JOÃO PAULO MACIEL DA SILVA

**Impacto dos marcadores inflamatórios no prognóstico de
pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à
ressecção hepática com intenção curativa**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências em
Gastroenterologia

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Ferreira
Coelho

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, João Paulo Maciel da
Impacto dos marcadores inflamatórios no
prognóstico de pacientes com carcinoma hepatocelular
submetidos à ressecção hepática com intenção curativa
/ João Paulo Maciel da Silva. -- São Paulo, 2021.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientador: Fabricio Ferreira Coelho.

Descritores: 1.Carcinoma hepatocelular
2.Hepatectomia 3.Prognóstico 4.Inflamação
5.Neutrófilos 6.Linfócitos 7.Plaquetas 8.Análise de
sobrevivência

USP/FM/DBD-249/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha família, em especial, aos meus pais, Antônio Otto e Nadjá, minha irmã Cíntia, minha tia Ilka e minha avó Maria do Carmo, pelo apoio e incentivo.

Aos pacientes, o nosso maior estímulo e fonte de energia na busca pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Luiz Augusto Carneiro D'Albuquerque, Flair José Carrilho e Sérgio Carlos Nahas, pelo exemplo na direção do departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, grandes ícones de trabalho, dedicação e referência aos jovens.

Ao Prof. Dr. Paulo Herman, grande referência e mestre, pelo acolhimento no serviço de cirurgia do fígado e hipertensão portal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao Prof. Dr. Fabrício Ferreira Coelho, grande mestre e amigo, pelos ensinamentos, pelo apoio e pela confiança, pessoa fundamental e de importância inestimável na elaboração desta tese, grande exemplo de ética, conhecimento e integridade.

Ao laboratório de epidemiologia e estatística da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em especial, ao estatístico Alex Jones Flores Cassenote, pela dedicação e pelo auxílio na análise dos dados do presente estudo.

Aos Drs. José Donizeti de Meira e Francisco Nolasco de Carvalho Neto, pelo importante auxílio na coleta de dados desta tese.

Aos Drs. Renato Estevam Hueb Simão, Daniela Mina Fukasawa, Marcos Massanabu Mori, Nelson Henrique Ferreira Possídio e Maurício Guimarães Pimentel, grandes amigos e incentivadores, pelos anos de convívio e amizade.

Aos amigos do serviço de cirurgia do fígado e hipertensão portal, Gilton Marques Fonseca, Vagner Brik Jeismann, Jaime Arthur Pirola Krugern e Fábio Ferrari Makidissi, pela receptividade e pelo acolhimento.

Aos cirurgiões do departamento de cirurgia da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo, lugar no qual construí as minhas bases desta arte que tanto amo que é a cirurgia digestiva, em especial, aos eminentes cirurgiões: Drs. José Gustavo Parreira, Tércio de Campos, Rodrigo Altenfelder Silva, André de Moricz, Adhemar Monteiro Pacheco Júnior, José César Assef, Alexandre Shiniti Sassatani, Luiz Arnaldo Szutan, Fábio Gonçalves Ferreira e Carlos Alberto Malheiros, pelos ensinamentos e pelo exemplo.

Ao meu amigo, Dr. Leandro Teixeira Bouzon, pela amizade verdadeira ao longo desses quase 20 anos.

“A performance, o “fazer” carreira exige atitude e iniciativa, por isso é um “fazer” em vez de um “receber”. Caminhamos para o futuro, com propósito, esforço e alegria sabendo que ciladas e sobressaltos exigem de nós paciência na turbulência e sabedoria na travessia”.

Mário Sérgio Cortella

NORMALIZAÇÃO ADOPTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO	2
1.1	Carcinoma hepatocelular.....	2
1.2	Relação entre resposta inflamatória e carcinogênese.....	7
1.3	O microambiente tumoral: um novo horizonte.....	8
1.4	A relação entre as células inflamatórias e câncer.....	11
1.5	Relação dos marcadores inflamatórios e neoplasias gastrointestinais.....	15
1.6	Marcadores inflamatórios e CHC	16
1.7	Justificativa.....	17
2	OBJETIVOS	20
3	MÉTODOS	22
3.1	Relação neutrófilo-linfócito (RNL)	24
3.2	Relação monócito-linfócito (RML)	24
3.3	Relação plaqueta-linfócito (RPL)	25
3.4	Seguimento.....	25
3.5	Análise estatística	26
4	RESULTADOS.....	28
4.1	Determinação do ponto de corte dos marcadores inflamatórios para os desfechos óbito e recidiva.....	33
4.2	Valor prognóstico dos marcadores inflamatórios para SG	35
4.3	Valor prognóstico dos marcadores inflamatórios para SLD	39
4.4	Análise do impacto prognóstico dos marcadores inflamatórios em subgrupos de pacientes com CHC estratificados pelo tamanho do tumor	45
4.4.1	Grupo I: CHC < 5 cm	46
4.4.2	Grupo II: CHC entre 5-10 cm.....	48

4.4.3 Grupo III: CHC > 10 cm	49
4.5 Fatores de risco para SG e SLD	51
5 DISCUSSÃO	54
5.1 As variáveis clínico-patológicas dos pacientes com CHC	54
5.2. Pontos de corte dos marcadores inflamatórios para SG e SLD....	58
5.3 O papel dos marcadores inflamatórios no prognóstico de pacientes com CHC	59
5.4 Análises uni e multivariadas de variáveis prognósticas	64
5.5 Limitações do estudo e perspectivas futuras.....	66
6 CONCLUSÃO	69
7 ANEXOS	71
7.1 ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética Médica	71
8 REFERÊNCIAS.....	75

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADP	Adenosina Difosfato
AFP	Alfafetoproteína
ALT	Alanina Aminotransferase
ARF	Ablação por Radiofrequência
ASA	<i>American Society of Anesthesiologists</i>
AST	Aspartato Aminotransferase
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
BCLC	<i>Barcelona Clinic Liver Cancer</i>
CA 125	Carbohydrate Antigen 125
CA 19-9	<i>Carbohydrate Antigen 19-9</i>
CAFs	<i>Cancer Associated Fibroblasts</i>
CHC	Carcinoma Hepatocelular
CTNNB1	Catenin Beta 1
CXCR2	<i>C-X-C Motif Chemokine Receptor 2</i>
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EHNA	Esteato-Hepatite não Alcoólica
GLOBOCAN	Iniciativa Global Contra o Câncer
GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage-Colonies Stimulating Factor</i>
Gp IIb/IIIa	Glicoproteína IIb/IIIa
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HR	<i>Harzard Ratio</i>
IC 95%	Intervalo de Confiança 95%
IL-1	Interleucina 1
IL-17	Interleucina 17
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corpórea

IMV	Invasão Microvascular
INFγ	Interferon γ
INR	<i>International Normalized Ratio</i>
LINFÓCITOS NK	Linfócitos <i>Natural Killer</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MAT	Microambiente Tumoral
MELD	<i>Model for End-Stage Liver Disease</i>
MMP-2	Metaloproteinase 2
MMP-9	Metaloproteinase 9
mTOR	<i>Mammalian Target of Rapamycine</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
PDGF	<i>Platelet Derivated Growth Factor</i>
PNPLA 3	<i>Patatin-Like Phospholipase Domain-Containing Protein 3</i>
REDCap	<i>Research Electronic Data Capture</i>
RML	Relação Monócito-Linfócito
RNA	Ácido Ribonucleico
RNL	Relação Neutrófilo-Linfócito
ROC	<i>Receiving Operator Curve</i>
RPL	Relação Plaqueta-Linfócito
SG	Sobrevida Global
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
SLD	Sobrevida Livre de Doença
STARD	<i>Standards for Reporting Studies of Diagnostic Accuracy</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TACE	<i>Transarterial Chemoembolization</i>
TAMs	<i>Tumor Associated Macrophages</i>
TANs	<i>Tumor Associated Neutrophils</i>
TECs	<i>Tumor Endotelial Cells</i>
TEM	Transição Epitélio-Mesenquimal
TGF-β	<i>Tumor Growth Factor β</i>
Th1	T helper 1

Th2	T helper 2
TILs	<i>Tumor Infiltrating Lymphocytes</i>
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TNF β	<i>Tumor Necrosis Factor β</i>
TNM	Tumor Nodes Metastase
TP53	<i>Tumor Protein 53</i>
Treg	T reguladores
TxA2	Tromboxane A2
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VEGF	<i>Vascular Endotelial Growth Factor</i>
VHB	Vírus da Hepatite B
VHC	Vírus da Hepatite C

