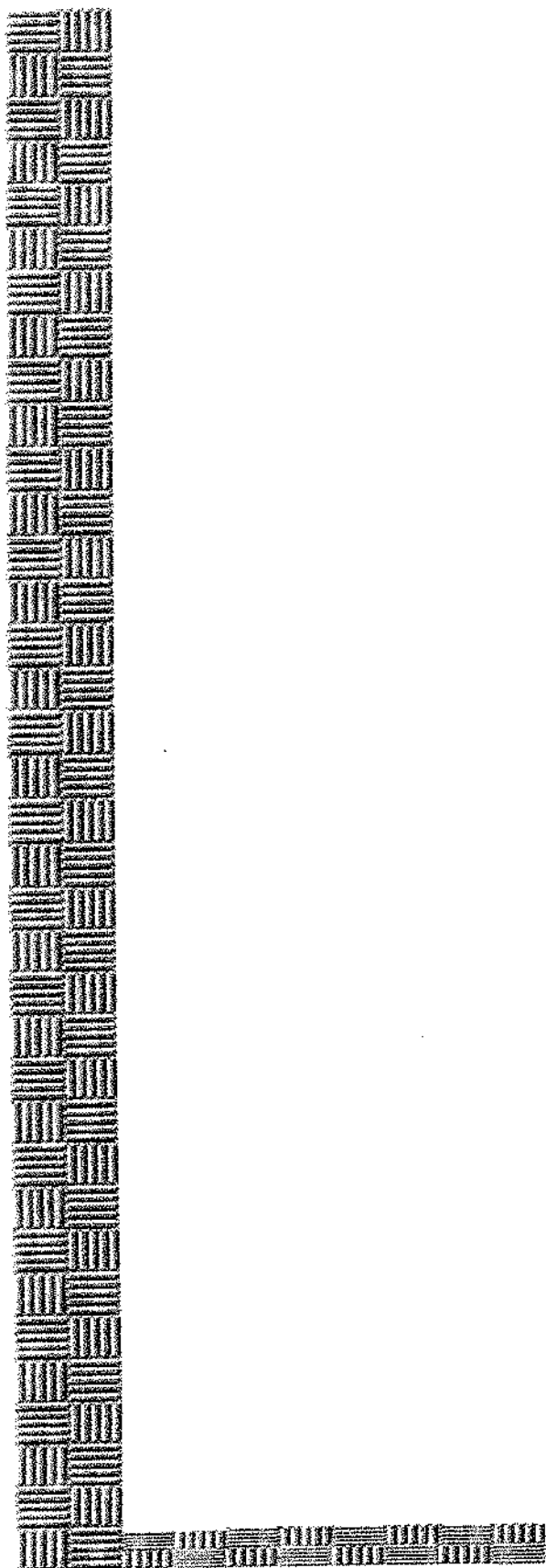
CHC-J : carcinoma hepatocelular - japonês

n : número

M: mediana

* $p > 0,05$

X $\pm$ SD : média $\pm$ desvio padrão



5. Discussão

Existe uma predominância do CHC nos homens, sendo a relação masculino/feminino de 4:1 (CROCE *et al.*, 1993), porém, esta relação difere entre os países. É provável que seja maior em regiões de elevada prevalência e menor naquelas de baixa. A maior susceptibilidade dos homens pode ser hormonal ou genética, e, decorre da maior exposição aos fatores carcinogênicos ambientais (OKUDA, 1992a).

A última pesquisa realizada no Brasil mostrou um predomínio do CHC no homem, com uma relação masculino/feminino de 3,4:1 (GONÇALVES *et al.* 1995). No presente trabalho, a distribuição por sexo revelou uma frequência de 100% (19/19) de CHC nos pacientes brasileiros do sexo masculino (tabela 1), o que difere de outros trabalhos efetuados em nosso País, onde esta relação foi menor (COTRIM, 1988; GONÇALVES & PEREIRA, 1991). Provavelmente este fato se deve a uma casuística menor. No grupo japonês com CHC houve uma frequência entre os homens de 75% (24/32), e a relação masculino/ feminino foi de 3:1 (tabela 3). Esta relação é próxima daquela encontrada na última pesquisa realizada no Brasil.

Nossos resultados mostram que, a média de idade dos pacientes brasileiros com CHC foi de $61,2 \pm 2,4$ (29 a 87 anos) (tabela 2). Nos pacientes japoneses com CHC a média de idade foi de $61,7 \pm 8,8$ (45 a 79 anos) (tabela 4). Portanto, as médias entre os grupos brasileiro e japonês com CHC foram bem próximas. No presente estudo, a média de idade no grupo brasileiro com CHC foi significativamente maior quando comparada a dos pacientes com cirrose hepática (CH) ($p = 0,0014$) (tabela.2). Estes resultados eram esperados, visto que o CHC ocorre cerca de 10 anos após o desenvolvimento de CH (DI BISCEGLIE *et al.*, 1991). Isto pode ser explicado pela associação que há entre as duas doenças e pela hipótese de que o CHC se desenvolva em fígado cirrótico em cerca de 80% dos indivíduos (JOHNSON & WILLIAMS, 1987; WATANABE *et al.*, 1994), em decorrência de vários fatores de risco, incluindo hepatite por vírus B (KUBO *et al.*, 1977; OMATA *et al.*, 1982; TANAKA & HATTORI, 1992), hepatite por vírus C (RESNICK & KOFF, 1993; CASTELLS *et al.*, 1995), ingestão habitual de álcool (LIEBER *et al.*, 1986), tabagismo, história familiar de CHC, níveis elevados de testosterona, nível sérico baixo de

retinol, aflatoxina (CHEN, *et al.*, 1996) e hemocromatose primária (NAKANUMA *et al.*, 1990).

No presente estudo, 89,4 % (17/19) dos pacientes com CHC apresentavam CH, estando estes dados em conformidade com os outros achados da literatura. JOHNSON & WILLIAMS (1987) relataram que a CH encontrava-se presente em 70-90% dos casos de CHC, e FUJIYAMA *et al.* (1988), em 93,3% (112/120). No presente trabalho, dos pacientes que foram estudados no Japão, a CH estava presente em 81,3% (26/32).

No Japão, atualmente, o vírus C é encontrado em mais de 80% dos pacientes com CHC. Houve uma redução na taxa de positividade do antígeno de superfície (AgHBs), que era de 41% no período de 1968 a 1977, para 22% no período de 1986 a 1987 (WATANABE *et al.*, 1994). Em nosso estudo, porém, demonstramos a presença do vírus C em 33,3% (6/18), do vírus B em 27,7% (5/18) e do álcool em 68,4 % (13/19) dos casos de CHC. A associação entre álcool e o AgHBs ocorreu em 15,7% (3/19) e do álcool com o vírus C, em 26,3% (5/19) dos indivíduos com CHC. Em nenhum paciente houve associação entre o vírus B, o vírus C e o álcool (anexo 24). Em relação ao grupo japonês com CHC, o vírus C esteve presente em 50% (16/32) dos pacientes, o vírus B em 25,8% (8/31) e o álcool em 6,3% (2/32) (anexo 25).

O resultado do nível plasmático da desgamacarboxiprotrombina (DCP) nos pacientes do grupo CHC-B mostrou uma média de 2,99 U.A/ml, com os índices variando entre 0 a 8,0 U.A/ml. Ressaltamos que, 31,5% (6/19) dos pacientes atingiram o nível máximo de DCP para o método utilizado, ou seja, valores acima de 8,0 U.A/ml. Nos pacientes japoneses a média foi de 1,94 U.A/ml, com nível plasmático variando entre 0 e 9,0 U.A/ml. É importante salientar que, 21,6 % (5/32) apresentavam valores de 9,0 U.A/ml.

Os resultados de nosso trabalho demonstram que, o percentual de positividade dos valores plasmáticos de DCP nos pacientes do grupo CHC-B foi de 57,9% (11/19), e que os demais grupos de brasileiros apresentaram positividade de 13,7% (10/73). Estes resultados mostraram que, a positividade da DCP nos pacientes do grupo CHC-B foi estatisticamente significativa quando comparada com os demais grupos de brasileiros

($p = 0,00009$) (tabela 9). Este percentual de positividade em torno de 13,7% pode ser considerado elevado quando se comparado aos resultados encontrados na literatura.

LIEBMAN *et al.* (1984), usando um método competitivo por radio-imunensaio, encontraram positividade de 91% (69/76) de DCP no plasma de pacientes com CHC. Destes, 67% apresentavam níveis elevados de DCP, acima de 300 ng/ml. Este valor de 300 ng/ml estava bem acima daqueles encontrados nos pacientes com outras doenças hepáticas.

Posteriormente, vários estudos foram realizados e demonstraram percentuais de positividade diferentes. Entre estes, podemos citar trabalhos de FUJIYAMA *et al.* (1986) que, utilizando o método de ELISA, encontraram positividade de 65,0% (41/63); SOULIER *et al.* (1986), que trabalhando com um método por estafilocococoagulase, acharam taxa de positividade em torno de 74 % (56/75); e OKUDA *et al.* (1987a), usando também o método de ELISA, encontraram positividade de 57,7 % (30/52). FUJIYAMA *et al.* (1988), utilizando o método por enzima imunoensaio (EIA), depararam-se com uma positividade de 63,3% (76/120); HATTORI *et al.* (1988), usando o método EIA, demonstraram positividade de 52,9% (298/558), NAKAO *et al.* (1991b) encontraram 46,2% (42/91), NAKAO *et al.* (1991a), 94,1% (32/34), SUEHIRO *et al.* (1994), 35,1% (65/185) e, mais recentemente, AOYAGI *et al.* (1996) 51% (126/245) de positividade de DCP em pacientes com CHC. Observamos que a taxa de positividade de DCP varia quando se utilizam os diferentes métodos supramencionados. O estudo realizado por NAKAO *et al.* (1991a), mostrou positividade muito elevada quando comparado com outros autores japoneses. Isto se deve, possivelmente ao fato do estudo ter sido feito em outro país - Estados Unidos, e que o CHC nesta região pode diferir em termos de etiologia ou de função celular.

O presente trabalho mostrou nível plasmático de DCP igual ou maior que 0,1 U.A/ml em 29,4% (5/17) dos pacientes com MH, e em 26,3% (5/19) dos pacientes com CH. FUJIYAMA *et al.* (1988) e HATTORI *et al.* (1988) usando o mesmo método que utilizamos neste trabalho, ou seja, o de enzima imunoensaio (E-1023), encontraram nos pacientes com MH um percentual de positividade de 15,4% (2/13) e 6,9% (2/29), respectivamente. Estes mesmos autores verificaram, nos pacientes com CH, um percentual

de positividade de 4,4% (6/136) e 3,9% (16/404), respectivamente. FUJIYAMA *et al.* (1986), utilizando o método ELISA, acharam valores positivos em 28,6% dos pacientes com MH e em 19,8% daqueles com CH, considerando os valores plasmáticos normais de DCP inferiores a 0,13 U.A/ml.

Em nosso estudo, somente cinco pacientes com CH apresentaram níveis de DCP acima de 0,1 U.A/ml. Destes, apenas um mostrou nível de DCP acima de 1,0 U.A/ml, ou seja, exatamente 1,19 U.A/ml (anexo 16). Ressaltamos que, os resultados em relação à CH não diferem muito daqueles comentados por outros autores (FUJIYAMA *et al.*, 1986 ; DEYASHIKI *et al.*, 1989 ; NAKAO *et al.*, 1991b). O paciente com valor elevado de DCP estava em fase de descompensação da CH, apresentando, em sua evolução, alargamento do RNI. Talvez, neste paciente, a piora da função hepatocelular explique a elevação de DCP (No.4, anexo 16).

Nos pacientes com MH, a positividade de DCP foi de 29,4%. Quatro pacientes tiveram elevação de DCP acima de 0,1 U.A/ml (anexo 18). Um paciente com DCP no plasma, de 2,41 U.A/ml, tinha adenocarcinoma do estômago com invasão pancreática e, ainda, múltiplas lesões focais hepáticas de mais ou menos 1,4 cm de diâmetro, além de alargamento do valor de RNI (No.11, anexo 23). Outro, com nível plasmático de DCP de 3,20 U.A/ml, tinha lesões focais hepáticas disseminadas com diâmetros de 2,0 cm, e valores de FA e GGT de 2,56 e 33,1 vezes acima do valor normal, respectivamente, assim como alteração da função hepática (No.8, anexo 11). Estes pacientes apresentavam sinais laboratoriais de coléstase intra-hepática e também deterioração da função hepatocelular. Ambos não mostraram ao US parâmetros que sugerissem CH. Nos quatro pacientes que apresentavam níveis de DCP elevados, acima de 0,1 U.A/ml, as origens dos tumores foram: câncer de estômago com invasão pancreática, câncer de reto, câncer de cólon e, em apenas um caso, o tumor primário não foi determinado (anexo 18, anexo 23).

Há outras situações nas quais a DCP encontra-se anormalmente elevada na ausência de CHC: pacientes com icterícia obstrutiva (câncer de pâncreas, de papila e do trato biliar) (HATTORI *et al.*, 1988 ; NAKAO *et al.*, 1991a), níveis elevados de bilirrubina, deficiência de vitamina K e(ou) piora nos testes de funções hepáticas (fatores K dependentes

da coagulação, como II, VII, IX, e X). Portanto, os níveis anormais de DCP devem ser analisados com cuidado após a realização dos testes de funções hepáticas e dos fatores de coagulação (NAKAO *et al.*, 1991b).

As elevações dos níveis plasmáticos de DCP encontradas nos pacientes com MH ocorreram, provavelmente, em virtude de alterações estruturais do parênquima hepático as quais, por sua vez, devem-se à presença de múltiplas lesões do fígado, estagnação da bile intra-hepática e conseqüente dificuldade de excreção e talvez deficiência de vitamina K (OKUDA *et al.*, 1987a).

A vitamina K é uma vitamina lipossolúvel, proveniente dos alimentos e da microflora intestinal. Sua absorção ocorre através da parede do intestino na presença de bile e do suco pancreático. No fígado, a presença da vitamina K é importante para converter a protrombina inativa, que contém 10 resíduos de ácido glutâmico (GLU) em sua porção amino-terminal, em forma ativa, rica em ácido gamacarboxiglutâmico (GLA) (NAKAO *et al.*, 1991b). Para que ocorra a carboxilação, o sistema enzimático gamacarboxilase requer a vitamina K como co-fator. Na ausência ou deficiência desta vitamina, não ocorre a conversão e a protrombina é liberada em sua forma inativa, ou seja, DCP (HUISSE *et al.*, 1994).

Em nosso trabalho, a elevação plasmática da DCP foi um fator relevante de surgimento do CHC ($p = 0,0001$). Foi demonstrado que, o aumento de uma unidade no valor logarítmico da DCP equívale ao aumento de 1,282 vezes na chance de um paciente apresentar CHC.

O teste de sensibilidade, especificidade, valores de predição positivo e negativo para a DCP foram avaliados, no presente estudo, nos pacientes com CHC, naqueles com CH, MH, HH e também nos indivíduos normais (tabela 11). A sensibilidade foi de 57,9% com intervalo de confiança de 95%, ou seja, com 95% de chance de encontrar-se entre o valor mínimo de 34 % e o máximo de 78,9%. A especificidade foi de 86,3% com intervalo de confiança de 95%, isto é, com 95% de chance de encontrar-se entre o valor mínimo de 75,8% e o máximo de 92,9%. Os valores de predição positivo e negativo foram de 52,4% e

88,7%, respectivamente. O nível de corte de DCP usado neste estudo para o diagnóstico de CHC foi igual ou maior que 0,1 U.A/ml.

Quando consideramos, em nosso trabalho, o nível de corte maior ou igual a 1,0 U.A/ml para DCP no diagnóstico de CHC, com o propósito de diminuir os falsos positivos, a sensibilidade diminuiu para 42%, havendo aumento da especificidade para 94%, e do valor de predição positivo para 66,6%. SUEHIRO *et al.* (1994) em 185 pacientes com CHC encontraram 35,1% de sensibilidade, 95% de especificidade, 94,2% de valor de predição positivo e 40,3% de negativo. AOYAGI *et al.* (1996) mostraram sensibilidade de 50-60% nos pacientes com CHC. Estudando CHC em negros africanos KING *et al.* (1989) verificaram sensibilidade de 56,1%, especificidade de 94,2%, valor de predição positivo de 88,7% e negativo de 72,4%.

A taxa de positividade da DCP nos pacientes do grupo CHC-B foi de 57,9% e, nos pacientes japoneses, de 53,1%. Portanto, não houve diferença entre os dois grupos com relação aos valores plasmáticos de DCP ($p = 0,5160$). Este achado é importante, visto que, apesar de empregarmos casuísticas diferentes, os resultados encontrados foram similares (tabela 11).