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Os macrófagos associados ao tumor assumem dois fenótipos (M1 e M2) no microambiente tumoral. O predomínio do subtipo M2, mediado pela resposta humoral, favorece a carcinogênese e disseminação tumoral.	10
Figura 2	Fluxograma de seleção dos pacientes operados por carcinoma hepatocelular incluídos no estudo	28
Figura 3	Etiologia da doença hepática nos pacientes incluídos no estudo	32
Figura 4	Sobrevida global e livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).	32
Figura 5	Curvas ROC para o desfecho óbito das variáveis relação neutrófilo-linfócito (A), relação plaqueta-linfócito (B) e relação monócito-linfócito (C)	34
Figura 6	Curvas ROC para o desfecho recidiva das variáveis (A) relação neutrófilo-linfócito, (B) relação plaqueta-linfócito e (C) relação monócito-linfócito	35
Figura 7	Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão neutrófilo-linfócito (RNL) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> = 0,018).....	36
Figura 8	Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão plaqueta-linfócito (RPL) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> = 0,332).....	36
Figura 9	Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos relação monócito-linfócito (RML) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> =0,519).....	37
Figura 10	Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão neutrófilo-linfócito (RNL) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> = 0,047).	40

Figura 11	Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão plaqueta-linfócito (RPL) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> = 0,028).	40
Figura 12	Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão monócito-linfócito (RML) baixa (azul) e alta (vermelho) (<i>log-rank</i> = 0,674)	41
Figura 13	Sobrevida global e livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa de acordo com o tamanho: Grupo I (< 5 cm), Grupo II (5-10 cm) e Grupo III (> 10 cm). Não foi observada diferença entre os grupos para ambos os desfechos (<i>log-rank</i> = 0,519 e <i>log-rank</i> = 0,454, respectivamente)	46
Figura 14	Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular < 5 cm (Grupo I): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	47
Figura 15	Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular < 5 cm (Grupo I): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	47
Figura 16	Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular entre 5-10 cm (Grupo II): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	48
Figura 17	Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular entre 5-10 cm (Grupo II): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	49
Figura 18	Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular > 10 cm (Grupo III): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	50
Figura 19	Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular > 10 cm (Grupo III): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variáveis clinicopatológicas dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).....	29
Tabela 2	Valor diagnóstico das variáveis avaliadas para o desfecho óbito	33
Tabela 3	Valor diagnóstico das variáveis avaliadas para o desfecho recidiva	34
Tabela 4	Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 1,715$) e alta ($> 1,715$)	38
Tabela 5	Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 2,475$) e alta ($> 2,475$)	42
Tabela 6	Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação plaqueta-linfócito (RPL) baixa ($\leq 100,25$) e alta ($> 100,25$)	44

RESUMO

Silva JPM. *Impacto dos marcadores inflamatórios no prognóstico de pacientes submetidos à ressecção hepática com intenção curativa* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: O algoritmo terapêutico do carcinoma hepatocelular (CHC) é complexo e tem na ressecção cirúrgica um dos seus principais alicerces. Contudo, a recidiva pós-operatória ainda é alta, variando de 50 a 80% em 5 anos. Por esta razão, a busca por fatores prognósticos que possam refinar o entendimento da biologia e comportamento tumorais tem aumentado. Estudos recentes têm demonstrado a relação entre a resposta inflamatória e o prognóstico oncológico de diversas neoplasias sólidas gastrointestinais. Entretanto, o impacto prognóstico dos marcadores inflamatórios em pacientes submetidos à hepatectomia por CHC ainda é pouco conhecido. Os estudos existentes têm mostrado resultados promissores, no entanto, são, em sua maioria, oriundos de centros orientais, com características tumorais e epidemiológicas distintas das encontradas em centros ocidentais.

Objetivo: O objetivo primário é avaliar o impacto prognóstico dos principais marcadores inflamatórios pré-operatórios – relação neutrófilo-linfócito (RNL), relação plaqueta-linfócito (RPL) e relação monócito-linfócito (RML) – no desfecho oncológico de pacientes submetidos à hepatectomia curativa por CHC. O objetivo secundário é estudar o impacto destes marcadores em subgrupos de pacientes com CHC quanto ao seu tamanho: < 5 cm, entre 5 e 10 cm e > 10 cm. **Método:** Foram estudados, tendo como base um banco de dados prospectivo, pacientes operados de janeiro de 2007 a dezembro de 2018. Os critérios de exclusão foram: doença extra-hepática, ressecção R1/R2 e tratamentos locorregionais prévios. Os melhores “cut-offs” para a RNL, RPL e RML foram calculados a partir da construção de curvas ROC (*Receiver Operator Curve*) e do índice de Youden, dividindo-se os pacientes em 2 grupos, acima e abaixo do “cut-off” calculado. As sobrevidas, global (SG) e livre de doença (SLD), foram estimadas por meio do método de Kaplan-Meier e comparadas pelo teste de *log-rank*. O método de Cox foi utilizado para identificar fatores independentes associados à SG e SLD. O nível de significância foi 5%. **Resultado:** Foram incluídos 161 pacientes. Com base na curva ROC, os melhores pontos de corte relacionados à mortalidade foram: RNL (1,715), RPL (115,05) e RML (1,750). Para recidiva, os pontos de corte foram: RNL (2,475), RPL (100,25) e RML (2,680). A RNL elevada (>1,715) associou-se à pior SG ($p=0,018$). A RNL (>2,475; $p=0,047$) e RPL (>100,25; $p=0,028$) elevadas associaram-se à pior SLD. Em pacientes com CHC < 5 cm, a RML (>1,715) foi associada à menor SG ($p=0,047$). Na análise multivariada, a hipertensão portal (HR=7,04; IC95% 2,40-20,66; $p<0,001$), AST > 50 U/dL (HR=3,06; IC95% 1,10-8,47; $p=0,032$) e tempo em UTI > 3 dias (HR=5,04; IC95% 1,75-14,49; $p=0,003$) foram fatores

associados à pior SG. Quanto à SLD, AST > 50 U/dL (HR=3,32; IC95% 1,60-6,91; p=0,001), invasão vascular (HR=2,36; IC95% 1,13-4,93 p=0,022) e RPL elevada (HR=3,03 IC95% 1,50-6,12; p=0,002) foram independentemente associados à maior recidiva. **Conclusão:** RNL elevada foi associada à menor SG e SLD. A RPL elevada foi preditora independente de pior SLD. A RML elevada foi preditora de menor SG em pacientes com CHC < 5 cm.

Descritores: Carcinoma hepatocelular; Hepatectomia; Prognóstico; Inflamação; Neutrófilos; Linfócitos; Plaquetas; Análise de sobrevida.

ABSTRACT

Silva JPM. *Prognostic impact of inflammatory markers in patients with hepatocellular carcinoma who underwent hepatic resection with curative intent* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Background: The therapeutic decision algorithm for hepatocellular carcinoma (HCC) is complex and has surgical resection as the mainstay of treatment. However, the post-operative recurrence of hepatocellular carcinoma is still high, reaching 50–80% in five years. For this reason, the search for prognostic markers that may help shed more light on tumor biology has been growing. For instance, the relationship between the inflammatory response and the oncologic prognosis of solid gastrointestinal tumors has recently been accessed. The available studies, reported from a majority derived of Eastern centers, have shown promising outcomes involving distinct tumor and epidemiologic features, in comparison to their Western counterparts. Despite this, the impact of inflammatory markers in oncologic outcomes of patients who underwent hepatectomy for HCC is still poorly known in general. **Aim:** The primary endpoint was to evaluate the prognostic impact of the main pre-operative inflammatory markers—neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and monocyte-to-lymphocyte ratio (MLR)—in the long-term outcomes of patients who underwent curative hepatectomy for HCC. The secondary endpoint was to evaluate the prognostic impact of these markers in subgroups of patients according to tumor size: < 5 cm, 5–10 cm, and > 10 cm. **Method:** A prospective database was utilized to study patients who underwent HCC resection from January 2007 to June 2018. The exclusion criteria were as follows: extra-hepatic disease; R1/R2 resection, and preoperative locoregional treatments. The best cut-off values for NLR, PLR and MLR were calculated through Receiver Operator Characteristic (ROC) curve analysis using the Youden’s index. Thereafter, patients were divided into two groups: those below and above the calculated cut-offs. Overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) were estimated using the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test. The Cox method was used to identify independent predictors associated with OS and DFS. The significance level used was set to 5%. **Results:** A total of 161 patients were enrolled. Based on the ROC curve analysis, the best cut-offs regarding mortality were the following: NLR (1.715), PLR (115.05), and MLR (1.750). For recurrence, the best cut-offs were NLR (2.745), PLR (100.25), and MLR (2.680). A high NLR (1.715) was associated with worse OS ($p=0.018$). High NLR (>2.475 ; $p=0.047$) and PLR (>100.25 ; $p=0.028$) were associated with worse DFS. In HCC < 5 cm, the MLR (>1.715) was associated with worse OS ($P=0.047$). In multivariate analysis, portal hypertension (hazard ratio [HR]=7.04; 95%

confidence interval [CI] 2.40-20.67; $p < 0.001$), aspartate aminotransferase (AST) > 50 U/dL (HR=3.06; 95% CI 1.10-8.47; $p=0.032$), and ICU stay > 3 days (HR=5.04; 95% CI 1.75-14.49; $p=0.003$) were factors associated with worse OS. For DFS, AST > 50 U/dL (HR=3.32; 95% CI 1.60-6.91; $p=0.001$), vascular invasion (HR=2.36; 95% CI 1.13-4.93 $p=0.022$), and elevated PLR (HR=3.03; 95% CI 1.50-6.12; $p=0.002$) were independent predictors for higher recurrence. **Conclusions:** An elevated NLR was related to worse OS and DFS. An elevated PLR was an independent predictor of worse DFS. An elevated MLR was a predictor of worse OS in patients with HCC < 5 cm.