Em nossa casuística não houve correlação entre a concentração plasmática de DCP e o tamanho do tumor ($r = - 0,03130$, $n = 16$, $p = 0,9084$) nos pacientes do grupo CHC-B (tabela 13, fig. 11). No entanto, os achados demonstraram que, em um paciente com tumor menor que 2,0 cm e em dois pacientes com tumores únicos entre 2 e 5 cm os níveis plasmáticos de DCP foram negativos; entre os tumores únicos maiores que 5 cm (4/5), 80% apresentavam concentração elevada de DCP, atingindo nível plasmático máximo, ou seja, todos acima de 8,0 U.A/ml; entre os tumores multinodulares (5/10) 50% mostravam elevação de DCP no plasma. Destes tumores multinodulares, seis tinham mais de três nódulos no parênquima hepático, e quatro, dois nódulos. Um paciente, que apresentava nível elevado de DCP, tinha um tumor avançado do tipo maciço na classificação de Eggerl (KOJIRO, 1992), envolvendo todo o lobo esquerdo.

No grupo de pacientes japoneses com CHC, houve correlação entre a concentração plasmática de DCP e o tamanho do tumor ($r = 0,54471$, $n = 32$, $p = 0,0013$) (tabela 13, fig. 12). Nesta série, o nível plasmático de DCP foi negativo em um paciente com tumor menor que 2,0 cm; 45 % dos pacientes com tumores entre 2-5 cm (5/11) apresentavam elevação de DCP no plasma; 50% daqueles com tumores maiores que 5,0 cm (1/2) e 66% daqueles que apresentavam tumores multinodulares (12/18) tinham DCP elevada (anexo 20, anexo 22).

Os resultados de nosso estudo mostraram que, existe tendência de aumento da concentração plasmática de DCP nos pacientes com tumores avançados, principalmente entre aqueles cujo diâmetro do tumor está acima de 5 cm e naqueles com tumores multinodulares, mesmo que apresentem nódulos menores que 2,0 cm no parênquima hepático. Estes achados estão em conformidade com os que foram verificados por outros autores (TANABE *et al.*, 1988; TSAI *et al.*, 1990; FUJIYAMA *et al.*, 1991; KASAHARA *et al.*, 1993).

A diferença de correlação entre DCP plasmática e tamanho dos tumores nos pacientes brasileiros em relação aos japoneses com CHC ocorreu provavelmente pelos seguintes fatores: 1) diferença de casuística entre os dois grupos 2) maior presença de tumores multinodulares e de diâmetros maiores no grupo de pacientes japoneses, correspondendo a 56,2% dos pacientes com CHC e elevação de DCP em 66% dos casos, 3) ou provavelmente, porque existam diferenças entre os dois grupos em termos de função celular ou etiologia dos tumores (NAKAO *et al.*, 1991b).

Nesta série, quando reunimos os níveis plasmáticos de DCP dos indivíduos japoneses e brasileiros houve correlação com o tamanho dos tumores ($r = 0,31241$, $n = 48$, $p = 0,0306$) (tabela 13, fig. 10). Não houve correlação entre DCP plasmática e tamanho dos tumores nos pacientes com MH ($r = -0,42059$, $n = 13$, $p = 0,1524$) (fig. 13).

No presente estudo, a taxa de positividade de A.F.P. foi 52,9% no grupo brasileiro com CHC e 37,5 % no grupo japonês, portanto, equivalente a de outros trabalhos (FUJIYAMA *et al.*, 1988; KASAHARA *et al.*, 1993). Nesta série, quando foram

comparados os valores de DCP e A.F.P. nos grupos brasileiro e japonês com CHC, estatisticamente não houve diferença ($p = 0,2386$) (tabela 12).

Devemos ressaltar que, o aumento de uma unidade no valor logarítmico de A.F.P., equivale ao aumento de 2,763 vezes ($p=0,0003$) na chance de um paciente apresentar CHC. Quando a DCP e A.F.P. se confrontam dentro do mesmo modelo de avaliação supracitado, o aumento de uma unidade no valor logarítmico da DCP não é estatisticamente significativo ($p = 0,1724$), enquanto o valor logarítmico de A.F.P. ainda é estatisticamente significativo ($p = 0,0009$) (tabela 7). Assim, é provável que os dois marcadores estejam correlacionados. Na presença do valor de A.F.P., a adição da DCP não acrescenta muito às informações sobre a possibilidade de um indivíduo apresentar CHC.

Quando determinamos um nível de corte maior que 20 vezes o valor normal de A.F.P. por ng/ml, achamos uma sensibilidade de 47,4% com intervalo de confiança de 95%, ou seja, a sensibilidade pode ficar entre o valor inferior de 25,2 e superior de 70,5%. A especificidade determinada foi de 98,6% com intervalo de confiança de 95%, isto é, a especificidade pode variar entre o valor inferior de 91,6 % e superior de 99,9% (tabela 15).

Ao elevarmos o nível de corte para maior que 40 vezes o valor normal de A.F.P. por ng/ml (equivalente a 400 ng/ml), houve diminuição da sensibilidade em torno de 36,8% com intervalo de confiança de 95%, ou seja, podendo este valor oscilar entre o limite inferior de 17,2% e superior de 61,4 %. No entanto, a especificidade permaneceu inalterada em torno de 98,6% (tabela 15). Isto ocorreu porque não houve aumento do número de falsos positivos, e, por outro lado, houve crescimento de falsos negativos, e conseqüentemente, redução da sensibilidade.

KING *et al.* (1989) utilizando um corte para A.F.P. de 400 ng/ml, obteve sensibilidade de 72,4% e especificidade de 98,3% em negros africanos com CHC. Outro estudo, realizado por SUEHIRO *et al.* (1994) encontrou sensibilidade maior do que a de nossa série, em torno de 65,4%, porém, com especificidade inferior (71,8%). Entretanto, o nível de corte determinado por este autor foi bem inferior ao nosso. FORONES *et al.* (1995) estudando 15 pacientes com CHC verificaram sensibilidade de 93,3% e especificidade de

82,2% quando o nível de corte foi 15 ng/ml. Porém, quando aumentaram o nível de corte para 100 ng/ml houve queda da sensibilidade para 73,3% e aumento da especificidade para 98,5%.

Em nosso trabalho, somente houve correlação positiva entre A.F.P. e o tamanho dos tumores nos pacientes japoneses com CHC ($r = 0,42575$, $n = 32$, $p = 0,0151$) (tabela 16, fig. 16). Em 37,5% (12/32), a A.F.P. foi maior ou igual a 20 vezes o valor normal em ng/ml, sendo o valor mínimo, de 22,7 e, o máximo, de 3.200 vezes o valor normal em ng/ml. Este fato se deve, provavelmente, ao maior percentual de tumores multinodulares de diâmetros maiores e que apresentam níveis séricos elevados de A.F.P. Outros trabalhos têm demonstrado tendência de elevação dos níveis séricos de A.F.P. em pacientes com múltiplos CHC (SOLMI, PRIMERANO, GANDOLFI, 1996) ou que tenham tumores avançados do tipo maciço. Nos demais grupos estudados não houve correlação entre diâmetro do tumor e nível sérico de A.F.P..

No presente estudo, para se avaliar a eficácia deste novo marcador tumoral, a desgamacarboxiprotrombina, os valores plasmáticos da DCP foram comparados com os níveis séricos de A.F.P., um marcador tumoral reconhecido mundialmente. Usando-se um valor de corte para A.F.P. igual ou maior do que 20 vezes o valor normal em ng/ml (A.F.P. com valor entre 150 - 200 ng/ml) e DCP igual ou maior que 0.1 U.A/ml, os dois marcadores foram positivos em 41,1%; somente a A.F.P. foi positiva em 11,7%; somente a DCP foi positiva em 11,7% e ambos negativos em 35,2%. A DCP foi positiva em 52,9% dos casos. Quando os dois marcadores foram utilizados para o diagnóstico de CHC, a taxa de positividade foi de 64,5% . Houve correlação positiva entre os níveis plasmáticos de DCP e os níveis séricos de A.F.P. nos pacientes pertencentes ao grupo CHC-B (fig. 5).

Utilizando-se o mesmo corte supracitado para a DCP e A.F.P. em 49 pacientes com CHC, sendo 17 do grupo CHC-B e 32 do grupo CHC-J, os dois marcadores foram positivos em 34,6%; negativos em 38,7%; somente a DCP foi positiva em 18,3% e somente a A.F.P. foi positiva em 8,1% dos pacientes. A DCP foi também positiva em 52,9% dos casos. Quando os dois marcadores foram combinados para o diagnóstico de CHC, a

positividade foi de 61,0 %. A associação entre os dois marcadores foi também positiva ($r = 0,58998$, $n = 49$, $p = 0,0001$) (fig.. 7).

IZUNO *et al.* (1995) utilizando os dois marcadores para o diagnóstico de CHC, encontraram taxa de positividade de 70,9%, acima daquela encontrada em nosso trabalho, porém, não verificaram correlação entre o nível plasmático de DCP e o nível sérico de A.F.P.. FUJIYAMA *et al.* (1991) e FUJIYAMA *et al.* (1992) encontraram taxa de positividade de 41,3% e 69%, respectivamente, usando também os dois marcadores no diagnóstico de CHC. O método aplicado por estes autores foi o mesmo usado no presente.

As concentrações plasmáticas de DCP e séricas de A.F.P. mostraram-se limitadas, nesta série, no diagnóstico de CHC pequeno. Nos três tumores pequenos observados em nosso trabalho, sendo dois do grupo CHC-B e um do CHC-J, os dois marcadores foram negativos. Apesar de serem poucos os pacientes com lesões pequenas, estes resultados são coerentes com os citados por outros autores (CHAN *et al.*, 1991; NAKAO *et al.*, 1991b; FUJIYAMA *et al.*, 1992; INOUE *et al.*, 1994; IZUNO *et al.*, 1995; NOMURA *et al.*, 1996). A dosagem plasmática do marcador tumoral DCP, mesmo que ele não tenha grande utilidade no diagnóstico do CHC pequeno, é importante, principalmente nos casos que a A.F.P. séria é baixa. No presente estudo, tivemos 9 pacientes em que os níveis séricos de A.F.P. estavam baixos, porém, apresentavam concentração plasmática de DCP acima de 0,1 U.A/ml.

Com a combinação dos marcadores tumorais, ou seja, a DCP com nível de corte igual ou maior que 0,1 U.A/ml e valor de A.F.P. 20 vezes acima do valor normal ng/ml, a sensibilidade e especificidade foram 53,8% e 100%, respectivamente. O valor de predição positivo foi de 100% e o negativo de 83%. Quando elevamos o nível de corte da A.F.P. para 40 vezes acima do valor normal em ng/ml, a sensibilidade caiu para 46,1%, a especificidade e o valor de predição positivo permaneceram em 100% e o valor de predição negativo cresceu para 86,7%.

Estes resultados diferem daqueles encontrados por SUEHIRO *et al.* (1994) que demonstraram sensibilidade de 78,4%, especificidade de 69,4%, valores de predição

positivo de 84,8% e negativo de 59,6%. GROSLEY *et al.* (1996) verificaram sensibilidade de 71% quando combinaram os dois marcadores tumorais. LIEBMAN *et al.* (1984) identificaram 84 % dos pacientes com CHC quando utilizaram os dois testes. Esta diferença de resultados ocorreu, em nosso estudo, provavelmente pela associação positiva entre os dois marcadores.

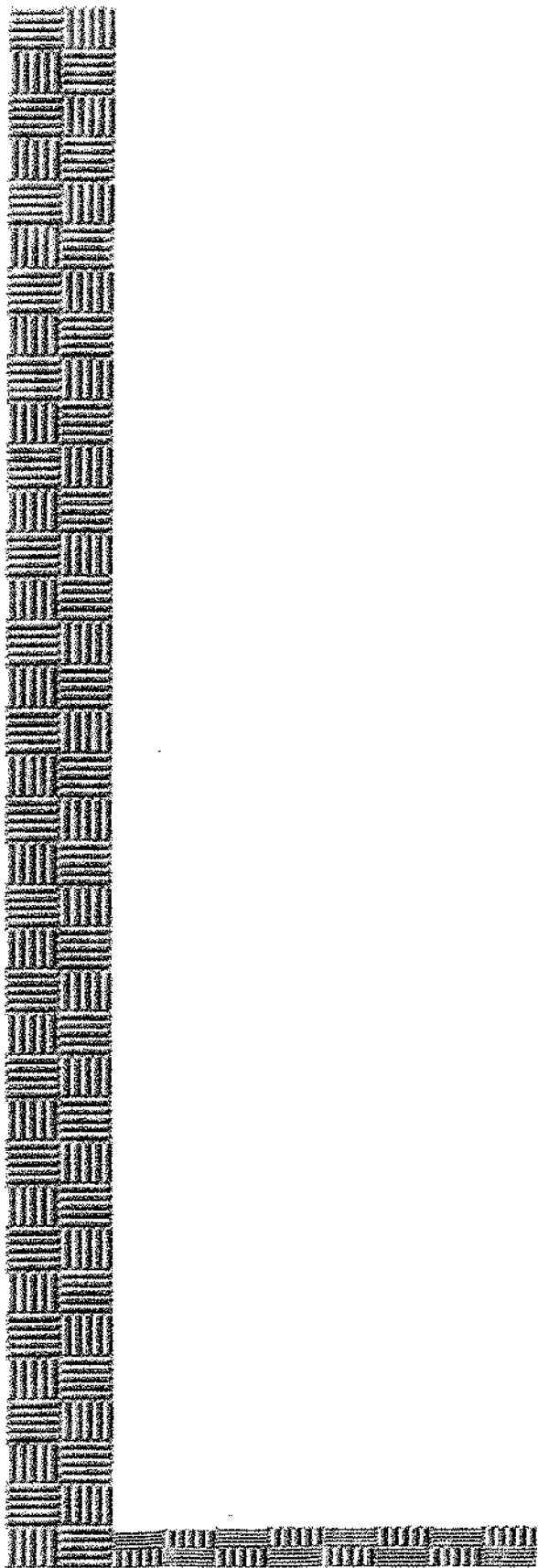
No presente trabalho, não foi possível a confirmação histológica de CHC em cinco pacientes (26,3%) (anexo 21). O diagnóstico foi definido através dos dados clínicos, estudo de imagem e dos marcadores tumorais. Estes pacientes apresentavam elementos clínicos e laboratoriais sugestivos de CH. Três indivíduos eram portadores de vírus C. Em dois destes pacientes havia associação com álcool; um tinha vírus B positivo e outro, apenas história de ingestão de álcool. Em quatro pacientes os tumores eram avançados, com tamanho acima de 3,0 cm, sendo que, em um caso o tumor era extenso envolvendo o lobo esquerdo hepático. Apenas um paciente tinha lesão única e menor que 2,0 cm, apresentava CH de etiologia por vírus C, sendo que o diagnóstico fora feito pelo US, no qual observou-se imagem heterogênea com margem periférica hipocogênica.

O diagnóstico histológico de 73,6% dos pacientes com CHC-B (14/19) foi: bem diferenciado em 42,9% (6/14), moderadamente diferenciado em 35,7% (5/14) e pobremente diferenciado em 21,4% (3/14), ou seja, grau I, II e III, segundo o grau de diferenciação de EDMONDSON & STEINER (1954). Entretanto, nos grupos de risco, o diagnóstico de CHC pode ser feito clinicamente pela combinação da US, TC, angiografia, ressonância magnética e marcadores tumorais. Em estudo recente, realizado no Japão com 10.877 pacientes com CHC, o diagnóstico foi feito em 36%, 33%, 19% e 11% pela US, angiografia, tomografia computadorizada e exame histológico, respectivamente (AOYAGI *et al.*, 1996).