Descriptors: Hepatectomy; Hepatocellular carcinoma; Prognosis; Inflammation; Neutrophils; Platelets; Lymphocytes; Survival analysis.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 Carcinoma hepatocelular

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno primário mais frequente do fígado.¹ No Ocidente, 80 a 90% dos CHCs desenvolvem-se em fígados cirróticos, no entanto, em algumas regiões do Oriente, que tem a hepatite B crônica como importante fator etiológico, este número cai para, aproximadamente, 60%.² Sua incidência tem crescido nas últimas décadas, impulsionada, principalmente, pela presença endêmica do vírus da hepatite B (VHB) em diversas regiões do Sudeste asiático e África, pela disseminação do vírus da hepatite C (VHC), e pelo aumento da obesidade e esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), especialmente nos países do Ocidente.³

Em 1990, a frequência mundial de diagnósticos desta neoplasia era de, aproximadamente, 437.000 casos por ano; já em 2012, o número de casos novos saltou para 782.000.¹ Dados de 2020 do GLOBOCAN⁴ mostram que, atualmente, o CHC é a 6ª neoplasia mais incidente no mundo, chegando a 905.677 novos casos por ano, com maior predisposição de acometimento de pacientes do sexo masculino (2-4 homens: 1 mulher) e indivíduos acima dos 60 anos. Com relação à mortalidade, representa a 3ª maior causa entre as neoplasias, com, aproximadamente, 830.180 óbitos por ano.⁴ Esses dados demonstram sua elevada letalidade, com relação mortalidade/incidência de 0,92. O Brasil tem incidência intermediária desta patologia, estimada em 4,7 casos por 100.000 habitantes, com, aproximadamente, 12.500 casos novos/ano.⁵ Dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), mostram que, em 2018, os tumores hepáticos foram a 6ª causa de mortalidade entre as neoplasias no Brasil, com 10.550 óbitos registrados.⁵

A carcinogênese do CHC é multifatorial, porém o principal fator associado ao seu desenvolvimento é a lesão hepática inflamatória crônica,

decorrente de infecções por vírus hepatotróficos (hepatites virais), insultos bioquímicos por substâncias como o álcool, medicamentos e aflatoxinas (produzida por espécies do fungo *Aspergillus*), doenças autoimunes (como a hepatite autoimune e a cirrose biliar primária) e distúrbios metabólicos como os relacionados à hemocromatose e EHNA.^{6,7}

O material genético do VHB é composto por DNA, dessa maneira, integra-se ao genoma do hepatócito e, de posse do maquinário genético da célula, ativa a transcrição de oncogenes que irão iniciar, promover e direcionar a carcinogênese, podendo levar ao surgimento do CHC mesmo sem a instalação de hepatopatia crônica e cirrose.^{7,8} Por outro lado, na infecção crônica pelo VHC (RNA vírus), a carcinogênese não se dá por meio da ativação direta de oncogenes, mas de modo indireto, com a indução de inflamação hepática crônica que proporciona o desenvolvimento de lesão hepatocelular e regeneração, levando a mutações e alterações displásicas.⁹ A patogênese do CHC associado à EHNA ainda não foi completamente elucidada, porém a principal hipótese é a de que múltiplos insultos (“*hits*”), em paralelo, sejam os responsáveis pela fisiopatologia tanto do dano hepatocelular quanto pelo mecanismo da carcinogênese, mesmo em fígados não cirróticos.^{10,13} A principal via metabólica lesiva ao fígado é a lipoperoxidação causada pelo acúmulo de gordura nos hepatócitos, com isso, radicais livres de oxigênio são formados, causando dano mitocondrial e inflamação, levando à regeneração e fibrose.^{11,13} No entanto, a relação entre EHNA e CHC vem chamando atenção mesmo na ausência de hepatopatia crônica e fibrose.¹² Tal associação envolve participação de citocinas como o $TNF\alpha$ (*Tumor necrosis fator alpha*), o $TGF\beta$ (*Transforming growth factor beta*) e a IL-6 (Interleucina 6), de oncogenes como o PNPLA3 (*Patatin-like Phospholipase domain-containing Protein 3*), de vias metabólicas como a da peroxidação de lipídeos, além de metabólitos da microbiota do trato digestivo.¹⁴

Durante o seguimento, aproximadamente, 1/3 dos pacientes com hepatopatia crônica desenvolverão CHC durante a vida,¹⁵ sendo o risco anual de 1 a 8%, dependendo da etiologia da doença de base.¹⁵ Estima-se

que, mundialmente, 54% dos casos de CHC estejam relacionados à infecção crônica pelo VHB, 31% relacionados ao VHC e 15% a outras causas.¹⁶ Na América do Sul, inquérito recente incluindo 1.336 pacientes provenientes de 14 centros mostrou que 68% dos pacientes diagnosticados com CHC eram do sexo masculino, com mediana de idade de 64 anos. Os fatores etiológicos mais comuns foram VHC (48%), cirrose alcoólica (22%), VHB (14%) e EHNA (9%).¹⁷

Em nosso meio, Paranaguá-Vezozzo *et al.*¹⁸ estudaram 884 pacientes cirróticos, seguidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), por, pelo menos, 5 anos. Durante o seguimento, 8,1% desenvolveram CHC com mediana de tempo de 21 meses. A incidência anual de CHC foi de 2,9%, sendo a incidência acumulada de 1,7% em 1 ano, 5,2% em 2 anos, 8,6% em 3 anos, 12,4% em 4 anos e 14,3% em 5 anos. Em uma coorte de pacientes com CHC (n=101) operados no Serviço de Cirurgia do Fígado e Hipertensão Portal do HC-FMUSP, a hepatopatia crônica pelo VHC foi a principal etiologia (33,7%), seguida pela cirrose alcoólica (12,9%), VHB (10,9%) e EHNA (7,9%). A sobrevida global (SG) em 5 anos nessa casuística foi de 49,9% e a sobrevida livre de doença (SLD) de 40,7%, não havendo diferença na sobrevida tardia quando estratificada pela etiologia da doença de base.¹⁹

Atualmente, o seguimento de pacientes com hepatopatia crônica envolve o rastreamento ativo para detecção do CHC, realizado por meio de ultrassonografia abdominal periódica a cada 6 meses, associada ou não à dosagem sérica da alfafetoproteína (AFP).²⁰ O emprego de protocolos rígidos de rastreamento tem sido associado à melhora da sobrevida de pacientes diagnosticados com CHC.^{21,22} Em nosso meio, aplicando protocolo estrito de acompanhamento, aproximadamente, 80% dos CHC puderam ser diagnosticados em estádios precoces (dentro dos critérios de Milão), dessa forma, com maiores possibilidades de tratamento potencialmente curativo.¹⁷

O padrão-ouro para o diagnóstico do CHC é a confirmação histopatológica. No entanto, com grande frequência, o seu uso é dispensado. Com o desenvolvimento dos exames de imagem axiais

contrastados de alta resolução (notadamente a tomografia computadorizada com multidetectores e a ressonância nuclear magnética) e, tomando como base o conhecimento do padrão de vascularização do CHC, o seu diagnóstico pode ser feito por meio de achados de imagem típicos em lesões maiores do que 1 cm. A avaliação histopatológica é reservada, principalmente, para lesões entre 1 e 2 cm com achados de imagem incomparáveis.²³

O CHC é uma neoplasia agressiva, que tem por característica acometer pacientes portadores de hepatopatia crônica e síndrome da hipertensão portal, condições que têm impacto fundamental na abordagem clínica e cirúrgica. Dessa forma, com o objetivo de determinar o melhor tratamento possível dessa patologia, é preciso levar em consideração, no estadiamento do CHC, não apenas características isoladas referentes ao tumor ou ao grau de disseminação linfonodal e a distância, mas também o grau de comprometimento da função hepática (e presença de hipertensão portal) e o *status* clínico do paciente. O sistema de estadiamento BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*) é o mais utilizado no Ocidente com esse propósito.²⁴ Apesar de suas limitações, o BCLC tem como principal mérito estadiar os pacientes portadores de CHC e servir como ferramenta prognóstica para auxiliar a definição do tipo de tratamento a ser oferecido, levando em consideração não apenas as características tumorais, mas também, o tamanho e número de lesões, assim como, a função hepática (avaliada por meio do Child-Pugh) e a *performance* clínica do paciente. Resumidamente, a classificação BCLC divide os pacientes com CHC em 5 grupos, denominados: 0, A, B, C e D. Os estádios 0 e A representam os tumores em estágio muito precoce e precoce, respectivamente, e tem melhor resposta a terapias com intenção curativa: ressecção cirúrgica, transplante hepático e terapias ablativas.²⁵ O estágio B (intermediário), em geral, é abordado por meio de tratamento paliativo, como a quimioembolização arterial. Já os pacientes com estágio C (avanzado) são, geralmente, conduzidos com terapia sistêmica, notadamente o Sorafenib, um inibidor de tirosino-quinase. O estágio D é caracterizado por pacientes

com tumores em estágio terminal, para os quais são oferecidas, geralmente, medidas exclusivas de suporte clínico.²⁵

O tratamento do CHC é complexo e, por esta razão, a abordagem multidisciplinar e individualizada dos pacientes é a que tem mostrado os melhores resultados em médio e longo prazo.²¹ Dentre as modalidades consideradas com potencial curativo, destacam-se a ressecção cirúrgica, o transplante hepático e as terapias ablativas locorregionais, como a ablação por radiofrequência e a alcoolização percutânea, as quais podem ser efetivas em nódulos pequenos (menores do que 2-3 cm).^{26,27}

A ressecção cirúrgica tem papel de destaque dentro do algoritmo de tratamento dos pacientes com CHC, sendo a modalidade de escolha em pacientes não cirróticos.²⁶ Nos pacientes com hepatopatia crônica, a ressecção hepática pode ser indicada para aqueles com doença oligonodular (≤ 3 nódulos), função hepática preservada (Child-Pugh A/B7) e ausência, ou sinais incipientes de hipertensão portal, desde que haja adequado remanescente hepático.²⁷ Estudos demonstram que a SG em 5 anos de pacientes com CHC submetidos à ressecção cirúrgica com intenção curativa gira em torno de 50 a 75% e a SLD varia de 30 a 55%.²⁸

Os fatores prognósticos clássicos relacionados ao prognóstico oncológico de pacientes submetidos à ressecção cirúrgica vêm sendo amplamente estudados na literatura, sendo os mais comuns: AFP elevada, o tamanho e número de nódulos, o grau de diferenciação celular, a existência de nódulos satélites, além da presença de invasão micro ou macrovascular.²⁹ No entanto, nos últimos anos, tem-se buscado novos marcadores que possam refinar o entendimento do comportamento biológico e a definição do prognóstico de pacientes com CHC, especialmente por meio de variáveis pré-operatórias, já que os principais fatores prognósticos conhecidos são acessíveis apenas após a análise anatomopatológica da peça cirúrgica. Com isto, espera-se que tais marcadores possam auxiliar tanto na escolha da melhor terapêutica (definindo qual paciente teria maior benefício da ressecção cirúrgica) quanto no manejo pós-operatório, inclusive

trazendo a discussão sobre novos protocolos de acompanhamento pós-operatório, além de possíveis tratamentos adjuvantes.³⁰

Recentemente, vem sendo ressaltada a importância da relação entre as diferentes células de defesa do corpo (resposta imune e inflamatória) e o equilíbrio entre o processo pró e antitumoral. De modo geral, demonstrou-se que existem, para diversos tipos de neoplasias sólidas, respostas inflamatórias sistêmicas que contribuem para o crescimento e a disseminação das células neoplásicas (ambiente de resposta humoral) e respostas imunes que se contrapõem a esse processo (ambiente de resposta celular), ambas com potencial impacto prognóstico.³¹

1.2 Relação entre resposta inflamatória e carcinogênese

Em meados do século XIX, mais precisamente em 1863, Rudolf Ludwig Karl Virchow, um dos precursores da Patologia moderna, formulou o que se tem como o primeiro relato da associação entre células inflamatórias e neoplasias, e ficou conhecida como “A hipótese de Virchow”.³² A partir do estudo microscópico de diversos tipos de neoplasias sólidas, Virchow constatou que, em neoplasias clinicamente agressivas e avançadas, havia a presença anormal de infiltrado celular inflamatório (notadamente neutrófilos e macrófagos), especialmente nas margens microscópicas dos tumores, tornando possível inferir uma associação entre a presença de células inflamatórias e a agressividade tumoral.

Durante boa parte do século XX e início deste, esta hipótese foi de certa forma relegada, porém, com o avanço dos estudos em biologia molecular e técnicas de sequenciamento e avaliação genéticas, um novo olhar vem sendo direcionado ao estudo do microambiente tumoral, sua composição e participação no processo de iniciação, promoção e disseminação tumorais. Nos últimos anos, a relação entre a resposta inflamatória e carcinogênese tem sido estudada em diversos tipos de neoplasias sólidas, e em seus diversos níveis, na tentativa de encontrar

novos parâmetros prognósticos que possam auxiliar na decisão terapêutica e seguimento destes pacientes.³³

Sabe-se que a resposta humoral (dependente de neutrófilos, plaquetas e monócitos/macrófagos) tem papel potencializador da carcinogênese, exercendo ação pró-tumoral.³³ Estudos recentes demonstraram que o ambiente molecular criado pela resposta humoral (por meio da produção de enzimas como as metaloproteinases, fatores de crescimento vascular e citocinas) favorece a degradação da matriz conjuntiva dos órgãos sólidos, a ativação da neoangiogênese, além do recrutamento e ativação de perfis celulares que favorecem a invasão de tecidos e órgãos, aumentando o poder metastático das neoplasias sólidas. Dessa forma, entende-se que situações de maior ativação inflamatória humoral podem levar a piores resultados oncológicos.³¹

Em contraponto à resposta inflamatória humoral, encontra-se a resposta celular linfocítica, mediada pelos linfócitos T CD4+, CD8+ e *Natural Killer* (NK), a qual se mostrou inibitória da carcinogênese.³³ Citocinas produzidas pela resposta celular mediarão a apoptose e morte celular direta de células tumorais. Desta forma, a resposta celular, quando dominante, poderia implicar em melhor prognóstico relacionado ao tratamento de neoplasias sólidas.³⁴

1.3 O microambiente tumoral: um novo horizonte

O estroma e o parênquima hepático mantêm a homeostase do órgão agindo como barreira contra o crescimento tumoral. Porém, durante a carcinogênese, ocorre a transformação da matriz extracelular de modo a dar suporte ao desenvolvimento do câncer.^{35,36} Essa matriz extracelular modificada é chamada de microambiente tumoral (MAT),^{37,38} sendo sua arquitetura típica constituída de fibroblastos, miofibroblastos, células endoteliais, células inflamatórias, além de elementos da matriz extracelular, todos eles sob forte influência do processo carcinogênico. Adicionalmente às

estruturas celulares, outros componentes importantes do MAT são as citocinas, quimiocinas e enzimas secretadas tanto por células normais quanto por células neoplásicas. Dentro do MAT, a intercomunicação desses componentes direciona ao crescimento e à progressão tumorais, além de facilitar a invasão vascular, um aspecto marcante do CHC.³⁹

Os fibroblastos são células alongadas que compõem a matriz de tecido conjuntivo, estando envolvidas ativamente no processo de deposição da matriz extracelular, maturação dos tecidos e resposta inflamatória. Existe um corpo cada vez maior de evidências sobre a participação ativa de fibroblastos associados aos tumores (*Cancer-Associated Fibroblasts* [CAFs]), modificados pelo MAT, na modulação e progressão do câncer. Isso é verdade, especialmente em tumores como o CHC que se originam, na sua grande maioria, em um contexto de cirrose com grande deposição de fibroblastos e miofibroblastos.⁴⁰ Os CAFs secretam metaloproteinases, como as *Matrix Metalloproteinase* 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9), que conferem capacidade de remodelação e invasão de tecidos pelo tumor. Além disso, os CAFs secretam citocinas que recrutam ao MAT outras células como macrófagos e monócitos, além de produzirem fatores que estimulam a neoangiogênese. Estudos de biologia molecular mostram associação entre tamanho do CHC e quantidade peritumoral de CAFs.⁴¹

Dentro do MAT, pode-se identificar as bases da relação entre inflamação e câncer. Por meio da liberação de citocinas, células inflamatórias e da resposta imune, tais como neutrófilos, macrófagos, monócitos, eosinófilos, linfócitos e mastócitos, são recrutadas. No entanto, as células inflamatórias presentes no MAT são diferentes das células inflamatórias habituais tendo a capacidade de ativar, por meio da secreção de citocinas e enzimas, as vias para iniciação, promoção e desenvolvimento tumoral, bem como, potencializar sua capacidade de metastatização. Dentre as células recrutadas ao MAT, uma das que exercem o papel principal no desenvolvimento da neoplasia são os macrófagos associados ao tumor (*Tumor-Associated Macrophages* [TAMs]).⁴² Uma vez recrutados ao

microambiente tumoral, os macrófagos passam a exibir fenótipos distintos (M1 e M2).