A ultra-sonografia tornou-se um exame comum no Japão, e os Serviços de Gastroenterologia a utilizam regularmente no programa de rastreamento de CHC nos pacientes com cirrose hepática e hepatite crônica (OKUDA, 1986a; CALVET *et al.*, 1990a; ZOLI *et al.*, 1996). O ultra-som tem-se mostrado o melhor método entre os vários existentes, apresentando sensibilidade de 85-90 %, segundo alguns estudos, na detecção do

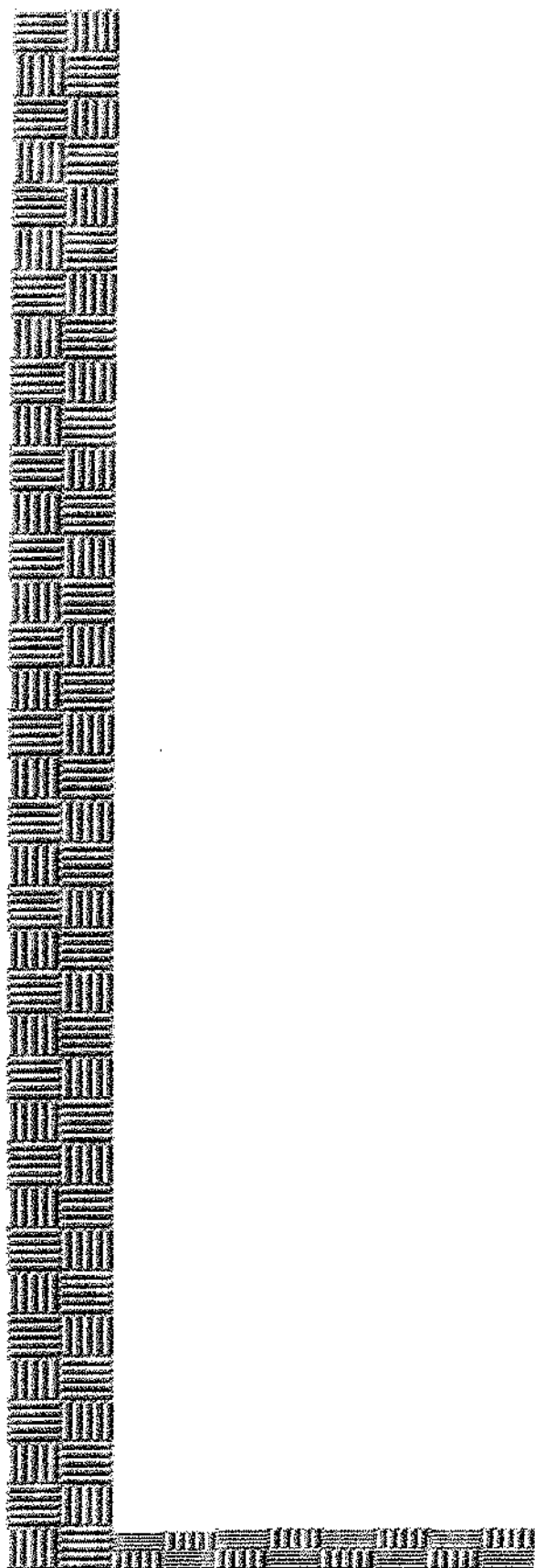
CHC pequeno (EBARA *et al.*, 1986; SOLMI *et al.*, 1996). Recentemente, o US com “doppler” colorido tem sido empregado no estudo hemodinâmico para diagnóstico do CHC, detectando em torno de 85% dos tumores com diâmetros menores que 2,0 cm (KIDO, 1992). A utilização do nível plasmático de DCP tem sido limitada como marcador tumoral no rastreamento de CHC pequeno (FUJIYAMA *et al.*, 1986; CHAN *et al.*, 1991; KASAHARA *et al.*, 1993; INOUE *et al.*, 1994).

Finalmente, nossos resultados demonstraram que, a DCP é um marcador tumoral útil no diagnóstico de CHC. Quando comparada com a A.F.P., a sensibilidade da DCP foi maior, porém, sua especificidade foi inferior. Entretanto, houve associação entre os dois marcadores e, a combinação de ambos aumenta a taxa de positividade na detecção do tumor.



6. Conclusão

- 6.1. A desgamacarboxiprotrombina (DCP) é um marcador tumoral que complementa o diagnóstico do carcinoma hepatocelular (CHC), apresentando sensibilidade de 57,9 %, especificidade de 86,3 %, valores de predição positivo e negativo de 52,4 % e 88,7 %, respectivamente.
- 6.2. A desgamacarboxiprotrombina (DCP) encontra-se elevada nos pacientes com carcinoma hepatocelular (CHC), tendo positividade de 57,9 %. Nos pacientes com metástase hepática (MH) e cirrose hepática (CH) a positividade foi de 29,4 % e 26,3 %, respectivamente.
- 6.3. Este estudo demonstrou que, o aumento de uma unidade na transformação logarítmica da DCP aumentou o risco de 1,2 vezes na chance do paciente apresentar carcinoma hepatocelular (CHC).
- 6.4. Não houve correlação entre os níveis plasmáticos da DCP e o tamanho dos tumores nos pacientes brasileiros com CHC. No entanto, nos tumores com diâmetros maiores que 5,0 cm e naqueles multinodulares há tendência de elevação da concentração plasmática da DCP.
- 6.5. Este trabalho demonstrou que, nos pacientes com CHC existe correlação entre os níveis plasmáticos da DCP e os níveis séricos de A.F.P..
- 6.6. Nosso estudo confirmou os achados de outros trabalhos anteriormente realizados, ou seja, a utilização combinada dos dois marcadores, a DCP e A.F.P., é importante para o diagnóstico do CHC, visto que houve aumento em torno de 64,5% na taxa de positividade.



7. Summary

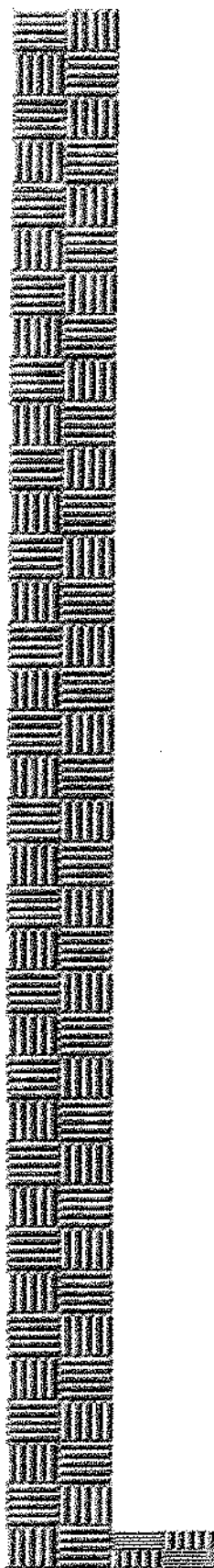
The aim of this work was to assess the usefulness of a new tumour marker, des- γ -carboxy prothrombin (DCP), in the diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC), and to compare this with that of α -fetoprotein (AFP). The study involved 124 patients, divided into two groups (92 Brazilians and 32 Japanese). The Brazilian subjects were further subdivided into five groups: 19 patients with HCC (group I), 19 with hepatic cirrhosis (group II), 17 with hepatic hemangioma (group III), 17 with hepatic metastasis (group IV) and 20 with dyspepsia who were not affected by any hepatic disease (group V). The Japanese patients constituted a further HCC group.

The medical and laboratory tests performed included alkaline phosphatase (AP), γ -glutamyl transferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), prothrombin time, expressed by INR (International Normalized Ratio), AFP and DCP, determinations an ultrasound scan, a tomography, hepatitis B and C virus serology and a hepatic biopsy. The histological diagnosis of HCC was based on the degree of Edmondson-Steiner histological differentiation.

The plasma DCP levels were determined in all patients using an immunoassay enzyme (EIA) (E-1023; Eitest MONO - P - II, Eisai C., Ltd., Tokyo). Among the HCC patients, 57,9% were positive for DCP while in the other groups only 13,7% were positive. The sensitivity and specificity of the EIA were 57,9% and 86,3%, respectively, while the predictive positive value was 52,4% and the predictive negative value was 88,7%.

A rise in the plasma concentration of DCP was observed in patients with tumours exceeding 5.0 cm in diameter and in those with multinodular lesions. There was a positive association between the plasma DCP levels and the serum AFP levels in HCC patients ($n = 49$; $r = 0.58998$; $p = 0.0001$).

We conclude that the determinations of DCP levels is a useful complementary tumour marker in the diagnosis of HCC and that the association between DCP and AFP is important because increases the frequency of positive HCC diagnose.



8. Referências bibliográficas

- ABELEV, G.I.; PEROVA, S.D.; KHRAMKOVA, N.I.; POSTNIKOVA, Z.A.; IRLIN, I.S. - Production of embryonal α -globulin by transplantable mouse hepatomas. **Transplant. Bull.**, **1**: 174-180, 1963.
- ADRIAN, M.; BISCEGLIE, DI.; HOOFNAGLE, J.H. - Elevations in serum alpha-fetoprotein levels in patients with chronic Hepatitis B. **Cancer**, **64**: 2117-2120, 1989.
- AGRESTI, A. & FINLAY, B. - Descriptive techniques. In:_____ - **Statistical methods for the social sciences**. 2.ed. San Francisco, Dellen, 1986a. cap.3. p.32-56.
- AGRESTI, A. & FINLAY, B. - Model for categorical variables. In:_____ - **Statistical methods for the social sciences**. 2.ed. San Francisco, Dellen, 1986b. cap.15. p.481-496.
- AGRESTI, A. & FINLAY, B. - Comparison of several groups. In: _____ - **Statistical methods for the social sciences**. 2.ed. San Francisco, Dellen, 1986c. cap.13. p.397-440.
- AGRESTI, A. & FINLAY, B. - Comparison of two groups. In:_____ - **Statistical methods for the social sciences**. 2.ed. San Francisco, Dellen, 1986d. cap.7. p.163-196.
- ALPERT, E. - Alpha-1-fetoprotein. **Clin. Gastroenterol.**, **5**: 639-644, 1976.
- ALPERT, E & FELLER, E.R. - α -fetoprotein (AFP) in benign liver disease: evidence that normal liver regeneration does not induce AFP synthesis. **Gastroenterology**, **74**: 856-858, 1978.
- ALPERT, M.E.; HUTT, M.S.R.; WOGAN, G.N.; DAVIDSON, C.S. - Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda. **Cancer**, **28**: 253-260, 1971.
- ALPERT, M.E. ; URIEL, J. ; de NECHAUD, B. - Alpha1 fetoglobulin in the diagnosis of human hepatoma. **N. Engl. J. Med**, **278**: 984-986, 1968.

- ALTER, H.J. - Clinical, virological and epidemiological basis for treatment of chronic non-A, non-B hepatitis. **J. Hepatol.**, **11**: S19-S25, 1990.
- ALTER, M.J.; MARGOLIS, H.S.; KRAWCZYNSKI, K.; JUDSON, F.N.; MALES, A.; ALEXANDER, W.J.; HU, P.Y.; MILLER, J.K.; GERBER, M.A; SAMPLINER, R.E.; MEEKS, E.L.; BEACH, M.J.; FOR THE SENTINEL COUNTIES CHRONIC NON-A, NON-B, HEPATITIS STUDY TEAM. - The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. **N. Engl. J. Med.**, **327**: 1899-1905, 1992.
- AOYAGI, Y.; OGURO, M.; YANAGI, M.; MITA, Y.; SUDA, T.; SUZUKI, Y.; HATA, K.; ICHII, K.; ASAKURA, H. - Clinical significance of simultaneous determinations of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in monitoring recurrence in patients with hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **77**: 1781-1786, 1996.
- BAC, C.DE.; STROFFOLINI, T.; GAETA, G.B.; TALIANI, G.; GIUSTI, G. - Pathogenic factors in cirrhosis with and without hepatocellular carcinoma: a multicenter Italian study. **Hepatology**, **20**: 1225-1230, 1994.
- BALLARDINI, G.; GROFF, P.; ZOLI, M.; BIANCHI, G.; GIOSTRA, F.; FRANCESCONI, R.; LENZI, M.; ZAULI, D.; CASSANI, F.; BIANCHI, F. - Increased risk of hepatocellular carcinoma development in patients with cirrhosis and with hepatocellular proliferation. **J. Hepatol.**, **20**: 218-222, 1994.
- BALL, D.; ROSE, E.; ALPERT, E. - Biological variation of alpha-fetoprotein levels in normal adults. **Gastroenterology**, **98**: A271, 1990.
- BEASLEY, R.P. - Hepatitis B virus as the etiology agent in hepatocellular carcinoma - Epidemiologic considerations. **Hepatology**, **2**: 21S-26S, 1982.
- BEASLEY, R.P. - Hepatitis B virus: The major etiology hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **61**: 1942-1956, 1988.

- BEASLEY, R.P.; HWANG, L-Y.; LIN, C-C.; CHIEN, C-S. - Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus: a prospective study of 22 707 men in Taiwan. **Lancet**, **2**: 1129-1132, 1981.
- BEASTALL, G.H.; COOK, B.; RUSTIN, G.J.S.; JENNINGS, J. - A review of the role of established tumour markers. **Ann. Clin. Biochem.**, **28**: 5-18, 1991.
- BERGMANN, J-F.; LANG, F.; DECHY, H.; DORRA, M. - α -fetoprotein in hepatitis superimposed on cirrhosis: a case of concomitant hepatitis B surface antigen and antibody associated with a major but transient increase in the α -fetoprotein level. **Am. J. Gastroenterol.**, **80**: 810-812, 1985.
- BLANCHARD, R.A.; FURIE, B.C.; JORGENSEN, M.; KRUGER, S.F.; FURIE, B. - Acquired Vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. **N. Engl. J. Med.**, **305**: 242-248, 1981.
- BLANCHARD, R.A.; FURIE, B.C.; KRUGER, S.F.; WANECK, G.; JORGENSEN, M.J.; FURIE, B. - Immunoassays of human prothrombin species which correlate with functional coagulant activities. **J. Lab. Clin. Med.**, **101**: 242-255, 1983.
- BLOOMER, J.R. - Serum alpha-fetoprotein in nonneoplastic liver diseases. **Dig. Dis. Sci.**, **25**: 241-242, 1980. [Editorial].
- BLUMBERG, R.S.; CHOPRA, S.; IBRAHIN, R.; CRAWFORD, J.; FARRAYE, F.A.; ZELDIS, J.B.; BERMAN, M.D. - Pathogenesis of hepatocellular carcinoma in hereditary hemochromatosis: occurrence in noncirrhotic patients. **Hepatology**, **11**: 1086-1087, 1990.
- BRÉCHOT, C.; NALPAS, B.; COUROUGÉ, A-M.; DUHAMEL, G.; CALLARD, P.; CARNOT, F.; TIOLLAIS, P.; BERTHELOT, P. - Evidence that hepatitis B virus has a role in liver-cell carcinoma in alcoholic liver disease. **N. Engl. J. Med.**, **306**: 1384-1387, 1982.

- BROWN, J.A. & ROBERTS, C.S. - Elevated serum alpha-fetoprotein levels in primary gallbladder carcinoma without hepatic involvement. **Cancer**, **70**:1838-1840, 1992.
- CALVET, X.; BRUIX, J.; BRU, C.; GINÉS, P.; VILANA, R.; SOLÉ, M.; AYUSO, M.C.; BRUGUERA, M.; RODÉS, J. - Natural history of hepatocellular carcinoma in Spain. **J. Hepatol.**, **10**: 311-317, 1990a.
- CALVET, X.; BRUIX, J.; GINÉS, P.; BRU, C.; SOLÉ, M.; VILANA, R.; RODÉS, J. - Prognostic factors of hepatocellular carcinoma in the west: a multivariate analysis in 206 patients. **Hepatology**, **12**: 753-760, 1990b.
- CARRILHO, F.J.; ALVES, V.A.F.; GAYOTO, L.C.C.; SILVA, L.C. da. - Carcinoma hepatocelular. aspectos etiopatogênicos, clínicos e diagnóstico. In: SILVA, L.C. da. - **Hepatites Agudas e Crônicas**. 2. ed. São Paulo, Sarvier, 1995. p.299-309.
- CASTELLS, L.; VARGAS, V.; GONZALES, A.; ESTEBAN, J.; ESTEBAN, R.; GUARDIA, J. - Long interval between HCV infection and development of hepatocellular carcinoma. **Liver**, **15**: 159-163, 1995.
- CHAN, C-Y.; LEE, S-D.; WU, J-C.; LIN, H-C.; HUANG, Y-S.; LO, G-H.; LEE, F-Y.; TSAL, Y-T.; LO, K-J. - The diagnostic value of the assay of des-y-carboxy prothrombin in the detection of small hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, **13**: 21-24, 1991.
- CHAYVIALLE, J.A.P.; BRISSOT, P.; PELLETIER, M.J.; NERCY, DE H.Y.; LAMBERT, R.; BOUREL, M. - α -fetoprotein screening in patients with idiopathic hemochromatosis and liver cirrhosis. **Digestion**, **16**: 118-127, 1977.
- CHEN, D.S.; SHEU, J.C.; SUNG, J.L.; LAI, M.Y.; LEE, C.S.; SU, C.T.; TSANG, Y.M.; HOW, S.W.; WANG, T.H.; YU, J.Y.; YANG, T.H.; WANG, C.Y.; HSU, C.Y. - Small hepatocellular carcinoma - a clinicopathological study in thirteen patients. **Gastroenterology**, **83**: 1109-1119, 1982.

- CHEN, D-S. & SUNG, J-L. - Serum alphafetoprotein in hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **40**: 779-783, 1977.
- CHEN, D-S.; SUNG, J-L.; SHEU, J-C.; LAI, M-Y.; HOW, S-W.; HSU, H-C.; LEE, C-S.; WEI, T- C. - Serum α -fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology**, **86**: 1404-1409, 1984.
- CHEN, C-J.; WANG, L-Y.; LU, S-N.; WU, M-H.; YOU, S-L.; ZHANG, Y-J.; WANG, L-W.; SANTELLA, R.M.- Elevated aflatoxin exposure and increased risk of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **24**: 38-42, 1996.
- CHOO, Q-L.; KUO, G.; WEINER, A.J.; OVERBY, L.R.; BRADLEY, D.W. HOUGHTON, M. - Isolation of a cDNA Clone Derived from a Blood-borne non-A, non-B viral Hepatitis Genome. **Science**, **244**: 359-362, 1989.
- COHEN, E.B.; GANG, D.L.; ZELDIS, J.B. - Primary hepatocellular carcinoma following nonspecific non-B hepatitis with tumor DNA negative for HBV DNA. **Dig. Dis. Sci.**, **32**: 1428-1430, 1987.
- COLOMBO, M. - Hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, **15**: 225-236, 1992.
- COLOMBO, M. - Hepatocellular carcinoma in cirrhotics. **Semin. Liver Dis.**, **13**: 374-383, 1993.
- COLOMBO, M.; DE FRANCHIS, R.; DEL NINNO, E.; SANGIOVANNI, A.; DE FAZIO, C.; TOMMASINI, M.; DONATO, M.F.; PIVA, A.; DI CARLO, V.; DIOGUARDI, N. - Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. **N. Engl. J. Med.**, **325**: 675-680, 1991.
- COTRIM, H. - Estudo Controlado Sobre a Importância da Associação Carcinoma Hepatocelular e Vírus B em Salvador, Bahia. Salvador, 1988.
[Tese - Doutorado - Universidade Federal da Bahia]

- COTRIM, H.; MOTA, E.; LEITE, L.; SILVA, L.; LYRA, L. - A case-control study on the association of hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma in Northeast Brazil. **Rev. Saúde Públ.**, 26:301- 305, 1992.
- COTTONE, M.; MARCENÓ, M. P.; MARINGHINI, A.; RINALDI, F.; RUSSO, G.; SCIARRINO, E.; TURKI, M.; PAGLIARO, L. - Ultrasound in the diagnosis of hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis. **Radiology**, 147: 515-519, 1983.
- COTTONE, M.; TURRI, M.; CALTAGIRONE, M.; MARINGHINI, A.; SCIARRINO, E.; VIRDONE, R.; FUSCO, G.; ORLANDO, A.; MARINO, L.; PAGLIARI, L. - Early detection of hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis by ultrasound and alphafetoprotein: a prospective study. **Hepatogastroenterology**, 135: 101-103, 1988.
- COTTONE, M.; TURRI, M.; CALTAGIRONE, M.; PARISI, P.; ORLANDO, A.; FIORENTINO, G.; VIRDONE, R.; FUSCO, G.; GRASSO, R.; SIMONETTI, R.G.; PAGLIARO, L. - Screening for hepatocellular carcinoma in patients with child's A cirrhosis: an 8-year prospective study by ultrasound and alphafetoprotein. **J. Hepatol.**, 21: 1029-1034, 1994.
- COTTONE, M.; VIRDONE, R.; FUSCO, G.; ORLANDO, A.; TURRI, M.; CALTAGIRONE, M.; MARINGHINI, A.; SCIARRINO, E.; DEMMA, I.; NICOLI, N.; TINE, F.; SAMMARCO, S.; PAGLIARO, L. - Asymptomatic hepatocellular carcinoma in child's A cirrhosis. A comparison of natural history and surgical treatment. **Gastroenterology**, 96: 1566-1571, 1989.
- CRISTIANI, A.; CIONI, G.; DE SANTIS, M.; CHIANESE, L.; GOZZETTI, G.; VENTURA, E. - Increase in serum alpha-fetoprotein without recurrent disease after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterology**, 41: 137-139, 1994.

- CROCE, L.S.; BERCICH, L.; SASSO, F.; MASUTTI, F.; MOLINO, R.; TIRIBELLI, C.
- Strategies in the study of hepatocellular carcinoma worldwide. **J. Surg. Oncol.**, 3
(Suppl): 37-39, 1993.
- DEYASHIKI, Y.; NISHIOKA, Y.; TAKAHASHI, K.; KOSAKA, Y.; SUZUKI, K. -
Evaluation of des-y-carboxy prothrombin as a marker protein of hepatocellular
carcinoma. **Cancer**, 64: 2546- 2551, 1989.
- DIAMANTIS, I.D.; McGANDY, C.E. ; CHEN, T-J.; LIAW, Y-F.; GUDAT, F.;
BIANCHI, L. - Detection of hepatitis B and C viruses in liver tissue with
hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, 20: 405-409, 1994.
- DI BISCEGLIE, A.M.; GOODMAN, Z.D.; ISHAK, K.G.; HOOFNAGLE, J.H.;
MELPOLDER, J.J.; ALTER, H.J. - Long-term clinical and histopathological follow-
up of chronic posttransfusion hepatitis. **Hepatology**, 14: 969-974, 1991.
- DI BISCEGLIE, A.M.; RUSTGI, V.K.; HOOFNAGLE, J.H.; DUSHEIKO, G.M.;
LOTZE, M.T. - Hepatocellular carcinoma. **Ann. Int. Med.**, 108: 390-401, 1988.
- EBARA, M.; OHTO, M.; SHINAGAWA, T.; SUGIURA, N.; KIMURA, K.;
MATSUTANI, S.; MORITA, M.; SAISHO, H.; TSUCHIYA, Y.; OKUDA, K. -
Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimeter
complicating cirrhosis. A study in 22 patients. **Gastroenterology**, 90: 289-298, 1986.
- EDMONDSON, H.A. & PETERS, R.L. - Tumors of the liver: pathologic features.
Semin. Roentgenol., 18: 75-83, 1983.
- EDMONDSON, H.A. & STEINER, P.E. - Primary carcinoma of the liver. A study of
100 cases among 48,900 necropsies. **Cancer**, 7: 462-503, 1954.
- FATTOVICH, G.; GIUSTINA, G.; SCHALM, S.W.; HADZIYANNIS, S.; SANCHEZ-
TAPIAS, J.; ALMASIO, P.; CHRISTENSEN, E.; KROGSGAARD, K.; DEGOS,
F.; MOURA, M.C.; SOLINAS, A.; NOVENTA, F.; REALDI, G.; THE EUROHEP
STUDY GROUP ON HEPATITIS B VIRUS AND CIRRHOSIS. - Ocurrance of
hepatocellular carcinoma and descompensation in western European patients with
cirrhosis type B. **Hepatology**, 21: 77-82, 1994.

- FERGUSON-SMITH, M.A.; MAY, M.M.; AITKEN, D.A.; OHARE, E.; YATES, J.R.W.; GALLAGHER, J.; KRUMALAUF, R.; TILGHMAN, S.M. - Hereditary persistence of alfafetoprotein (HPAFP); linkage studies with chromosome 4 markers. *Cytogenet. Cell Genet.*, **37**: 469, 1984. [Abstract].
- FLETCHER, R.H. ; FLETCHER, S. W. ; WAGNER, E. H. - Diagnóstico. In: _____ - **Epidemiologia clínica**. 2.ed. Porto Alegre, Artes Médicas, 1991. cap.3. p.68-107.
- FORONES, N.M.; QUEIROZ, L.A.; FERRAZ, M.L.G.; PARISE, E.R. - Alfafetoproteína nos tumores de fígado e hepatopatias benignas. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, **41**: 91-93, 1995.
- FUJIYAMA, S.; IZUNO, K.; GOHSHI, K.; SHIBATA, J.; SATO, T. - Clinical usefulness of des-gamma-carboxy prothrombin assay in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dig. Dis. Sci.*, **36**: 1787-1792, 1991.
- FUJIYAMA, S.; MORISHITA, T.; HASHIGUCHI, O.; SATO, T. - Plasma abnormal prothrombin (des-gamma-carboxy prothrombin) as a marker of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, **61**: 1621-1628, 1988.
- FUJIYAMA, S.; MORISHITA, T.; SAGARA, K.; SATO, T.; MOTOHARA, K.; MATSUDA, I. - Clinical evaluation of plasma abnormal prothrombin (PIVKA-II) in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, **33**: 201-205, 1986.
- FUJIYAMA, S.; IZUNO, K.; YAMASAKI, K.; SATO, T.; TAKETA, K. - Determination of optimum cutoff levels of plasma des-y-carboxy prothrombin and serum α -fetoprotein for the diagnosis of hepatocellular carcinoma using receiver operating characteristic curves. *Tumor Biol.*, **13**: 316-323, 1992.

- GANDOLFI, L.; SOLMI, L.; BERTONI, F.; MURATORI, R.; STASI, G.; - Small hepatocellular carcinoma: an Italian experience. **Hepatogastroenterology**, **34**: 100-102, 1987.
- GANROT, P.O. & NILEHN, J. E. - Plasma prothrombin during the treatment with dicumarol: demonstration of an abnormal prothrombin fraction. **Scand. J. Clin. Lab. Invest.**, **22**: 23-28, 1968.
- GARCÍA, G.C.; RENDÓN, U.P.; MARTÍN, H.L.; SORIA DE LA CRUZ, M.J.; MACÍAS, M.A.; ALCAÍN, G. - Utilidad de la ecografía en el diagnóstico precoz del hepatocarcinoma en pacientes con cirrosis hepática. **Rev. Esp. Enferm. Dig.**, **87**: 798-801, 1995.
- GIBBS, P.E.M.; ZIELINSKI, R.; BOYD, C.; DUGAICZYK, A. - Structure, polymorphism and novel repeated DNA elements revealed by a complete sequence of the human α -fetoprotein gene. **Biochemistry**, **26**: 1332-1343, 1987.
- GILLIAM, J.H; GEISINGER, K.R.; RICHTER, J. E. - Primary hepatocellular carcinoma after chronic non-A, non-B post-transfusion hepatitis. **Ann.Int.Med.**, **101**: 794-795, 1984.
- GITLIN, D. & BOESMAN, M. - Sites of serum α -fetoprotein synthesis in the human and the rat. **J. Clin. Invest.**, **46**: 1010-1016, 1967.
- GONÇALVES, C.S. & PEREIRA, F.E.L. - Carcinoma hepatocelular. **Moderna Hepatologia, Rio de Janeiro.**, **2**: 4-17, 1991.
- GONÇALVES, C.S. & PEREIRA, F.E.L. - Estudo comparativo de Carcinomas hepatocelulares HbsAg positivos e negativos diagnosticados no Estado do Espírito Santo (Brasil), **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med., São Paulo**, **38**: 126-129, 1983.
- GONÇALVES, C.S.; PEREIRA, F.E.L.; GAYOTTO, L.C.C. - Fórum sobre carcinoma hepatocelular no Brasil. **Espírito Santo, Vitória (Brasil).**, 1995.

- GONÇALVES, C.S.; PEREIRA, F.E.L.; VARGAS, P.R.M.; FERREIRA, L.S.E. - Hepatocellular carcinoma HbsAg positive in pregnancy. **Arq. Gastroenterol., São Paulo., 21:** 75-77, 1984.
- GONÇALVES, C. S. ; PEREIRA, F. E. L. ; ZAGO, M. P. - Carcinoma hepatocelular. **Arq. Gastroenterol., São Paulo., 25:** 207-217, 1988.
- GONÇALVES, C.S.; PEREIRA, F.E.L.; ZAGO, M.P.; CYRINO, S.M. - Familiar occurrence of hepatocellular carcinoma in Espírito Santo State, Brazil. **Dig. Dis. Sci., 31:** 102S, 1986a.
- GONÇALVES, C.S.; PEREIRA, F.E.L.; ZAGO, M.P.; MUSSO, C. - Hepatocellular carcinoma in Espírito Santo State, Brazil: some epidemiological aspects of 95 cases. **Dig. Dis. Sci., 31:** 100S, 1986b.
- GOODMAN, Z.D. & ISHAK, K.G. - Hepatocellular carcinoma in women: probably lack of etiologic association with oral contraceptive steroids. **Hepatology, 2:** 440-444, 1982.
- GOVINDARAJAN, S.; HEVIA, F.J.; PETERS, R.L. - Prevalence of delta antigen/antibody in B-viral-associated hepatocellular carcinoma. **Cancer, 53:** 1692-1694, 1984.
- GREENBERG, F.; ROSE, E.; ALPERT, E. - Hereditary persistence of alpha-fetoprotein. **Gastroenterology, 98:** 1083-1085, 1990.
- GROSLEY, B.M.; HIRSCHAUER, C.; CHAMBRETTE, B.; BEZEAUD, A.; AMIRAL, J. - Specific measurement of hypocarboxylated prothrombin in plasma or serum and application to the diagnosis of hepatocellular carcinoma. **J. Lab. Clin. Med., 127:** 553-564, 1996.

- GUEDES E SILVA, L.P.; HAHN, M.D.; FILHO, P.J.S.; GUEDES, A.F. A.M.-
Carcinoma hepatocelular: incidência no material de necrópsia do Hospital
Universitário Antônio Pedro Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Arq.Bras. Med., São
Paulo, 58:** 209-211, 1984.
- HARUNA, Y.; HAYASHI, N.; KAMADA, T.; HYTIROGLOU, P.; THUNG, S.N.;
GERBER, M.A. - Expression of hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma.
Cancer, 73: 2253-2258, 1994.
- HATTORI, W.L.; OHMIZO, R.; UNOURA, M.; TANAKA, N.; KOBAYASHI, K.;
AND THE PIVKA-II COLLABORATIVE WORKING GROUP. - Abnormal
prothrombin measurements in hepatocellular carcinoma. **J. Tumor Marker Oncol.,
3:** 207-216, 1988.
- HEYWARD, W.L.; LANIER, A.P.; McMAHON, B.J.; FITZGERALD, M.A.;
KILKENNY, S.; PAPROCKI, T.R. - Early detection of primary hepatocellular
carcinoma. Screening for primary hepatocellular carcinoma among persons infected
with hepatitis B virus. **JAMA, 254:** 3052-3054, 1985.
- HIROHASHI, S. & SAKAMOTO, M. - Hepatocellular carcinoma in the early stage. In:
TOBE, T.; OKUDAIRA, M.; OHTO M.; ENDO, Y.; MITO, M.; OKAMOTO, E.;
TANIKAWA, K.; KOJIRO, M. ed. **Primary liver cancer in Japan.** Tokyo,
Springer, 1992. p.25-30.
- HUISSE, M-G.; LECLERCQ, M.; BELGHITI, J.; FLEJOU, J-F.; SUTTIE, J.W.;
BEZEAUD, A.; STAFFORD, D.W.; GUILLIN, M-C. - Mechanism of the abnormal
vitamin K-dependent γ -carboxylation process in human hepatocellular carcinomas.
Cancer, 74: 1533-1541, 1994.
- IMBERTI, D.; FORNARI, F.; SBOLLI, G.; BUSCARINI, E.; SQUAS-SANTE, L.;
BUSCARINI, L.- Hepatocellular carcinoma in liver cirrhosis. A prospective study.
Scand. J. Gastroenterol., 28: 540-544, 1993.

- INOUE, S.; NAKAO, A.; HARADA, A.; NONAMI, T.; TAKAGI, H. - Clinical significance of abnormal prothrombin (DCP) in relation to postoperative survival and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. **Am. J. Gastroenterol.**, **89**: 2222-2226, 1994.
- IZUNO, K., FUJIYAMA, S., YAMASAKI, K., SATO, M., SATO, T. - Early detection of hepatocellular carcinoma associated with cirrhosis by combined assay of des- γ -carboxy prothrombin and α -fetoprotein: a prospective study. **Hepatogastroenterology**, **42**: 387-393, 1995.
- JOHNSON, P.J. - Hepatitis viruses, cirrhosis, and liver cancer **J. Surg. Oncol.**, **40** (Suppl.): 28-33, 1993.
- JOHNSON, P.J. & WILLIAMS, R. - Cirrhosis and aetiology of hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, **4**: 140-147, 1987.
- KAKLAMANI, E. ; TRICHOPOULOS, D. ; TZONOU, A.; ZAVITSANOS, X.; KOUMANTAKI, Y.; HATZAKIS, A.; HSIEH, C.C.; HATZIYANNIS, S. - Hepatitis B and C viruses and their interaction in the origin of hepatocellular carcinoma. **JAMA**, **265**: 1974-1976, 1991.
- KANAI, T.; HIROHASHI, S.; UPTON, M.P.; NOGUCHI, M.; KISHI, K.; MAKUUCHI, M.; YAMASAKI, S.; HASEGAWA, H.; TAKAYASU, K.; MORIYAMA, N.; SHIMOSATO, Y. - Pathology of small hepatocellular carcinoma. A proposal for a new gross classification. **Cancer**, **60**: 810-819, 1987.
- KAR, S. & CARR, B.I. - Detection of liver cells in peripheral blood of patients with advanced-stage hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **21**: 403-407, 1995.
- KASAHARA, A.; HAYASHI, N.; FUSAMOTO, H.; KAWADA, Y.; IMAI, Y.; YAMAMOTO, H.; HAYASHI, E.; OGIHARA, T.; KAMADA, T. - Clinical evaluation of plasma des- γ -carboxy prothrombin as a marker protein of hepatocellular carcinoma in patients with tumors of various sizes. **Dig. Dis. Sci.**, **38**: 2170-2176, 1993.