Os TAMs do tipo M1, ativados a partir de produtos dos linfócitos Th1, como o Interferon γ , são células com atividade citotóxica, mediada pela ação de radicais livres do oxigênio. Já os TAMs do tipo M2 são ativados por meio de produtos dos linfócitos Th2, tais como IL-1, IL-6, TGF β e TNF α (Figura 1).⁴³ Ao que tudo indica, nas fases iniciais da progressão tumoral, a resposta de macrófagos M1 funciona como resposta imune citotóxica, eliminando células tumorais. Com a constituição do MAT, há desvio para as células M2, imunossupressoras, as quais promovem a proliferação, angiogênese e remodelagem da matriz extracelular, favorecendo a adaptação das células tumorais.⁴³

Fonte: Reproduzido com permissão de Birgani MT, Carloni V. Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular carcinoma progression and therapy. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):405.

Figura 1 - Os macrófagos associados ao tumor assumem dois fenótipos (M1 e M2) no microambiente tumoral. O predomínio do subtipo M2, mediado pela resposta humoral, favorece a carcinogênese e disseminação tumoral.

A neoangiogênese é um processo fundamental na patogênese do CHC. É por meio desse fenômeno que as células neoplásicas modificam o ambiente para conseguir sangue rico em oxigênio e nutrientes.⁴⁴ Nesse contexto, é preciso entender o papel do MAT na diferenciação das células endoteliais associadas ao tumor (*tumor endothelial cells* [TECs]), nas quais há uma mudança fenotípica. Essas células passam a assumir conformação estrutural diferente, com junções celulares frágeis, amplos espaços intercelulares e expressão genética modificada.⁴⁵ Todas essas alterações favorecem um maior aproveitamento e fluxo de sangue ao tumor e também maior capacidade de extravasamento de células através da parede do endotélio, o que potencializa a capacidade de invasão, proliferação e disseminação tumoral.

1.4 A relação entre as células inflamatórias e câncer

Os leucócitos são as principais células de defesa circulantes no sangue. Os tipos celulares genericamente denominados como leucócitos envolvem os polimorfonucleares (neutrófilos), que são o principal componente dos leucócitos circulantes, além dos monócitos, basófilos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos. Os neutrófilos polimorfonucleares representam 50 a 70% dos leucócitos e são os protagonistas da resposta inflamatória aguda.⁴⁶ São produzidos na medula óssea e programados para sobreviver na corrente sanguínea por, aproximadamente, 8 a 10 horas.⁴⁷ Uma vez na circulação, essas células exercem função de “patrulha”, desencadeando respostas agressivas a ameaças infecciosas ou não. Tais respostas são constituídas de rápida migração aos tecidos sob ameaça, seguida de fagocitose e liberação de substâncias lesivas, como radicais livres de oxigênio e enzimas, como proteases e elastases.⁴⁸

O câncer é uma doença crônica que se caracteriza pela interação entre células tumorais e o seu microambiente.⁴⁹ Dentre as células inflamatórias, os neutrófilos são particularmente importantes na etapa de iniciação tumoral.

Os receptores de CXCR2 (*C-X-C Motif Chemokine Receptor 2*), principal receptor dos neutrófilos, são abundantes nos estágios iniciais de tumores em humanos e estudos experimentais vêm evidenciando que a deficiência de CXCR2 ou a depleção neutrofílica potencialmente inibem a formação de tumores.^{50,51}

Muitos pacientes com tumores avançados mostram diversos níveis de neutrofilia.⁵² Tal estímulo deve-se à produção pelo MAT de diversos fatores estimulantes de colônias, destacando-se o GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage-Colonies Stimulating Factor*).⁵² Os neutrófilos circulantes e também os presentes em tecidos hematopoiéticos (baço, fígado e linfonodos) são atraídos ao MAT e, sob influência especialmente dos macrófagos, passam a ter seu fenótipo modificado, tornando-se neutrófilos associados ao tumor (*Tumor-Associated Neutrophils* [TANs]),⁵³ os quais podem ser identificados no centro e/ou na periferia das neoplasias. Em analogia aos TAMs, dos quais recebem o seu maior estímulo, os TANs são também classificados em N1 e N2. Sabe-se que, no início da resposta inflamatória antitumoral, existe predominância dos TANs do tipo N1, neutrófilos com atividade antitumoral citotóxica.⁵⁴ Com a progressão do tumor, organização do MAT e sob a ação de citocinas, como IL-6, IL-17 e TGF β produzidas por macrófagos M2, há estímulo à troca do perfil neutrofílico N1 citotóxico para o N2 pró-tumoral.⁵⁵ A literatura tem mostrado que existe um estado de equilíbrio entre a resposta inflamatória e oncogênese, com o direcionamento à resposta mediada por macrófagos e neutrófilos levando ao favorecimento das vias de crescimento e disseminação tumorais. Já o direcionamento à resposta mediada por linfócitos citotóxicos desvia o estado de equilíbrio na direção do combate às células neoplásicas.⁵⁶

Os linfócitos representam cerca de 10% das células de defesa, e são produzidos na medula óssea e divididos em linfócitos B e T.⁵⁷ Os linfócitos T são os responsáveis pela resposta antitumoral, reconhecendo as células neoplásicas em função das diferenças no seu padrão de expressão de antígenos em comparação às células nativas. No MAT, dois grupos de

linfócitos T circulantes são importantes para a coordenação da resposta imune: os linfócitos T CD8+ citotóxicos que atuam como efetores diretos da resposta imune e os linfócitos TCD4+, divididos em duas populações chamadas *T helper 1* (Th1), os quais ativam os linfócitos TCD8+; e os Th2, que atuam como linfócitos reguladores (Treg).⁵⁸

Para o correto funcionamento da resposta imune antitumoral, uma série de passos coordenados e harmonizados precisam ser iniciados, criando um ciclo que se caracteriza pela autopromoção e autoamplificação, chamado de ciclo câncer-imunidade.⁵⁹

Os linfócitos T efetores da resposta antitumoral são representados pela população de linfócitos TCD8+.⁶⁰ Estas células desempenham papel de imunovigilância e extermínio de células tumorais por meio de algumas moléculas-efetoras-chave, especialmente o interferon γ e as perforinas.⁶¹ Evidências atuais demonstram que linfócitos, tanto da resposta imune adaptativa quanto da resposta imune inata, participam no combate ao desenvolvimento tumoral.

As plaquetas são células do sangue periférico, produzidas a partir de megacariócitos da medula óssea, que, há até pouco tempo, eram relacionadas apenas à participação nas funções de hemostasia e coagulação. Estudos recentes, no entanto, têm mostrado que existe uma grande e complexa interação entre as plaquetas e as diversas células do MAT.^{62,63} Os principais mecanismos de interação envolvem o recrutamento de plaquetas ativadas, produção de moléculas e vias sinalizadoras que orquestram o crescimento tumoral, além da participação direta na angiogênese e disseminação metastática das neoplasias.^{64,65}

As plaquetas participam ativamente do processo de neoangiogênese tumoral desde as etapas iniciais, até os estágios mais avançados.⁶⁶ Vias de sinalização no MAT levam à ativação das plaquetas circulantes, por meio do Tromboxane A2 (TxA2), Glicoproteína IIb/IIIa (Gp IIb/IIIa) e Adenosina difosfato (ADP). As plaquetas circulantes ativadas passam a se ligar às células tumorais, e têm as suas vias metabólicas desviadas para a síntese de fatores estimulantes de crescimento vascular, como VEGF (*Vascular*

Endothelial Growing Factor) e o PDGF (*Platelet-Derivated Growing Factor*).⁶⁶ Tanto os fatores de crescimento vasculares quanto outras vias de sinalização controlam os diversos tipos de diferenciação celular encontrados no processo de angiogênese, desde a formação de células endoteliais mais espaçadas, até a musculatura lisa especial que dá sustentação ao tecido vascular.⁶⁷