- KASHALA, L.O.; CONNE, B.; KAPANCI, Y.; FREI, P.C.; LAMBERT, P.H.; KALENGAYI, M.R.; ESSEX, M. - Hepatitis B virus, alpha-fetoprotein synthesis, and hepatocellular carcinoma in Zaire. **Liver**, **12**: 330-340, 1992.
- KATO, Y.; NAKATA, K.; OMAGARI, K.; FURUKAWA, R.; KUSUMOTO, Y.; MORI, I.; TAJIMA, H.; TANIOKA, H.; YANO, M.; NAGATAKI, S. - Risk of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis in Japan: analysis of infectious hepatitis viruses. **Cancer**, **74**:2234-2238, 1994.
- KELSTEN, M.L.; CHAN, D.W.; BRUZEK, D.J.; ROCK, R.C. - Monitoring hepatocellular carcinoma by using a monoclonal immunoenzymometric assay for alpha-fetoprotein. **Clin. Chem.**, **34**: 76-81, 1988.
- KIDO, C. - An overview of diagnostic imaging techniques for detecting hepatocellular carcinoma. In: TOBE, T.; KAMEDA, H.; OKUDAIRA, M.; OHTO, M.; ENDO, Y.; MITO, M.; OKAMOTO, E.; TANIKAWA, K.; KOJIRO, M.; ed. **Primary Liver Cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p.105-109.
- KING, M.A.; KEW, M.C.; KUYL, J.M.; ATKINSON, P.M. - Liver and biliary: a comparison between des- γ -carboxy prothrombin and α -fetoprotein as markers of hepatocellular carcinoma in southern African blacks. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, **4**: 17-24, 1989.
- KIYOSAWA, K.; SODEYAMA, T.; TANAKA, E.; GIBO, Y.; YOSHIZAWA, K.; NAKANO, Y.; FURUTA, S.; AKAHANE, Y.; NISHIOKA, K.; PURCELL, R.H.; ALTER, H.J. - Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. **Hepatology**, **12**: 671-675, 1990.
- KOBAYASHI, K.; SUGIMOTO, T.; MAKINO, H.; KUMAGAI, M.; UNOURA, M.; TANAKA, N.; KATO, Y.; HATTORI, N. - Screening methods for early detection of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **5**:1100-1105, 1985.

- KOJIRO, M. - Pathomorphology of advanced hepatocellular carcinoma. In: TOBE, T.; KAMEDA, H.; OKUDAIRA, M.; OHTO, M.; ENDO, Y.; MITO, M.; OKAMOTO, E.; TANIKAWA, K.; KOJIRO, M.; ed. **Primary Liver Cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p.31-37.
- KORETZ, R.L.; ABBEY, H.; COLEMAN, E.; GITNICK, G. - Non-A, non-B, post-transfusion hepatitis: looking back in the second decade. **Ann. Int. Med.**, **119**: 110-115, 1993.
- KUBO, Y.; OKUDA, K.; HASHIMOTO, M.; NAGASAKI, Y.; EBATA, H.; NAKAJIMA, Y.; MURASHI, H.; SAKUMA, K.; OHTAKE, H. - Antibody to hepatitis B core antigen in patients with hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology**, **72**: 1217-1220, 1977.
- LEVRERO, M.; BALSANO, C.; AVANTAGGIATI, M. L.; NATOLI, G.; CHIRILO, P.; MARZIO, E. DE.; COLLEPARDO, D.; CONSTANZO, A. - Characterization of the hepatitis B virus transactivators: a possible direct role of the virus in the development of hepatocellular carcinoma. **J. Surg. Oncol.**, **3 (Suppl.)**: 34-36, 1993.
- LEVRERO, M.; TAGGER, A.; BALSANO, C.; DE MARZIO, E.; AVANTAGGIATI, M. L.; NATOLI, G. ; DIOP, D.; VILLA, E.; DIODATI, G.; ALBERTI, A. - Antibodies to hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, **12**: 60-63, 1991.
- LEWIN, K. - p53 proteins and aflatoxin B1: the good, the bad, and the ugly. **Hepatology**, **22**: 1330-1332, 1995.
- LIEBER, C.S.; GARRO, A.; LEO, M.A.; MAK, K.M.; WORTNER, T. - Alcohol in cancer. **Hepatology**, **6**: 1005-1019, 1986.
- LIEBMAN, H. A. - Isolation and characterization of a hepatoma-associated abnormal (des- γ -carboxy) prothrombin. **Cancer Res.**, **49**: 6493-6497, 1989.

- LIEBMAN, H.A.; FURIE, B.C.; FURIE, B. - Hepatic vitamin K-dependent carboxylation of blood-clotting proteins. **Hepatology**, **2**: 488-494, 1982.
- LIEBMAN, H.A.; FURIE, B.C.; TONG, M.J.; BLANCHARD, R.A.; LO, K-J.; LEE, S-D.; COLEMAN, M.S.; FURIE, B. - Des- γ -carboxy (abnormal) prothrombin as a serum marker of primary hepato-cellular carcinoma. **N. Engl. J. Med.**, **310**: 1427-1431, 1984.
- LOK, A.S.F. & LAI, C-L. - α -fetoprotein monitoring in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection: role in the early detection of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **9**: 110-115, 1989.
- MAHANEY, K.; TEDESCHI, V.; MAERTENS, G.; DI BISCEGLIE, A.M.; VERGALLA, J.; HOOFNAGLE, J.H.; SALLIE, R. - Genotypic analysis of hepatitis C virus in american patients. **Hepatology**, **20**: 1405- 1411, 1994.
- MARINGHINI, A.; COTTONE, M.; SCIARRINO, E.; MARCENÒ, M.P.; LA SETA, F.; FUSCO, G.; RINALDI, F.; PAGLIARO, L. - Ultrasonography and alpha-fetoprotein in diagnosis of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. **Dig. Dis. Sci.**, **33**: 47-51, 1988.
- MARTEL, N. ; TUYNS, A. J. ; SIZARET, P. - α -fetoprotein levels in normal individuals: relative stability over time. **Digestion**, **16**: 128-137, 1977.
- MATSUI, O. & ITAI, Y. - Diagnosis of liver cancer by computer tomography. In: TOBE, T. ; KAMEDA, H. ; OKUDAIRA, M.; OHTO, M. ; ENDO, Y.; MITO, M.; OKAMOTO, E. ; TANIKAWA, KOJIRO, M. ; ed. **Primary liver cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p.129-138.
- MATSUMOTO, Y.; SUZUKI, T.; ASADA, I.; OZAWA, K.; TOBE, T.; HONJO, I. - Clinical classification of hepatoma in Japan according to serial changes in serum alpha-fetoprotein levels. **Cancer**, **49**: 354-360, 1982.

- McINTIRE, K.R.; WALDMANN, T.A.; MOERTEL, C.G.; GO, V.L.W. - Serum α -fetoprotein in patients with neoplasms of the gastrointestinal tract. **Cancer Res.**, **35**: 991-996, 1975.
- MENDES, T. F. - Carcinoma hepatocelular: um tumor intratável ? **Moderna Hepatologia, Rio de Janeiro**, (No. 2): 1-3, 1991. (Editorial).
- MIES, S. & MASSAROLLO, P.C.B. - Tratamento do hepatocarcinoma. In: Silva, L.C. da. - **Hepatites agudas e crônicas**. 2.ed. São Paulo, Sarvier, 1995. p.310-326.
- MILLIKEN, G.A. & JOHNSON, D.E. - Simultaneous inference procedures and multiple comparisons. In:_____ - **Analysis of messy data: designed experiments**. New York, Van Nostrand, 1984. p.53-59.
- MILUNSKY, A.; ALPERT, E.; NEFT, R.K.; FRIGOLETTO, F.D. -Pre-natal diagnosis of neural tube defects: IV. maternal serum alpha-feto-protein screening. **Obstet. Gynecol.**, **55**: 60-66, 1980.
- MOTOHARA, K.; ENDO, F.; MATSUDA, I.; IWAMASA, T. - Acarboxy prothrombin (PIVKA-II) as a marker of hepatoblastoma in infants. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **6**: 42-45, 1987.
- MOTOHARA, K. ; KUROKI, Y. ; KAN, H. ; ENDO, F. ; MATSUDA, I. - Detection of vitamin K deficiency by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for circulating abnormal prothrombin. **Pediatr. Res.**, **19**: 354-357, 1985.
- NAKANUMA, Y.; TERADA, T.; DOISHITA, K.; MIWA, A. -Hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: an autopsy study. **Hepatology**, **11**: 1010-1016, 1990.
- NAKAO, A.; SUZUKI, Y.; ISSHIKI, K.; KIMURA, Y.; TAKEDA, S.; KISHIMOTO, W.; NONAMI, T.; HARADA, A.; TAKAGI, H. - Clinical evolution of plasma abnormal prothrombin (des- γ -carboxyprothrombin) in hepatobiliary malignancies and other disease. **Am. J. Gastroenterol.**, **86**: 62-66, 1991a.

- NAKAO A.; VIRJI, A.; IWAKI, Y.; CARR, B.; IWATSUKI, S.; STARZL, E. - Abnormal prothrombin (des- γ -carboxy prothrombin) in hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterology**, **38**: 450-453, 1991b.
- NAKASHIMA, T.; KOJIRO, M.; KAWANO, Y.; SHIRAI, F.; TAKEMOTO, N.; TOMIMATSU, H.; KAWASAKI, H.; OKUDA, K.- Histologic growth pattern of hepatocellular carcinoma: relationship to orcein (hepatitis B surface antigen) - positive cells in cancer tissue. **Hum. Pathol.**, **13**: 563-568, 1982.
- NARAKI, T.; WATANABE, K.; SHIMOZORU, Y.; NAMBA, Y.; MORIMOTO, T.; KOTOHARA, H.; MATSUDA, I. - Development and evaluation of the EIA kit for detection of PIVKA-II using double antibody sandwich system; monoclonal antibody to PIVKA-II and polyclonal antibody to prothrombin (in japanese). **Clin. Immunol.**, **18**: 479-485, 1986.
- NOMURA, F.; OHNISHI, K.; TANABE, Y. - Clinical features and prognosis of hepatocellular carcinoma with reference to serum alpha-fetoprotein levels.- Analysis of 606 patients. **Cancer**, **64**: 1700-1707, 1989.
- NOMURA, F.; OHNISHI, K.; TANABE, Y. - Clinical features and prgnosis of hepatocellular carcinoma with reference to serum alpha-fetoprotein levels. - Analysis of 606 patients. **Cancer**, **64**: 1700-1707, 1989.
- OHNISHI, K.; IIDA, S.; IWAMA, S.; GOTO, N.; NOMURA, F.; TAKASHI, M.; MISHIMA, A.; KONO, K.; KIMURA, K.; MURASHI, H.; KOTOTA, K.; OKUDA, K. - The effect of chronic habitual alcohol intake on the development of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma: relation to hepatitis B surface antigen carriage. **Cancer**, **49**: 672-677, 1982.
- OHTO, M.; KIMURA, K.; SHINAGAWA, T. - Early diagnosis of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasound (Abstr). **Gastrointest. Radiol.**, **5**: 389, 1980.

- OKA, H. ; KURIOKA, . ; KIM, K. ; KANNO, T. ; KUROKI, T.; MIZOGUCHI, Y. ; KOBAYASHI, K. - Prospective study of early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. **Hepatology**, **12**: 680-687, 1990.
- OKA, H.; TAMORI, A.; KUROKI, T.; KOBAYASHI, K.; YAMAMOTO, S. - Prospective study of α -fetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **19**: 61-66, 1994.
- OKUDA, H.; OBATA, H.; NAKANISHI, T.; FURUKAWA, R.; HASHIMOTO, E. - Production of abnormal prothrombin (des- γ -carboxy prothrombin) by hepatocellular carcinoma. **J. Hepatol.**, **4**: 357-363, 1987a.
- OKUDA, K. - Advances in hepatobiliary ultrasonography. **Hepatology**, **1**: 662-672, 1981.
- OKUDA, K. - Early recognition of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **6**:729-738, 1986a.
- OKUDA, K. - Epidemiology of primary liver cancer In: TOBE, T. ; KAMEDA, H. ; OKUDAIRA, M. ; OHTO, M. ; ENDO, Y.; MITO, M; OKAMOTO, E. ; TANIKAWA, K. ; KOJIRO, M., ed. **Primary liver cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992a. p.3-15.
- OKUDA, K. - Hepatocellular carcinoma: recent progress. **Hepatology**, **15**: 948-963, 1992b.
- OKUDA, K. - Primary liver cancer: quadrennial review lecture. **Dig. Dis. Sci.**, **31**:133S-145S, 1986b.
- OKUDA, K. ; FUJIMOTO, I. ; HARAI, A. ; URANO, Y. - Changing incidence of hepatocellular carcinoma in Japan. **Cancer Res**, **47**: 4967-4972, 1987b.
- OKUDA, K. ; KOTODA, K. ; OBATA, H.; HAYASHI, N.; HISAMITSU, T.; TAMIYA, M.; KUBO, Y.; FUSAKUNI, Y.; NAGATA, E.; JINNOUCHI, S.; SHIMOKAWA, Y. - Clinical observations during a relatively early stage of hepatocellular carcinoma, with special reference to serum α -fetoprotein levels. **Gastroenterology**, **69**: 226-234, 1975.

- OKUDA, K. ; NAKASHIMA, T.; KOJIRO, M.; KONDO, Y.; WADA, K.- Hepatocellular carcinoma without cirrhosis in Japanese patients. **Gastroenterology**, **97**: 140-146, 1989.
- OKUDA, K.; OHTSUKI, T.; OBATA, H.; TOMIMATSU, M.; OKAZAKI, N.; HASEGAWA, H.; NAKAJIMA, Y.; OHNISHI, K. - Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment: study of 850 patients. **Cancer**, **56**: 918-928, 1985.
- OKUDA, K. & OKUDA, H. ; - Primary liver carcinoma. In : McINTYRE, N.; BENHAMOU, J. P. ; BIRCHER, J. ; RIZZETO, M. ; RODES, J., eds. **Oxford textbook of clinical hepatology**. Oxford, Oxford medical publication, 1991. p.1019-1053.
- OKUDA, K. ; PETERS, L. R. ; SIMSON, I. W. - Gross anatomic features of hepatocellular carcinoma from three disparate geographic areas: proposal of new classification. **Cancer**, **54**:2165-173, 1984.
- OKUDA, K. & SUZUKI, K. - Hepatic tumors. In: ARIAS, I. M. ; FRENKEL, M. ; WILSON ; J. H. P. ; eds. **The liver annual**. [S.L.P], Excerpta medica, 1981. p. 284-318.
- OMATA, M. ; MORI, J. ; YOKOSURA, O ; IWAMA, S.; ITO, Y.; OKUDA, K. - Hepatitis B virus antigens in liver tissue in hepatocellular carcinoma and advanced chronic liver disease - relationship to liver cell dysplasia. **Cancer**, **2**: 125-132, 1982.
- ONO, M.; OHTA, H.; OHHIRA, M.; SERIYA, C.; NAMIKI, M. - Measurement of immunoreactive prothrombin , des- γ -carboxy prothrombin and Vitamin K in human liver tissues : over-production of immunoreactive prothrombin in hepatocellular carcinoma. **Am. J. Gastroenterol.**, **85**: 1149-1154, 1990.

- PAGLIARO, L. ; SIMONETTI, R. G. ; CRAXI, A.; SPANÒ, C.; FILIPPAZZO, M. G.; PALAZZO, U.; PATTI, S.; GIANNUOLI, G.; MARRAFFA, A.; COLOMBO, M.; TOMMASINI, M.; BELLENTANI, S.; VILLA, E.; MANENTI, F.; CAPORASO, N.; COLTORTI, M.; BLANCO-VECCHIO, C.D.; FARSI, P.; SMEDILE, A.; VERME, G. - Alcohol and HBV infection as risk factors for hepatocellular carcinoma in Italy: a multicentric controlled study. **Hepatogastroenterology**, **30**: 48-50, 1983.
- PEERS, F.G. & LINSELL, C. A. - Dietary aflatoxins and liver cancer - a population based study in Kenya. **Br. J. Cancer.**, **27**: 473-484, 1973.
- PEREIRA, F. E. L. ; BONI, E. S. ; FILHO, A. K. C. ; FILHO, J. L. ; GONÇALVES, C. S. - Frequência de carcinomas primitivos do fígado em necrópsias realizadas em Vitória (Espírito Santo). **Rev. Ass. Med.**, **23**: 421-422, 1977.
- PEREIRA, F. E. L. & GONÇALVES, C. S. - Alcoolismo e câncer primitivo do fígado. **Moderna Hepatologia**, Rio de Janeiro, (No. 2): 26-31, 1990.
- PIVA, A. ; FAZIO, C. ; COVINI, G. ; TOMMASINI, M. ; COLOMBO M. - Detection of preclinical hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. **J. Surg. Oncol.**, **3** (Suppl.): 46-48, 1993.
- POPPER, H. & ACS, G. - Regulatory factors in pathologic processes of the liver modulators and interacting metabolic networks. **Semin. Liver Dis.**, **5**: 191-207, 1985.
- POPPER, H. ; GERBER, M. A. ; THUNG, S. N. - The relation of hepatocellular carcinoma to infection with hepatitis B and related viruses in man and animals. **Hepatology**, **2**: 1S-9S, 1982.
- POPPER, H. ; SCHAFRITZ, D. A. ; HOOFNAGLE, J. H. - Relation of the hepatitis B virus carrier state to hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **7**: 764- 772, 1987.

- QUEIROZ, A.C.; MOREIRA, D.E.Q.; ANDRADE, M.L.A. - Displasia de células hepáticas. Lesão pré-maligna relacionada ao carcinoma hepatocelular e à infecção pelo vírus B da hepatite. **Arq. Gastroenterol., São Paulo., 24:**80-83, 1987.
- RAIMONDO, G.; CRAXI, A.; LONGO, G.; GIANNUOLI, G.; CALTAGIRONE, M.; ARAGONA, M.; PECORARO, G.; SQUADRITO, G.; PAGLIARO, L. -Delta infection in hepatocellular carcinoma positive for hepatitis B surface antigen. **Ann. Int. Med., 101:** 343-344, 1984.
- RAVOET, C.; BLEIBERG, H.; GERARD, B. - Non-surgical treatment of hepatocarcinoma. **J. Surg. Oncol., 3 (Suppl):**104-111, 1993.
- RESNICK, R.H. & KOFF, R. - Hepatitis C-related hepatocellular carcinoma. Prevalence and significance. **Arch. Int. Med., 153:** 1672-1677, 1993.
- ROGLER, C. E. ; HINO, O. ; SU, C-H. - Molecular aspects of persitent woodchuck hepatitis virus and hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma. **Hepatology, 7:** 74S-78S, 1987.
- RUIZ, J.; SANGRO, B.; CUENDE, J.I.; BELOQUI, O.; RIEZU-BOJ, J.I.; HERRERO, J.I.; PRIETO, J. - Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatology, 16:** 637-641, 1992.
- SAKAGUCHI, S. ; TOHARA, K. ; OKA, Y. - Ultrasonographic diagnosis of hepatocellular carcinoma. In: TOBE, T. ; KAMEDA, H. ; OKUDAIRA, M. ; OHTO, M. ; ENDO, Y. ; MITO, M. ; OKAMOTO, E. ; TANIKAWA, K. ; KOJIRO, M. ed. **Primary Liver Cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p.111-128.
- SAKAMOTO, M. ; HIROHASHI, S. ; TSUDA, H.; INO, Y. ; SHIMOSATO, Y. ; YAMASAKI, S.; MAKUUCHI, M.; HASEGAWA, H.; TERADA, M.; HOSODA, Y. - Increasing incidence of hepatocellular carcinoma possibly associated with non-A, non-B hepatitis in Japan, disclosed by hepatitis B virus DNA analysis of surgically resected cases. **Cancer Res., 48:** 7294-7297, 1988.

- SAKUMA, K. ; SAITOH, N. ; KASAI, M. ; JITSUKAWA, H. ; YOSHINO, I.;
YAMAGUCHI, M.; Y. ; NOBUTOMO, K. ; YAMUMI, M. ; TSUDA, F. ;
KOMAZAWA, T. ; NAKAMURA, T. ; YOSHIDA, Y.; OKUDA, K. - Relative risks
of death due to liver disease among Japanese male adults having various statuses for
hepatitis B s and e antigen/antibody in serum : a prospective study. **Hepatology**, **8**:
1642-1646, 1988.
- SAKUMA, K. ; TAKAHARA, T. ; OKUDA, K.; TSUDA, F.; MAYUMI, - Prognosis of
hepatitis B virus surface antigen carriers in relation to routine liver function tests : a
prospective study. **Gastroenterology**, **83**: 114-117, 1982.
- SASAKI, Y.; IMAOKA, S.; ISHIGURO, S.; NAKANO, H.; KASUGAI, H.; FUJITA,
M.; INOUE, E.; ISHIGAWA, O.; FURUKAWA, H.; NAKAMORI, S.; KURODA,
S. - Clinical features of small hepatocellular carcinoma as assessed by histologic
grades. **Surgery**, **119**: 252-260, 1996.
- SAWABU, N.; OHTA, H; MOTOO, Y. ; OKAI, T - Immuno-biochemical diagnosis of
liver cancer. **Gann Monograph Cancer Res.**, **38**:59-73, 1991.
- SCHAFFNER, F. - Structural and functional aspects of regeneration of human liver. **Dig.**
Dis. Sci., **36**: 1282-1286, 1991.
- SELL, S.- Diagnostic applications of alpha-fetoprotein: government regulations prevent
full application of a clinically useful test. **Hum. Pathol.**, **12**: 959-963, 1981.
- SHERMAN, M. & SHAFRITZ, D. A. - Hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma:
molecular biology and mechanistic considerations. **Semin. Liver Dis.**, **4**: 98-112,
1984. (Abstract)
- SHEU, J-C. ; SUNG, J-L. ; CHEN, D-S. ; LAI, M-Y. ; WANG, T-H. ; YU, J-Y. ;
YANG, P-M. ; CHUANG, C-N. ; YANG, P-C. ; LEE, C-S. ; HSU, H-C.; HOW, S-
W. - Early detection of hepatocellular carcinoma by real-time ultrasonography: a
prospective study. **Cancer**, **56**: 660-666, 1985.

- SHEU, J-C.; SUNG, J-L. ; CHEN, D-S.; YU, J-Y. ; WANG, T-H. ; SU, C-T.; TSANG, Y-M. - Ultrasonography of small hepatic tumors using high-resolution liner-array real-time instruments. **Radiology**, **150**: 797- 802, 1984.
- SHIBATA, T. ; KUBO, S. ; ITOH, K. ; SAGOH, T. ; NISHIMURA, K; NAKANO, Y.; YAMAOKA, Y; OZAWA, K.; KONISHI, J. - Recurrent hepatocellular carcinoma: usefulness of ultrasography compared with computed tomography and AFP assay. **J. Clin. Ultrasound.**, **19**: 463-469, 1991.
- SHIKATA, T. - Hepatitis C virus infection and hepatocellular carcinoma. In: TOBE, T. ; KAMEDA, H. ; OKUDAIRA, M. ; OHTO, M. ; ENDO, Y.; MITO, M ; OKAMOTO, E.; TANIKAWA, K.; KOJIRO, M., ed. **Primary liver cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p.69-73.
- SHINAGAWA, T. ; OHTO, M. ; KIMURA, K.; TSUNETOMI, S. MORITA, M.; SAISHO, H. ; TSUCHIYA, Y. ; SAOTOME, N.; KARASAWA, EII.; MIKI, M. ; UENO, T. ; OKUDA, K. - Diagnosis and clinical features of small hepatocellular carcinoma with emphasis on the utility of real-time ultrasonography: a study in 51 patients. **Gastroenterology**, **86**: 495-502, 1984.
- SHIOTA, T. ; WATANABE, A. ; MITANI, K. ; ITO, T. ; TOBE, K. ; NAGASHIMA, H. -Long-Term survival in a cas of hepatocellular carcinoma. **Acta Med. Okayama**, **37**: 73-78, 1983.
- SHIRAKI, K. ; TAKASE, K. ; TAMEDA, Y. ; HAMADA, M. ; KOSAKA; NAKANO, T. - A clinical study of lectin-reactive alpha-fetoprotein as an early indicator of hepatocellular carcinoma in the follow-up of cirrhotic patients. **Hepatology**, **22**: 802-807, 1995.
- SILINI, E. ; BONO, F; CIVIDINI, A .; CERINO, A. ; BRUNO, S. ; ROSSI, S. ; BELLONI, G. ; BRUGNETTI, B. ; CIVARDI, E. ; SALVANESCHI, L.; MONDELLI, M. U. - Differential distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with and without liver function abnormalities. **Hepatology**, **21**: 285-290, 1995.

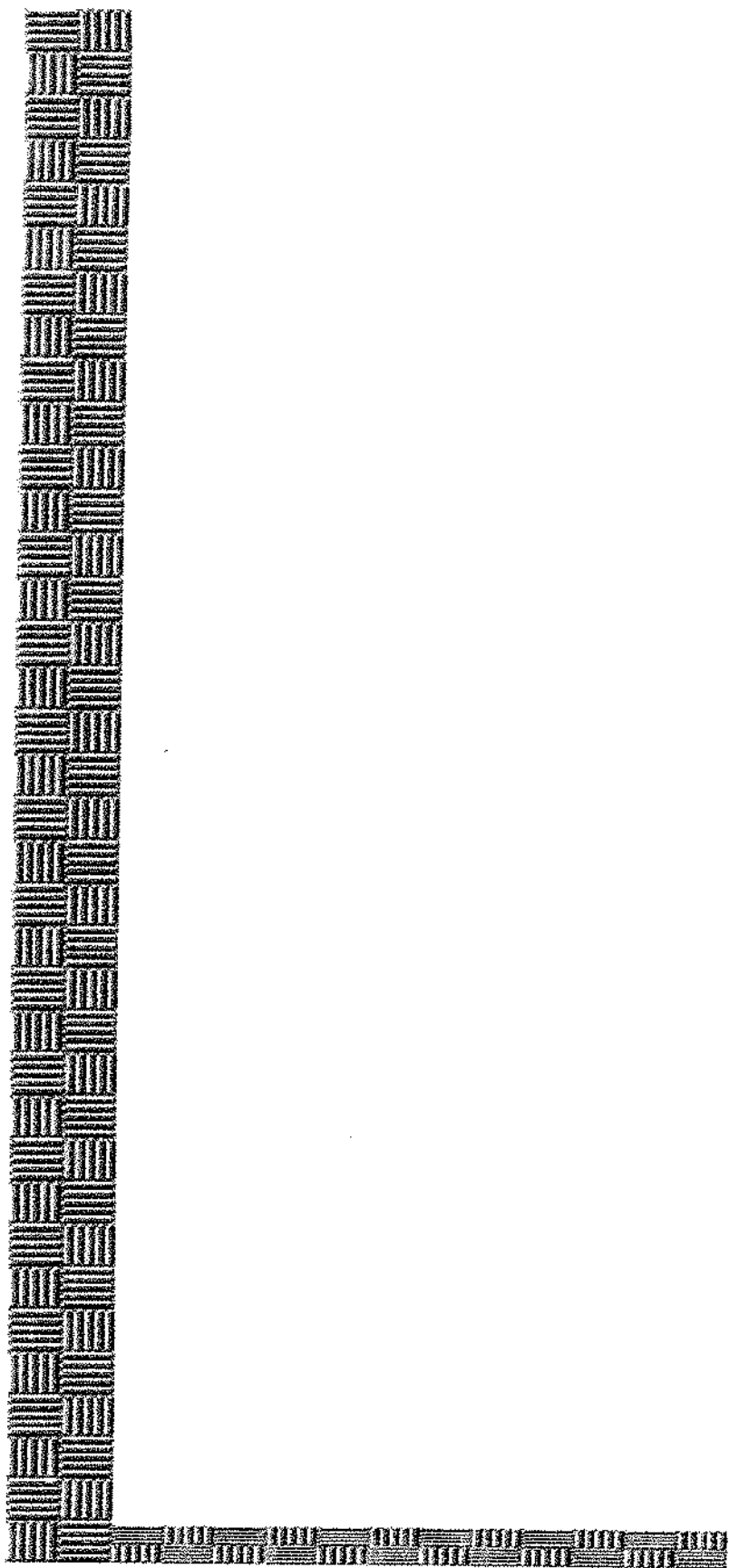
- SILVER, H. K. B. ; DENEALUT, J. ; GOLD, P. ; THOMPSON, W. G. ; SHUSTER, J. ; FREEDMAN, S. O. -The detection of α 1-fetoprotein in patients with viral hepatitis. **Cancer Res.**, **34**: 244-247, 1974.
- SMITH, J. B. & TODD, D. - Fetoglobulin and primary liver cancer. **Lancet**, **2**: 833, 1968.
- SOLMI, L.; PRIMERANO, A.M.M.; GANDOLFI, L. - Ultrasound follow-up of patients at risk for hepatocellular carcinoma: results of a prospective study on 360 cases. **Am. J. Gastroenterol.**, **91**: 1189-1194, 1996.
- SOULIER, J-P.; GOZIN, D.; LEFRERE, J-J.; - A new method to assay descarboxyprothrombin: results obtained in 75 cases of hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology**, **91**: 1258-1262, 1986.
- STAPLES, J. - α -Fetoprotein, cancer and benign conditons. **Lancet**, **2**: 1277, 1986.
- SUEHIRO, T.; SUGIMACHI, K.; MATSUMATA, T.; ITASAKA, H.; TAKETOMI, A.; MAEDA, T. - Protein induced by Vitamin K absence or antagonist II as a prognostic marker in hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **73**: 2464-2471, 1994.
- SUGA, M. ; SENOTA, A.; ARIMA, K.; KODAMA, T.; IKUTA, S.; SAKAMOTO, H.; OHE, Y.; SUGAI, S.;YACHI, A. - Prevalence of HBV and HCV infection in Japanese patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterology**, **41**: 438-441, 1994.
- SUGIMOTO, M. ; ITSUKAICHI, T. ; ISHII, K.; SUMINO, Y. ; SUGANO, S.; ABEI, T.; IMAMURA, Y. - Marked increase in serum α -Fetoprotein level in cirrhosis: a case report. **Am J. Gastroenterol.**, **82**: 69-71, 1987.
- TAGAWA, M.; OMATA, M.; OHTO, M.- Nucleotide sequence of prothrombin gene in abnormal prothrombin-producing hepatocellular carcinoma cell lines. **Cancer**, **69**: 643-647, 1992.

- TAKASHIMA, T; MATSUI, O; SUZUKI, M; IDA, M. - Diagnosis and screening of small hepatocellular carcinomas. **Radiology**, **145**: 635-638, 1982.
- TAKAYASU, K.; MORIYAMA, N. ; MURAMATSU, Y. ; MAKUUCHI, M. ; HASEGAWA, H. ; OKAZAKI, N. ; HIROHASHI, S - The diagnosis of small hepatocellular carcinomas: efficacy of various imaging procedures in 100 patients. **Am. J. Roentgnol.**, **155**: 49-54, 1990.
- TAKAYASU, K.; SHIMA, Y.; MARAMATSU, Y.; GOTO, H.; MORIYAMA, N.; YAMADA, T.; MAKUUCHI, M.; YAMASAKI, S.; HASEGAWA, H.; OKAZAKI, N.L.; HIROHASHI, S.; KISHI, K. - Angiography of small hepatocellular carcinomas: analysis of 195 resected tumors. **Am. J. Roentgnol.**, **147**:525-529, 1986.
- TAKETA, K. - α -Fetoprotein revolution in hepatology. **Hepatology**, **12**:1420-1432, 1990.
- TANABE, Y.; ONISHI, K.; NOMURA, F. ; IIDA, S. - Plasma abnormal prothrombin levels in patients with small hepatocellular carcinoma. **Am. J. Gastroenterol.**, **83**: 1386-1389, 1988.
- TANAKA, S. & HATTORI, N. - The role of HBV in hepatocellular carcinoma. In: TOBE, T. ; KAMEDA, H. ; OKUDAIRA, M. ; OHTO, M.; ENDO, Y.; MITO, M. ; OKAMOTO, E. ; TANIKAWA, K. ; KOJIRO, M., ed. **Primary liver cancer in Japan**. Tokyo, Springer, 1992. p. 61-67.
- TANAKA, S. ; KITAMURA, T.; NAKANISHI, K.; OKUDA, S.; YAMAZAKI, H.; HIYAMA, T. ;FUJIMOTO, I. - Effectiveness of periodic checkup by ultrasonography for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **66**: 2210-2214, 1990.
- TANAKA, T. ; KITAMURA, T. ; OHSIMA, A.; UMEDA, K.; OKUDA, S. ; OHTNAI, T. ; TATSUTA, M. ; YAMAMOTO, K. - Diagnostic accuracy of ultrasonography for hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **58**: 344-347, 1986.