As plaquetas ativadas também participam do processo de metastatização por meio de vias de sinalização específicas.⁶⁸ Substâncias derivadas das plaquetas ativam o fenômeno inicial no desenvolvimento de metástases: a transição epitélio-mesenquimal (TEM),⁶⁹ por meio do qual as células neoplásicas se tornam menos aderentes, perdem polaridade e se tornam fenotipicamente mesenquimais. Na circulação, as células neoplásicas estão sujeitas à ação de células do sistema imune (especialmente as células NK). Nesse sentido, as plaquetas assumem importância por agirem como proteção mecânica, assim como, inibidoras da função das células imunes pela síntese de TGF- β .^{70,71} O processo de implantação e colonização no novo sítio metastático envolve também vias de sinalização plaquetárias, notadamente as vias dependentes de receptores de ADP.⁷²

Baseado no exposto acima, atualmente, o entendimento da estreita relação entre imunidade, inflamação e câncer vem se solidificando.⁷³ A possibilidade de acesso a esta interação, com a mensuração de níveis séricos absolutos de neutrófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas dentre outros, tem levantado questionamentos pertinentes frente à capacidade destes índices (ou de relações matemáticas derivadas destes) de predizer desfechos clínicos, incluindo a sobrevida e recidiva em pacientes portadores de neoplasias gastrointestinais.^{74,75}

1.5 Relação dos marcadores inflamatórios e neoplasias gastrointestinais

Os efeitos da resposta inflamatória e imune vêm sendo estudados em diversos tipos de neoplasias sólidas, como câncer de mama, pâncreas, colorretal e gástrico.⁷⁶⁻⁷⁹ Tentativas de correlacionar as respostas inflamatórias pró e antitumoral com desfechos clínicos têm tido resultados promissores em diversas neoplasias gastrointestinais.⁷⁵ Os marcadores mais comumente utilizados na prática clínica são a relação neutrófilo-linfócito (RNL), a relação plaqueta-linfócito (RPL) e a relação monócito-linfócito (RML).

Dentre estes, o índice mais estudado na literatura é a RNL,⁸⁰ calculada a partir da divisão entre a contagem absoluta de neutrófilos e linfócitos do sangue periférico. O impacto prognóstico da RNL foi estudado em diversos tipos de neoplasias.^{81,82} Uma grande metanálise, que avaliou cerca de 40.000 pacientes, mostrou associação da RNL elevada com pior sobrevida em pacientes com diversos tipos de neoplasias sólidas.⁸¹

Ainda na década de 90, Hirashima *et al.*⁸² estudaram a associação da RNL com o fenótipo de tumores gástricos precoces. Recentemente, em estudo desenvolvido em nossa instituição, Szor *et al.*⁸³ mostraram que a RNL tem impacto na sobrevida (*Hazard Ratio* [HR]=1,50; IC95% 1,27-4,21; p=0,048) e pode refinar o estadiamento TNM de pacientes com adenocarcinoma gástrico submetidos à gastrectomia com intenção curativa.

Malietzis *et al.*⁸⁴ mostraram em revisão sistemática que a RNL elevada tem impacto negativo na SG e SLD de pacientes com câncer colorretal submetidos a tratamento cirúrgico. Yshibashi *et al.*⁸⁵ avaliaram o impacto dos marcadores inflamatórios pré-operatórios em pacientes submetidos à esofagectomia com intenção curativa por câncer, e mostraram boa correlação da RNL com a SG.

1.6 Marcadores inflamatórios e CHC

O impacto dos marcadores inflamatórios no prognóstico de pacientes submetidos à ressecção de CHC é menos conhecido. A maior morbimortalidade relacionada às hepatectomias em pacientes hepatopatas crônicos e a alta taxa de recidiva em 5 anos (variando de 50 a 80%) reafirmam a necessidade da busca por novos meios pré-operatórios capazes de estimar o resultado tardio nestes pacientes.⁸⁶

Os fatores clássicos relacionados ao prognóstico oncológico de pacientes submetidos à ressecção cirúrgica do CHC foram extensamente estudados na literatura, sendo os mais comuns: a AFP, o tamanho e número de nódulos, o grau de diferenciação celular, a existência de nódulos satélites, além da presença de invasão micro e macrovascular.^{87,88} Apesar de bem estabelecidos, os principais fatores prognósticos são acessíveis apenas após a análise anatomopatológica da peça cirúrgica. Por esta razão, nos últimos anos, tem-se buscado novos marcadores que possam refinar e ampliar o entendimento do comportamento biológico e prognóstico dos pacientes com CHC, especialmente por meio de variáveis pré-operatórias. Nesse contexto, o estudo do impacto prognóstico dos marcadores inflamatórios nos pacientes portadores de CHC vem ganhando destaque.^{89,90}

Dentre os marcadores inflamatórios, o mais estudado no contexto do CHC é a RNL. Apesar de alguns autores mostrarem o impacto desta variável no prognóstico de pacientes submetidos a tratamento cirúrgico radical,⁹¹ os resultados ainda são controversos, baseados, principalmente, em casuísticas orientais, com características epidemiológicas próprias, como a elevada incidência de CHC em fígados não cirróticos, decorrente da infecção crônica pelo VHB.⁹² Xingshun *et al.*⁹², em metanálise recente, mostraram que a RNL pré-operatória elevada tem a capacidade de prever pior SG (HR=1,95; IC95% 1,61-2,37; p<0,001) e SLD (HR=1,87; IC95% 1,47-2,37; p<0,001) após o tratamento cirúrgico do CHC.

Alguns estudos recentes sugerem, ainda, correlação entre valores da relação RNL pré-operatória com o prognóstico de subgrupos de pacientes com CHC submetidos a tratamento cirúrgico, quando estratificados pela doença hepática de base, tamanho tumoral e estadiamento clínico.⁹³⁻⁹⁵ Huang *et al.*⁹³ estudaram 891 pacientes com estadiamento BCLC 0/A submetidos à hepatectomia, evidenciando relação inversa entre valores elevados da RNL pré-operatórios (nível de corte de 1,8) e a SG. Wong *et al.*⁹⁴ estudaram 789 pacientes e evidenciaram relação entre RNL elevada e BCLC avançado (OR=4,14). Goh *et al.*⁹⁵ mostraram que a RNL > 4,0 foi preditora de mortalidade em pacientes com CHC acima de 10 cm operados (HR=1,92; IC95% 1,22-3,02; p=0,005).

Por outro lado, o papel de outros marcadores inflamatórios foi pouco estudado até o presente momento. Em estudo recente, Kabir *et al.*⁹⁶ mostraram capacidade preditiva da RPL no prognóstico de pacientes operados por CHC, uma relação > 176 foi associada a pior SG (HR=2,55; IC95% 1,12-5,40; p=0,020) e a relação > 133 a pior SLD (HR=1,92; IC95% 1,16-3,17; p=0,011). O impacto prognóstico da RML foi estudado em outras neoplasias sólidas e gastrointestinais^{97,98} e dois estudos recentes provenientes de centros orientais avaliaram o papel deste marcador no contexto do CHC.^{99,100} Ambos mostraram associação inversamente proporcional entre RML elevada e a SG e SLD de pacientes submetidos à resseção hepática.

1.7 Justificativa

Com o desenvolvimento cirúrgico e do cuidado perioperatório, as ressecções hepáticas apresentam, atualmente, morbidade e mortalidade bastante satisfatórias, mesmo em pacientes portadores de hepatopatia crônica. Apesar de ser um tratamento potencialmente curativo, com taxas de SG em 5 anos bastante aceitáveis, a recorrência ainda é elevada, podendo chegar a 80% em algumas casuísticas.

Os recentes avanços no entendimento da biologia molecular do câncer vêm possibilitando o entendimento do MAT, além do papel do sistema imune e da resposta inflamatória no prognóstico de diversas neoplasias sólidas, dentre elas, o CHC. Nesse contexto, estudos orientais vêm mostrando o papel dos marcadores inflamatórios pré-operatórios como preditores de sobrevida e recidiva em pacientes operados por CHC. No entanto, existem poucos estudos em centros ocidentais validando esses achados.

Dentre os marcadores, o mais estudado é a RNL, existindo poucos trabalhos endereçados a avaliar o papel de outros marcadores inflamatórios. Da mesma forma, um número pequeno de estudos avaliou o papel destes marcadores em subgrupos específicos de pacientes, como aqueles representados pelos diferentes tamanhos das lesões hepáticas, fator prognóstico conhecido em pacientes portadores de CHC.

Mesmo com a quantidade crescente de trabalhos relacionando os marcadores inflamatórios com o prognóstico oncológico de pacientes com CHC, algumas lacunas ainda não foram preenchidas. Dentre elas, podemos citar: o real benefício desses marcadores na população de pacientes ocidentais, com epidemiologia bastante diferente da oriental; qual o melhor ponto de corte (*"cut-off"*) para essas variáveis inflamatórias com relação à SG e SLD em nosso meio; e o impacto destas em subgrupos específicos de pacientes com CHC.

Por estas razões, diante de um tema extremamente atual, que tem mostrado resultados promissores, justifica-se a realização de estudo clínico em um centro terciário ocidental de alto volume que avalie o impacto prognóstico dos marcadores inflamatórios nos pacientes portadores de CHC submetidos à ressecção hepática com intenção curativa.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O objetivo primário do presente estudo é avaliar o impacto prognóstico de marcadores inflamatórios pré-operatórios (RNL, RPL e RML) na SG e SLD de pacientes portadores de CHC submetidos à ressecção hepática com intenção curativa.

O objetivo secundário é estudar o impacto destes marcadores inflamatórios em subgrupos específicos de pacientes com CHC, divididos quanto ao seu tamanho em tumores < 5 cm, entre 5 e 10 cm e > 10 cm.

3 MÉTODOS

O protocolo de pesquisa do presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP) (Anexo A). Para a organização e condução do presente protocolo clínico, foram utilizadas as recomendações STARD (*Standards for Reporting Studies of Diagnostic Accuracy*).¹⁰¹

Foram estudados, a partir de um banco de dados eletrônico prospectivo (*Research Electronic Data Capture [REDCap]*)¹⁰² mantido pelo Serviço de Cirurgia do Fígado e Hipertensão Portal do HC-FMUSP, pacientes consecutivos com diagnóstico anatomopatológico de CHC, submetidos à ressecção hepática com intenção curativa, no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2018.

Os critérios de inclusão no estudo foram: pacientes maiores de 18 anos; doença uni ou oligonodular (até 3 nódulos) e ausência de doença metastática extra-hepática. Foram considerados elegíveis pacientes com CHC em fígado não cirrótico e pacientes com CHC portadores de hepatopatia crônica com função hepática compensada: Child-Pugh A (ou B7 em casos em que foi necessária ressecção menor periférica) e *Model for End-Stage Liver Disease* (MELD) ≤ 10 , sem hipertensão portal clinicamente significativa (ou com varizes de fino calibre e plaquetas $> 100.000/\text{mm}^3$), e remanescente de, pelo menos, 40% do volume hepático total.¹⁰³

Os critérios de exclusão foram: pacientes submetidos a tratamentos sistêmicos ou locoregionais pré-operatórios, pacientes em vigência de infecção, uso de antibióticos, corticoides ou imunomoduladores no pré-operatório, ressecção não radical (R1/R2) e pacientes com dados incompletos.

A avaliação pré-operatória foi realizada de modo padronizado, incluindo avaliação clínica, exames laboratoriais e exames de imagem axiais contrastados. Todos os pacientes foram submetidos à tomografia computadorizada e/ou de ressonância magnética de abdômen; e o diagnóstico foi feito baseado em critérios radiológicos bem estabelecidos.¹⁰⁴ O estadiamento de todos os pacientes foi complementado com tomografia de tórax com cortes finos. A biópsia pré-operatória não foi utilizada rotineiramente, sendo indicada apenas quando persistiu dúvida diagnóstica após esgotados todos os métodos não invasivos. A avaliação dos exames pré-operatórios e indicação do procedimento cirúrgico foram realizadas após discussão em reunião multidisciplinar semanal do Serviço de Cirurgia do Fígado e Hipertensão Portal do HC-FMUSP.

As variáveis clínico-laboratoriais estudadas foram: idade, gênero, índice de massa corpórea (IMC), etiologia da hepatopatia de base, presença de cirrose, ascite e hipertensão portal, além da frequência de pacientes com varizes de esôfago. A avaliação da presença de hipertensão portal foi feita por meio da observação de sinais compatíveis nos exames de imagem axiais e endoscopia digestiva alta. Para todos os portadores de hepatopatia, foram calculados o Child-Pugh e MELD pré-operatórios. Os exames laboratoriais estudados foram: hemoglobina (g/dL); neutrófilos (número absoluto por mm³); linfócitos (número absoluto por mm³); monócitos (número absoluto por mm³); plaquetas (número absoluto determinado por mm³); albumina (mg/dL); bilirrubinas (mg/dL); aspartato aminotransferase (AST, U/L); alanina aminotransferase (ALT, U/L); creatinina (mg/dL); tempo de protrombina (expresso pelo *International Normalized Ratio* [INR]) e AFP (ng/ml).

Com relação ao intra e pós-operatório, as informações de interesse foram: perda sanguínea estimada, necessidade de transfusão de hemoderivados, tempo de permanência em unidade de terapia intensiva (UTI), tempo de internação hospitalar e complicações perioperatórias.

Das peças cirúrgicas, foram estudados: número de nódulos, tamanho do maior nódulo (aferido em milímetros [mm]), grau de diferenciação histológica do tumor, presença de nódulos satélites e presença de invasão vascular.

3.1 Relação neutrófilo-linfócito (RNL)

O cálculo da RNL foi realizado pela divisão do valor absoluto de neutrófilos pelo valor absoluto de linfócitos obtidos no mesmo hemograma. O hemograma considerado foi coletado até 7 dias antes da cirurgia. As análises laboratoriais foram realizadas no Instituto Central do HC-FMUSP, com o analisador hematológico XT-2000i e XE-2100D da companhia Sysmex.

Com o objetivo de dividir a população em dois grupos de risco de acordo com a RNL, foi calculado um valor de corte por meio da análise da curva ROC (*Receiving Operator Curve*). Os grupos foram divididos da seguinte forma:

1. Grupo RNL elevada: pacientes com valor maior que o de corte;
2. Grupo RNL baixa: pacientes com valor menor ou igual ao de corte.

3.2 Relação monócito-linfócito (RML)

O cálculo da RML foi realizado pela divisão do valor absoluto de monócitos pelo valor absoluto de linfócitos obtidos no mesmo hemograma. O hemograma considerado foi coletado até 7 dias antes da cirurgia. As análises laboratoriais foram realizadas no Instituto Central do HC-FMUSP, com o analisador hematológico XT-2000i e XE-2100D da companhia Sysmex.

A população em estudo foi dividida em dois grupos de acordo com o ponto de corte calculado por meio da curva ROC:

1. Grupo RML elevada: pacientes com valor maior que o de corte;
2. Grupo RML baixa: pacientes com valor menor ou igual ao de corte.

3.3 Relação plaqueta-linfócito (RPL)

O cálculo da RPL foi realizado pela divisão do valor absoluto de plaquetas pelo valor absoluto de linfócitos obtidos no mesmo hemograma. O hemograma considerado foi coletado até 7 dias antes da cirurgia. As análises laboratoriais foram realizadas no Instituto Central do HC-FMUSP, com o analisador hematológico XT-2000i e XE-2100D da companhia Sysmex.

A população estudada foi dividida em dois grupos de risco de acordo com o ponto de corte da RPL, calculado por meio da análise da curva ROC:

1. Grupo RPL elevada: pacientes com valor maior que o de corte;
2. Grupo RPL baixa: pacientes com valor menor ou igual ao de corte.

3.4 Seguimento

O seguimento ambulatorial foi realizado de forma trimestral no primeiro ano e semestral nos anos seguintes à cirurgia. Considerou-se perda de seguimento a ausência em consulta por mais de 12 meses consecutivos. Os dados coletados durante o seguimento dos pacientes foram: ocorrência de recidiva (confirmada por exame de imagem e/ou anatomopatológico), data da recidiva, ocorrência de óbito, data do óbito, e data da última consulta.

3.5 Análise estatística

A análise descritiva dos dados foi realizada por meio da média, desvio padrão, mediana e quartis para as variáveis contínuas e cálculo de proporções para as variáveis categóricas. Para a comparação das variáveis quantitativas, o teste de Kolmogorov-Smirnoff com correção Lilliefors foi utilizado para avaliar a normalidade de sua distribuição. Foi utilizado o Teste *t* quando a distribuição seguiu a normalidade e o Teste não paramétrico de Mann-Whitney quando este pressuposto não foi seguido. Para as variáveis categóricas, foi utilizado o teste Exato de Fisher ou o teste Qui-Quadrado.

A determinação do melhor ponto de corte dos valores da RNL, RPL e RML foi realizado por meio da construção de curvas ROC, utilizando o índice de Youden para cada desfecho. A acurácia diagnóstica de cada ponto de corte foi avaliada a partir da quantificação da área sobre a curva (AUC, do Inglês, “*area under the curve*”) ROC, sendo calculadas a sensibilidade, especificidade, além das razões de verossimilhança positiva e negativa.

A SG foi definida como o intervalo de tempo entre a ressecção hepática e a data do óbito ou da última consulta, e a SLD como o intervalo de tempo entre ressecção hepática e o diagnóstico da recidiva tumoral ou última consulta do paciente. As curvas de sobrevida foram calculadas pelo método de Kaplan-Meier e comparadas por meio de teste de *log-rank* (Mantel-Cox). O nível de significância utilizado foi de 5%.