- TANG, Z-Y. ; YU, Y-Q. ; ZHOU, S-D. ; YANG, B-H. ; MA, Z-C. ; LIN, Z-Y. - Subclinical hepatocellular carcinoma: an analysis of 391 patients. **J. Surg. Oncol.**, 3 (Supl.): 55-58, 1993.
- TATARINOV, Y. S. & NOGALLER, A. M. - Diagnostic importance of the embryospecific alpha-globulin detection in the blood serum hepatoma patient. **Vopr. Onkol.**, 12: 26-29, 1966.
- THE LIVER CANCER STUDY GROUP IN JAPAN. Primary liver cancer in Japan. **Cancer**, 54: 1747-1755, 1984.
- THE LIVER CANCER STUDY GROUP IN JAPAN. Primary liver cancer in Japan. **Cancer**, 60: 1400-1411, 1987.
- TOLEDO, G.L. & OVALLE, E. I. - Correlação e regressão. In: _____ - **Estatística Básica**. 2.ed. São Paulo, 1989. p.412-434.
- TOMIMATSU, M. ; ISHIGURO, N.; TANIAI, H. ; OKUDA, H. ; SAITO, A.; OBATA, H. ; YAMAMOTO M. TAKASAKI, M. - Hepatitis c virus antibody in patients with primary liver cancer (hepatocellular carcinoma cholangiocarcinoma, and combined hepatocellular-cholangioncarcinoma) in Japan. **Cancer**, 72: 683-688, 1993.
- TOUKAN, S. ; KIMBALL, K. ; ALPERT E. - Prognosis significance of alpha-fetoprotein in chronic viral hepatitis: results of a long-term follow-up study. **Gastroenterology**, 98: A640, 1990.
- TREMOLDA, E. BENEVEGNO, L. ; DRAGO, C; CASARIN, C; CECHETO, A; REALDY, G. ; RUOL, A. - Early detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis by alpha-fetoprotein, ultrasound and fine-needle biopsy. **Hepatogastroenterology**, 36: 519-521, 1989.
- TSAI, J. F.; CHANG, W.Y.; JENG, J.E.; HO, M.S.; LIN, Z.Y.; TSAI, J. H.- Hepatitis B and C virus infection as risk factors for liver cirrhosis and cirrhotic hepatocellular carcinoma: a case-control study. **Liver**, 14:98- 102, 1994.

- TSAL, S-L.; HUANG, G-T.; YANG, P-M.; SHEU, J-C.; SUNG, J-L.; CHEN, D-S. - Plasma des- γ -carboxy prothrombin in the early stage of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, **11**: 481-487, 1990.
- TSUKUMA, H. ; HIYAMA, T. ; TANKA, S. ; NAKAO, M. ; YABUUCHI, T. ; NAKANISHI, K.; FUJIMOTO, I. ; INOUE, A. ; YAMAZAKI, K. ; KAWASHIMA, T. - Risk factor of hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. **N. Engl. J. Med.**, **328**: 1797-1801, 1993.
- WALDMANN, T. A. & McINTIRE, K. R. - Serum alpha-fetoprotein levels in patients with ataxia-telangectasia. **Lancet**, **2**: 1112-1115, 1972.
- WALDMANN, T. A. & McINTIRE, K. R. - The use of a radioimmunoassay for alpha-fetoprotein in the diagnosis of malignancy. **Cancer**, **34**: 1510-1515, 1974.
- WANEBO, H.J. & VEZERIDIS, M.P. - Hepatoma. **J. Surg. Oncol.**, **3** (Suppl): 40-45, 1993.
- WATANABE, A. ; NISHIMORI, H. ; TSUKISHIRO, T. ; OKADA, K. ; SHIMIZU, Y.; NAMBU, S.; MIYABAYASHI, C.; TAKAHARA, T.; HIGUCHI, K. - Hepatocellular carcinoma in 13 patients with hepatitis C virus-associated chronic hepatitis. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, **9**: 30- 34, 1994.
- WATANABE, A. ; SAKATA, T. ; SHIOTA, T. ; NAGASHIMA, H. - Hepatocellular carcinoma of small size. **Am. J. Med. Sci.**, **288**:151-157, 1984.
- WATANABE, A. ; YAMAMOTO, H; ITO, T.; NAGASHIMA, H.- Diagnosis, treatment and prognosis of small hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterology**, **33**: 52-55, 1986.
- WEITZ, I.C. & LIEBMAN, H.A. - Des- γ -carboxy (Abnormal) Prothrombin and hepatocellular carcinoma: a critical review. **Hepatology**, **18**: 990-997, 1993.

- WEPSIC, H.T. & KIRKPATRICK, A. - Alfa-Fetoprotein and its relevance to human disease. **Gastroenterology**, **77**: 787-796, 1979.
- WONG, C. B.; ATTAR, B. M. ; SHIMODA, S.S. - Marked episodic elevations of α -fetoprotein without hepatocellular carcinoma in a patient with hepatitis B. **AJG.**, **90**: 1015-1016, 1995.
- WU, J.T.; BOOK, L.; SUDAR, K. - Serum α -fetoprotein (AFP) levels in normal infants. **Pediatr. Res.**, **15**: 50-52, 1981.
- YAMANAKA, A. - **Contribuição da ultra-sonografia no diagnóstico das doenças hepáticas difusas crônicas**. Campinas, 1992. (Tese - Doutorado - Universidade Estadual de Campinas).
- YOSHIMOTO, T. ; HIGASHINO, K. ; HADA, T. ; TAMURA, S. ; NAKANISHI, K. ; MITSUNOBU, M. ; UEMATSU, K. ; MATSUOKA, T. ; TAKETA, K. - A primary lung carcinoma producing alpha-fetoprotein carcinoembryonic antigen, and human chorionic gonadotropin: immunohistochemical and biochemical studies. **Cancer**, **60**: 2744-2750, 1987.
- ZAMAN, S. N. ; MELIA, W. M. ; JOHNSON, R. D. ; PORTMANN, B.C.; JOHNSON, P. J.; WILLIAMS, R. - Risk factors in development of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: prospective study of 613 patients. **Lancet**, **1**: 1357-1360, 1985.
- ZOLI, M.; MAGALOTTI, D.; BIANCHI, G.; GUELI, C.; MARCHESINI, G.; PISI, E. - Efficacy of a surveillance program for early detection of hepatocellular carcinoma. **Cancer**, **78**: 977-985, 1996.



9. Anexos

ANEXO 1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS - UNICAMP
GASTROENTEROLOGIA CLÍNICA
LESÕES FOCAIS HEPÁTICAS

Nome: _____ Ano: _____

HC: _____ Idade: _____ Sexo: _____

FA: _____ GGT: _____ AST: _____ ALT: _____

Albumina: _____ AP(%): _____ RNI: _____ A.F.P.: _____

DCP: _____ CEA: _____ AgHBs: _____ AgHBe: _____

Anti-HBs: _____ Anti-HBc: _____ Anti-HBe: _____ Anti-VHC: _____

Tabagismo: _____ Droga: _____ Transfusão sanguínea: _____

CH: _____ Hep. Crônica: _____ Álcool: _____ Dose: _____

Outros: _____

Aspirado da lesão: S () N ().

Biópsia: S () N ().

Histologia: S () N ()

Resultado: _____

CT: S () N ().

Resultado: _____

US: S () N ().

Resultado: _____

Lesão focal hepática: S () N (). Única: S () N (). Múltiplas: S () N ().

Citar: _____

Localização: Lobo esquerdo: S1 () S2 () S3 () S4 ()

Lobo direito: S5 () S6 () S7 () S8 ()

Tamanho da lesão : _____

Aspecto ecográfico: Hiperecogênico () Hipoecogênico () Isoecogênico ()

Mosaico ()

Arteriografia: S () N ()

Resultado: _____

Cintilografia: S () N ()

Resultado: _____

Endoscopia: S () N ()

Resultado: _____

ANEXO 2. Grau de diferenciação histológica segundo Edmondson-Steiner

Grau	Características
I	trabecula delicada e núcleo vesiculoso
II	núcleos grandes e hipercromáticos. citoplasma abundante e acidófilo
III	núcleos maiores e hipercromáticos; citoplasma granular e acidófilo; degradação do padrão trabecular e células tumorais gigantes.
IV	células não são coesas: formas bizarras, citoplasma escasso; núcleos intensamente hipercromáticos

ANEXO 3. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo CHC-B

No.	Registro	Idade	Sexo
1	328090-4	62	M
2	404197-3	59	M
3	418230-7	67	M
4	415126-9	60	M
5	421254-2	63	M
6	390571-8	29	M
7	266050-3	56	M
8	352834-0	68	M
9	481728-1	53	M
10	489794-6	46	M
11	357908-2	67	M
12	419946-5	71	M
13	386101-3	58	M
14	381014-9	87	M
15	340831-6	58	M
16	385533-3	67	M
17	403390-0	75	M
18	445792-8	70	M
19	311155-3	47	M

ANEXO 4. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo CH

No.	Registro	Idade	Sexo
1	758830-2	67	M
2	350022-5	53	M
3	305066-6	48	F
4	361461-0	44	M
5	285403-3	52	M
6	367679-1	55	M
7	367309-8	61	F
8	385620-2	43	F
9	379938-7	1	M
10	309176-5	37	M
11	326442-3	57	M
12	386299-6	33	M
13	403992-4	13	F
14	397228-2	72	M
15	326173-8	50	M
16	410708-8	27	F
17	129885-6	52	M
18	265085-1	44	M
19	135824-2	43	M

ANEXO 5. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo HH

No.	Registro	Idade	Sexo
1	401492-0	40	F
2	331451-1	53	F
3	408683-0	45	F
4	363060-6	35	M
5	401840-5	58	F
6	213405-	71	F
7	348816-3	66	M
8	138460-3	62	M
9	400365-3	31	F
10	419024-3	46	M
11	441271-6	81	F
12	435562-3	60	M
13	349871-9	50	F
14	460320-2	73	M
15	454990-3	51	F
16	457027-4	44	F
17	471898-4	49	F

ANEXO 6. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo MH

No.	Registro	Idade	Sexo
1	266005-3	57	M
2	434023-0	68	F
3	378309-3	66	F
4	390015-4	63	M
5	398806-7	62	F
6	408737-7	60	F
7	228277-5	64	M
8	389883-4	54	F
9	179889-2	76	F
10	417783-7	53	M
11	402324-4	53	F
12	409052-2	45	F
13	419670-8	52	M
14	446419-5	68	F
15	457119-2	49	M
16	359729-8	70	F
17	475019-8	48	F

ANEXO 7. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo C

No.	Registro	Idade	Sexo
1	359391-7	39	M
2	-	30	M
3	268093-9	63	F
4	290649-2	78	F
5	499948-7	68	M
6	494518-3	66	F
7	500399-4	45	M
8	435183-3	51	F
9	303055-3	63	M
10	324554-2	70	M
11	362916-2	59	M
12	322521-1	70	F
13	374267-1	63	M
14	382638-8	59	M
15	442047-8	70	M
16	65847-9	60	M
17	164119-2	76	F
18	224856-9	66	F
19	223627-9	62	M
20	106672-0	53	M

ANEXO 8. Registro do Hospital, idade e sexo no grupo CHC-J

No.	Registro	Idade	Sexo
1	69247	79	F
2	84781	62	M
3	139801	71	M
4	237185	65	M
5	364283	68	M
6	367165	59	M
7	69695	54	M
8	411699	61	M
9	541350	71	M
10	550303	50	M
11	935991	62	M
12	1021295	69	M
13	1085668	67	M
14	1246054	63	F
15	1280917	55	M
16	1306646	45	M
17	1311147	57	F
18	1316113	55	M
19	1339840	65	M
20	1365665	57	M
21	1366567	64	M
22	1399181	68	M
23	1416099	69	F
24	1471595	46	M
25	1489141	60	F
26	1494440	57	M
27	1496589	62	M
28	1497625	47	F
29	1520633	76	F
30	1540749	52	M
31	1552306	78	F
32	1557217	62	M

ANEXO 9. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina, RNI e antígeno carcinoembriogênico no grupo CHC-B.

No.	FA	GGT	AST (U.I/l)	ALT (U.I/l)	ALBUMINA (g/l)	AP (%)	RNI	CEA (mg/mL)
1	1.03	1.28	68	114	4.38	75	1.19	2.90
2	3.21	3.00	101	48	-	48	1.59	-
3	4.01	9.54	231	19	3.05	46	1.57	4.50
4	0.92	-	126	44	2.50	53	1.27	-
5	1.60	6.37	124	-	3.60	-	1.20	-
6	1.63	6.34	254	29	2.47	57	1.34	-
7	1.35	1.30	64	48	-	42	-	1.20
8	0.44	1.72	85	42	-	-	1.45	3.00
9	0.60	0.92	59	51	-	-	2.06	0.80
10	2.74	8.92	152	90	-	-	-	3.10
11	-	4.10	124	-	3.01	-	1.14	-
12	1.43	14.6	49	24	-	-	1.24	2.30
13	0.76	-	160	17	3.30	52	1.34	-
14	0.44	0.20	-	26	2.21	77	1.12	-
15	2.00	1.36	218	51	1.80	-	1.75	4.20
16	0.58	1.48	14	-	-	-	1.50	-
17	0.39	1.98	83	44	3.28	-	-	-
18	0.78	0.50	-	-	3.91	-	1.07	-
19	0.94	2.92	170	-	3.52	-	1.43	2.50

ANEXO 10. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina, RNI e antígeno carcinoembriogênico no grupo CH.

Nº.	FA	GGT	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALBUMINA (g/l)	AP (%)	RNI	CEA (mg/mL)
1	0.33	0.36	15	29	2.92	40	-	-
2	0.65	1.26	21	90	2.91	27	-	-
3	0.40	1.36	57	15	3.90	64	1.22	5.00
4	0.93	6.40	227	104	3.87	-	1.51	5.50
5	0.46	0.42	35	41	4.47	-	1.40	-
6	0.62	1.12	26	18	4.30	74	1.14	-
7	2.05	3.36	65	30	2.70	65	-	-
8	0.96	2.13	11	6	4.52	-	1.21	-
9	0.44	0.10	22	19	3.29	47	-	-
10	0.57	3.02	94	147	4.41	65	-	-
11	0.34	-	16	12	3.60	-	1.10	-
12	0.93	1.12	27	13	3.94	57	-	-
13	2.27	1.83	60	57	3.88	47	1.54	-
14	0.62	1.86	20	-	2.41	48	1.50	3.20
15	0.33	0.54	19	16	3.90	52	1.40	2.60
16	1.41	1.36	244	188	-	-	-	3.70
17	-	-	-	-	-	-	-	-
18	0.67	1.66	145	200	3.65	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	1.32	-

ANEXO 11. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina, RNI e antígeno carcinoembriogênico no grupo MH.

No.	FA	GGT	AST (U.I/l)	ALT (U.I/l)	ALBUMINA (g/l)	AP (%)	RNI	CEA (mg/mL)
1	1.35	1.30	44	29	2.39	45	1.74	1.10
2	3.87	4.96	139	57	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	2.02	-
4	3.99	2.66	103	46	4.12	82	-	1.00
5	2.00	4.50	67	27	-	59	-	-
6	1.47	2.50	33	8	-	52	1.19	-
7	2.12	1.16	42	17	3.30	53	1.41	100.0
8	2.56	33.13	121	-	-	52	1.44	100.0
9	9.54	3.86	30	-	3.85	-	1.05	1.20
10	-	-	106	-	-	-	1.08	-
11	-	-	165	39	1.70	36	1.96	325.0
12	6.80	14.5	-	-	-	-	-	-
13	1.58	8.76	-	-	-	-	-	-
14	6.59	19.7	53	70	-	-	-	-
15	1.81	4.20	27	13	-	-	1.43	1.23
16	1.00	2.30	15	17	-	-	1.26	-
17	2.62	13.9	57	26	4.32	-	-	2.60

ANEXO 12. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina e RNI no grupo HH.

No.	FA	GGT	AST (U./l)	ALT (U./l)	ALBUMINA (g/L)	AP (%)	RNI
1	0.62	0.86	15	12	4.37	-	1.05
2	0.97	1.60	17	17	3.63	74	1.17
3	0.70	-	19	18	4.20	-	-
4	0.33	0.26	9	12	4.54	-	1.09
5	0.81	1.00	76	48	3.23	-	1.74
6	0.91	1.36	98	126	3.50	-	1.15
7	0.56	-	16	-	-	-	1.07
8	0.27	1.24	8	5	3.98	65	1.26
9	0.82	0.73	24	12	-	-	1.55
10	0.69	0.46	-	18	4.30	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-
12	-	0.56	-	-	4.78	-	1.07
13	-	0.70	-	13	-	-	1.19
14	-	1.38	28	32	-	-	-
15	0.39	0.73	16	12	-	-	-
16	0.44	0.46	18	15	-	-	1.00
17	0.54	0.70	28	43	-	-	1.20

ANEXO 13. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina e RNI no grupo C.

No.	FA	GGT	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALBUMINA (g/L)	AP(%)	RNI
1	0.75	0.30	-	23	-	86	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	0.33	0.36	15	11	-	-	1.04
4	0.45	0.70	19	-	-	-	-
5	1.65	-	24	-	-	-	1.00
6	-	-	-	-	4.23	-	1.00
7	0.67	1.64	-	-	4.22	-	-
8	0.73	0.70	-	17	4.77	-	1.12
9	-	-	-	-	-	-	1.00
10	0.79	-	20	13	-	-	1.12
11	0.88	0.50	21	-	-	-	-
12	1.00	0.50	15	-	-	-	1.10
13	0.62	1.82	26	29	-	-	1.20
14	0.32	0.38	20	17	3.88	-	1.09
15	0.55	0.48	14	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	13	-	-	-
18	0.69	0.83	21	12	-	-	1.00
19	-	-	-	-	-	-	1.08
20	0.58	0.30	-	30	-	-	1.00

ANEXO 14. Resultados das variáveis fosfatase alcalina, gamaglutamiltransferase, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, albumina, atividade de protrombina, RNI e antígeno carcinoembriogênico no grupo CHC-J.

No.	FA	GGT	AST (U.I/l)	ALT (U.I/l)	ALBUMINA (g/L)	AP(%)	RNI	CEA (mg/mL)
1	1.48	-	31	19	-	-	-	1.80
2	2.83	-	117	56	-	-	-	2.70
3	1.89	-	82	43	-	-	-	1.30
4	1.08	-	36	27	-	-	-	1.80
5	1.89	-	58	13	-	-	-	3.80
6	1.48	-	31	15	-	-	-	2.80
7	2.02	-	81	41	-	-	-	1.60
8	0.94	-	49	51	-	-	-	1.40
9	1.48	-	98	142	-	-	-	2.80
10	1.35	-	60	52	-	-	-	1.80
11	1.62	-	36	25	-	-	-	3.70
12	1.35	-	19	6	-	-	-	5.10
13	0.67	-	36	38	-	-	-	1.20
14	1.75	-	63	62	-	-	-	1.00
15	1.08	-	120	61	-	-	-	1.60
16	0.67	-	22	31	-	-	-	0.60
17	1.21	-	131	73	-	-	-	2.50
18	2.43	-	63	43	-	-	-	1.80
19	1.35	-	98	74	-	-	-	2.10
20	1.08	-	114	88	-	-	-	3.30
21	3.10	-	89	56	-	-	-	2.90
22	3.37	-	102	64	-	-	-	1.80
23	0.94	-	82	34	-	-	-	1.50
24	1.35	-	85	34	-	-	-	0.80
25	1.75	-	48	30	-	-	-	1.80
26	3.51	-	45	35	-	-	-	1.00
27	3.24	-	235	94	-	-	-	1.60
28	0.81	-	90	80	-	-	-	0.00
29	1.89	-	118	55	-	-	-	1.90
30	2.70	-	169	60	-	-	-	2.10
31	0.94	-	42	17	-	-	-	1.20
32	7.70	-	818	60	-	-	-	1.20

ANEXO 15. Resultados dos valores absolutos (VA) e valores logarítmicos (VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo CHC-B.

No.	A.F.P.		DCP	
	VA (ng/ml)	VL	VA (U.A/ml)	VL
1	20.7	3.03	8.00	2.07
2	-	-	8.00	2.07
3	1340.0	7.20	8.00	2.07
4	572.0	6.34	8.00	2.07
5	17884.2	9.79	8.00	2.07
6	133.3	4.89	8.00	2.07
7	0.7	-0.26	0.09	- 2.40
8	1.6	0.48	0.30	-1.20
9	9.8	2.30	0.00	-9.21
10	4000.0	8.29	0.94	-0.06
11	54.8	4.00	0.94	-0.06
12	6.5	1.88	0.00	-9.21
13	133.3	4.89	0.00	-9.21
14	-	-	3.15	
15	26.1	3.26	0.00	-9.21
16	2.4	0.88	0.00	-9.21
17	3.5	1.25	0.00	-9.21
18	9.9	2.30	0.00	-9.21
19	1.7	0.58	0.00	-9.21

ANEXO 16. Resultados dos valores absolutos (VA) e valores logarítmicos (VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo CH.

No.	A.F.P.		DCP	
	VA (ng/ml)	VL	VA (U.A/ml)	VL
1	9.8	1.57	0.00	9.21
2	2.0	0.72	0.05	- 2.99
3	2.4	0.89	0.11	- 2.20
4	6.15	1.81	1.19	0.17
5	0.30	-1.20	0.00	- 9.21
6	1.20	0.23	0.00	-9.21
7	-	-	0.34	-1.07
8	-	-	0.24	-1.42
9	133.00	4.89	0.00	-9.21
10	1.40	0.36	0.00	-9.21
11	-	-	0.00	-9.21
12	2.40	0.82	0.00	-9.21
13	0.03	-3.50	0.00	-9.21
14	1.20	0.23	0.09	-2.40
15	1.90	0.67	0.00	-9.21
16	0.80	-0.22	0.00	-9.21
17	-	-	0.41	-0.89
18	6.40	1.86	0.00	-9.21
19	-	-	0.00	-9.21

ANEXO 17. Resultados dos valores absolutos (VA) e valores logarítmicos (VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo HH.

No.	A.F.P.		DCP	
	VA (ng/ml)	VL	VA (U.A/ml)	VL
1	0.6	- 0.51	0.00	9.21
2	1.2	0.18	0.00	-9.21
3	0.8	- 0.22	0.00	-9.21
4	0.7	- 0.31	0.00	-9.21
5	2.2	0.81	0.00	-9.21
6	0.8	- 0.22	0.00	-9.21
7	0.7	- 0.31	0.00	-9.21
8	0.7	- 0.31	0.00	-9.21
9	1.4	0.38	0.00	-9.21
10	0.4	- 0.76	0.00	-9.21
11	2.0	0.69	0.00	-9.21
12	0.1	- 1.95	0.00	-9.21
13	0.8	- 0.22	0.00	-9.21
14	0.5	- 0.57	0.00	-9.21
15	1.8	0.68	0.00	-9.21
16	0.6	- 0.47	0.00	-9.21
17	0.6	- 0.47	0.00	-9.21

ANEXO 18. Resultados dos valores absolutos (VA) e valores logarítmicos (VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo MH.

No.	A.F.P.		DCP	
	VA	VL	VA	VL
	(ng/ml)		(U.A/ml)	
1	1.00	0.06	0.00	-9.21
2	-	-	0.00	-9.21
3	-	-	0.19	-1.66
4	0.50	- 0.62	0.00	-9.21
5	0.06	- 1.62	0.00	-9.21
6	0.40	- 0.83	0.00	-9.21
7	0.03	- 3.50	2.41	0.87
8	1.10	0.12	3.20	1.16
9	0.40	- 0.83	0.00	-9.21
10	0.80	- 0.22	0.10	-2.30
11	2.10	0.75	1.21	0.19
12	0.10	- 1.79	0.00	-9.21
13	-	-	0.00	- 9.21
14	-	-	0.00	- 9.21
15	0.20	- 1.26	0.00	- 9.21
16	0.10	- 1.79	0.00	- 9.21
17	2.40	0.87	0.00	- 9.21

ANEXO 19. Resultados dos valores absolutos(VA) e valores logarítmicos (VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo C.

No.	A.F.P.		DCP	
	VA (ng/ml)	VL	VA (U.A/ml)	VL
1	-	-	0.00	-9.21
2	-	-	0.00	-9.21
3	-	-	0.00	-9.21
4	-	-	0.00	-9.21
5	0.7	0.34	0.00	-9.21
6	0.3	- 1.00	0.00	-9.21
7	-	-	0.05	-2.99
8	0.3	- 0.94	0.00	-9.21
9	-	-	0.00	- 9.21
10	0.6	- 0.43	0.00	- 9.21
11	0.2	- 1.30	0.04	- 3.20
12	-	-	0.00	-9.21
13	0.89	- 0.10	0.00	-9.21
14	-	-	0.00	-9.21
15	0.40	1.30	0.00	-9.21
16	-	-	0.00	-9.21
17	1.40	2.54	0.00	-9.21
18	0.40	- 0.80	0.00	-9.21
19	-	-	0.00	-9.21
20	-	-	0.00	-9.21

ANEXO 20. Resultados dos valores absolutos(VA) e valores logarítmicos(VL) das variáveis A.F.P. e DCP nos pacientes pertencentes ao grupo CHC-J.

	A.F.P.		DCP	
	VA	VL	VA	VL
	(ng/ml)		(U.A/ml)	
1	9.7	2.20	0.00	- 9.21
2	2.8	1.00	0.76	- 0.27
3	22.7	3.12	1.49	0.39
4	15.6	2.74	0.40	- 0.91
5	416.0	6.03	1.22	0.19
6	49.7	3.90	0.28	- 1.27
7	681.0	6.52	3.23	1.17
8	154.0	5.03	0.19	- 1.66
9	360.0	5.88	1.45	0.37
10	3.8	1.33	0.00	- 9.21
11	1.1	0.99	0.10	- 2.30
12	0.3	- 1.20	0.00	- 9.21
13	0.7	- 0.35	0.00	- 9.21
14	35.5	3.56	0.00	- 9.21
15	0.8	- 0.22	0.00	- 9.21
16	9.6	2.26	0.00	- 9.21
17	8.5	2.14	0.00	- 9.21
18	0.1	- 2.30	0.08	- 2.52
19	1670.0	7.42	9.00	2.19
20	1.6	0.47	0.00	- 9.21
21	4.5	1.50	9.00	2.19
22	2950.0	7.42	9.00	2.19
23	0.8	- 0.22	0.00	- 9.21
24	43.4	3.77	0.00	- 9.21
25	1.4	0.33	1.75	0.55
26	18.1	2.89	0.21	- 1.56
27	1570.0	7.35	5.43	1.69
28	0.3	- 1.20	0.00	- 9.21
29	1.7	0.53	0.00	- 9.21
30	2.9	1.06	9.00	2.19
31	0.5	- 0.69	0.00	- 9.21
32	3200.0	8.07	9.00	2.19

ANEXO 21. Resultados das variáveis cirrose hepática(CH), hepatite crônica (HC), diâmetro da lesão(DL), número de lesões(NL), histologia(H) e grau de diferenciação segundo Edmondson-Steiner(E-S) no grupo CHC-B.

No.	CH	HC	DL (cm)	NL	H	E-S (grau)
1	+	-	5.0	2	trabecular+pseudoglandular	III
2	+	-	7.6	1	-	-
3	+	-	10.0	1	trabecular	I
4	+	-	5.5	1	trabecular	II
5	+	-	5.7	1	trabecular	II
6	+	-	1.3	5	sólido	III
7	+	-	4.4	2	trabecular	II
8	+	-	1.5	3	trabecular	I
9	+	-	2.0	1	trabecular	I
10	-	-	1.0	4	fibrolamelar	I
11	+	-	3.5	3	trabecular	II
12	+	-	3.5	1	trabecular+células claras	II
13	+	-	-	5	trabecular	III
14	+	-	maciço	1	-	-
15	+	-	9.2	2	-	-
16	+	-	9.0	4	trabecular	I
17	+	-	3.5	2	-	-
18	-	-	10.0	1	trabecular	I
19	+	-	0.7	1	-	-

ANEXO 22. Resultados das variáveis cirrose hepática(CH), hepatite crônica (HC), diâmetro da lesão(DL), número de lesões(NL), histologia(H) e grau de diferenciação segundo Edmondson-Steiner(E-S) no grupo CHC-J.

No.	CH	HC	DL (cm)	NL	H	E-S (grau)
1	+	-	3.5	1	mod. diferenciado	II
2	+	-	9.0	4	pouco diferenciado	III
3	+	-	3.0	1	mod. diferenciado	II
4	-	+	5.0	1	-	-
5	+	-	17.5	1	mod. diferenciado	II
6	+	-	3.5	1	-	-
7	+	-	8.5	4	pouco diferenciado	III
8	+	-	3.3	4	mod. diferenciado	III
9	+	-	5.0	1	-	-
10	+	-	3.5	1	mod. diferenciado	II
11	+	-	4.0	4	bem diferenciado	I
12	+	-	1.4	1	mod. diferenciado	II
13	-	+	3.2	1	-	-
14	+	-	4.1	2	pouco diferenciado	III
15	+	-	7.5	2	mod. diferenciado	II
16	-	+	14.0	1	pouco diferenciado	III
17	+	-	2.4	1	-	-
18	+	-	5.9	3	-	-
19	+	-	9.0	4	pouco diferenciado	III
20	+	-	3.5	1	-	-
21	+	-	7.0	4	bem diferenciado	I
22	+	-	5.5	4	mod. diferenciado	II
23	+	-	2.8	1	mod. diferenciado	II
24	+	-	7.5	4	-	-
25	+	-	5.7	4	bem diferenciado	I
26	-	+	11.3	4	pouco diferenciado	III
27	+	-	6.0	4	-	-
28	-	+	2.0	1	pouco diferenciado	II
29	+	-	2.5	4	mod. diferenciado	II
30	+	-	14.0	3	-	-
31	+	-	3.7	2	-	-
32	-	+	10.0	4	mod. diferenciado	II

ANEXO 23. Resultados das variáveis diâmetro da lesão(DL), número de lesões (NL), histologia(H) e localização primária do tumor(LPT) no grupo MH.

No.	DL (cm)	NL	H	LPT
1	3.4	-	-	indeterminado
2	3.0	-	-	câncer gástrico
3	1.0	-	-	câncer de cólon
4	2.0	-	adenocarcinoma metastático	indeterminado
5	1.4	-	adenocarcinoma metastático	câncer de ceco
6	1.2	-	metástase de oat cell carcinoma	câncer de pulmão
7	1.4	-	adenocarcinoma metastático	câncer gástrico com invasão
8	2.0	-	-	indeterminado
9	-	3	melanoma maligno metastático	-
10	3.2	4	metástase de "oat cell" carcinoma	câncer de pulmão
11	-	4	adenocarcinoma metastático	câncer de cólon
12	-	-	-	indeterminado
13	-	-	-	indeterminado
14	2.5	3	-	câncer de mama
15	7.7	2	adenocarcinoma metastático	indeterminado
16	8.0	1	carcinoma metastático	câncer de vesícula
17	14.8	1	carcinoma epidermóide	câncer de canal anal

ANEXO 24. Resultados das variáveis AgHBs, anti-HBs, anti-HBc, AgHBe, anti-HVC, álcool e droga nos pacientes do grupo CHC-B.

No.	AgHBs	anti-HBs	anti-HBc	AgHBe	Anti-HVC	Álcool	Droga
1	+	-	+	+	-	-	-
2	+	-	+	+	-	-	-
3	-	-	+	-	-	+	-
4	-	-	-	-	+	+	-
5	-	-	-	-	-	+	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	+	-
8	-	-	-	-	+	+	-
9	+	-	+	-	-	+	-
10	.	.	.	.	.	.	.
11	-	-	-	-	+	+	-
12	+	-	-	-	-	+	-
13	-	+	+	-	-	-	-
14	-	-	-	-	+	+	-
15	-	-	-	-	-	+	-
16	+	-	-	-	-	+	-
17	-	-	-	-	+	+	-
18	-	-	-	-	-	+	-
19	-	-	-	-	+	-	-

ANEXO 25. Resultados das variáveis HBsAg, AHBsAg, AHBcAg, HBeAg, anti-VHC, álcool e droga nos pacientes do grupo CHC-J.

No.	AgHBs	anti-HBs	anti-HBc	AgHBe	Anti-HVC	Álcool	Droga
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	+	-	-
3	-	-	-	-	+	-	-
4	+	-	-	+	-	-	-
5	-	+	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	+	+	-
7	+	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	+	-	-
9	-	-	-	-	+	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	+	-	-
12	+	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	+	-	-
14	-	-	-	-	+	-	-
15	-	-	-	-	+	-	-
16	+	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	+	-
19	-	-	-	-	+	-	-
20	-	-	-	-	+	-	-
21	-	-	-	-	+	-	-
22	-	-	-	-	-	-	-
23	-	-	-	-	+	-	-
24	+	-	-	-	-	-	-
25	+	-	-	-	-	-	-
26	+	-	-	-	-	-	-
27	-	-	-	-	+	-	-
28	-	-	-	-	+	-	-
29	-	-	-	-	+	-	-
30	+	-	-	-	-	-	-
31	-	+	+	-	-	-	-
32	-	-	-	-	+	-	-