Foram realizadas análises uni e multivariada para identificação dos fatores relacionados com a sobrevida dos pacientes. A regressão de Cox, com método *stepwise* (condicional *backward*) de seleção de variáveis foi utilizada para a identificação de fatores preditivos independentes associados com a SG e a SLD, e sumarizada pelo *Hazard ratio* (HR) e intervalo de confiança de 95% (IC95%).

Todos os testes levaram em consideração um α bidirecional de 0,05, sendo realizados com apoio computacional dos *softwares* R (*R Core Team*, Viena, Áustria) e IBM SPSS 26 (*Statistical Package for the Social Sciences*).

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Durante o período de estudo, 207 pacientes foram submetidos à ressecção hepática com intenção curativa por CHC no Serviço de Cirurgia do Fígado e Hipertensão Portal do HC-FMUSP. Destes, após a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, 161 pacientes foram considerados elegíveis e incluídos para as análises subsequentes (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma de seleção dos pacientes operados por carcinoma hepatocelular incluídos no estudo

CHC: carcinoma hepatocelular, RFA: radiofrequência, MELD: *Model for End-Stage Liver Disease*.

A mediana de idade foi de 62 anos (18 a 86 anos), com predomínio do sexo masculino (67,1%). Do total, 135 pacientes (83,9%) apresentavam hepatopatia crônica previamente à cirurgia, sendo 111 (83,3%) classificados como Child-Pugh A5. A mediana do MELD dos pacientes operados foi de 8 (Tabela 1). Sinais de hipertensão portal nos exames de imagem ou endoscopia digestiva alta estiveram presentes 26,7% dos casos. Do total de pacientes incluídos, 135 (83,9%) apresentavam um nódulo, 19 (11,8%) dois nódulos e 7 (4,3%) três nódulos, sendo o tamanho médio do maior nódulo $62,0 \pm 50,7$ mm. A RNL média foi de $2,3 \pm 2,2$; a RPL média de $115,4 \pm 89,4$; e a RML média de $3,8 \pm 2,0$ (Tabela 1). A presença de nódulos satélites foi evidenciada em 24,8% dos pacientes, enquanto invasão vascular foi

identificada em 50,9%. As principais causas de hepatopatia crônica foram VHC (60%), VHB (20%), EHNA (11%), hepatopatia alcoólica (5%) e outras hepatopatias (4%) (Figura 3).

Tabela 1 - Variáveis clinicopatológicas dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).

Idade (anos)	
média ± dp	62 ± 11
mediana (mín-máx)	63 (18-86)
Gênero (%)	
Masculino	108 (67,1%)
Feminino	53 (32,9%)
IMC (kg/m²)	
média ± dp	25,4 ± 4,5
mediana (quartil 25-75)	24,9 (22,6-27,7)
Hepatopatia crônica (%)	
Sim	135 (83,9%)
Não	26 (16,1%)
Child-Pugh (%*)	
A5	111 (83,3%)
A6	17 (12,6%)
B7	7 (5,2%)
MELD pré-operatório	
média ± dp	8 ± 3
mediana (quartil 25-75)	8 (7-9)
Hipertensão portal (%)	
Sim	43 (26,7%)
Não	92 (73,3%)
Varizes de esôfago (%)	
Sim	22 (13,7%)
Não	21 (86,3%)
Hemoglobina (g/dL)	
média ± dp	13,7 ± 3,8
mediana (quartil 25-75)	13,7 (12,6-14,9)

continua

continuação

Tabela 1 - Variáveis clinicopatológicas dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).

Plaquetas (/mm³)	
média ± dp	186.410 ± 97.208
mediana (quartil 25-75)	170.000 (118.000-230.000)
Bilirrubina total (g/dL)	
média ± dp	0,72 ± 0,22
mediana (quartil 25-75)	0,65 (0,47-0,89)
Aspartato aminotransferase (AST, U/L)	
média ± dp	62,0 ± 61,0
mediana (quartil 25-75)	42,0 (28,0-68,0)
Alanina aminotransferase (ALT, U/L)	
média ± dp	54,7 ± 51,0
mediana (quartil 25-75)	38,0 (25,69,0)
Tempo de protrombina (INR)	
média ± dp	1,1 ± 0,1
mediana (quartil 25-75)	1,1 (1,0-1,2)
Creatinina (mg/dL)	
média ± dp	1,0 ± 1,0
mediana (quartil 25-75)	0,9 (0,7-1,1)
Alfafetoproteína (ng/mL)	
média ± dp	2.483,1 ± 9.906,5
mediana (quartil 25-75)	19,0 (4,7-172,7)
Albumina (g/dL)	
média ± dp	4,0 ± 0,3
mediana (quartil 25-75)	4,1 (3,7-4,5)
Neutrófilos pré-operatórios (/mm³)	
média ± dp	3.601 ± 3.465
mediana (quartil 25-75)	3.300 (2.300-4.410)
Linfócitos pré-operatórios (/mm³)	
média ± dp	1.869 ± 773
mediana (quartil 25-75)	1.700 (1.300-2.300)
Monócitos pré-operatórios (/mm³)	
média ± dp	575 ± 308
mediana (quartil 25-75)	510 (400-700)

continua

conclusão

Tabela 1 - Variáveis clinicopatológicas dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).

RNL pré-operatória	
média ± dp	2,3 ± 2,2
mediana (quartil 25-75)	1,9 (1,4-2,6)
RPL pré-operatória	
média ± dp	115,4 ± 89,4
mediana (quartil 25-75)	96,2 (67,0-144,4)
RML pré-operatória	
média ± dp	3,8 ± 2,0
mediana (quartil 25-75)	3,5 (2,4-4,6)
Tamanho do maior nódulo (mm)	
média ± dp	62,0 ± 50,7
mediana (quartil 25-75)	42 (29,0-80,0)
Grau de diferenciação tumoral (%)	
bem diferenciado	9 (5,6%)
moderadamente diferenciado	104 (64,6%)
pouco diferenciado	28 (17,4%)
Indisponível	20 (12,4%)
Nódulos satélites (%)	
Sim	40 (24,8%)
Não	121 (75,2%)
Invasão vascular (%)	
Sim	82 (50,9%)
Não	75 (43,8%)
Indisponível	4 (2,5%)

IMC: índice de massa corpórea, MELD: *Model for End Stage Liver Disease*, INR: *international normalized ratio*, RNL: relação neutrófilo-linfócito, RPL: relação plaqueta-linfócito, RML: relação monócito-linfócito.

*do total de pacientes portadores de hepatopatia crônica

Figura 3 - Etiologia da doença hepática nos pacientes incluídos no estudo
VHC: vírus da hepatite C, VHB: vírus da hepatite B, EHNA: esteato-hepatite não alcoólica.

Considerando todos os pacientes incluídos na coorte, a SG dos pacientes operados foi de 65,2% em 3 anos, 47,6% em 5 anos e 28,4% em 10 anos, enquanto a SLD foi de 61,1% em 3 anos, 44,4% em 5 anos e 20,1% em 10 anos (Figura 4).

Figura 4 - Sobrevida global e livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa (n=161).

4.1 Determinação do ponto de corte dos marcadores inflamatórios para os desfechos óbito e recidiva

O melhor ponto de corte das variáveis estudadas para o desfecho óbito foi obtido por meio da análise de curvas ROC, utilizando do índice de Youden. As áreas sob as curvas ROC para as variáveis RNL, RPL e RML foram de 0,541 (IC95% 0,451-0,631); 0,479 (IC95% 0,388-0,571); e 0,454 (IC95% 0,365-0,543), respectivamente. Os pontos de corte das variáveis estudadas e as curvas ROC para o desfecho óbito são mostrados na Tabela 2 e Figura 5.

Tabela 2 - Valor diagnóstico das variáveis avaliadas para o **desfecho óbito**

	Positivo se	Sensibilidade	Especificidade	1-Especificidade	RV+	RV-
RNL	> 1,715	0,639	0,483	0,517	1,236	0,747
RPL	> 115,050	0,375	0,697	0,303	1,236	0,897
RML	> 1,750	0,917	0,112	0,888	1,033	0,742

RNL: relação neutrófilo-linfócito, RPL: relação plaqueta-linfócito, RML: relação monócito-linfócito, RV+: razão de verossimilhança positiva, RV-: razão de verossimilhança negativa.

Figura 5 - Curvas ROC para o desfecho óbito das variáveis relação neutrófilo-linfócito (A), relação plaqueta-linfócito (B) e relação monócito-linfócito (C)

Os pontos de cortes e as curvas ROC para o desfecho recidiva são mostrados na Tabela 3 e Figura 6. As áreas sob as curvas ROC para as variáveis RNL, RPL e RML foram de 0,479 (IC95% 0,385-0,573); 0,519 (IC95% 0,424-0,614); e 0,469 (IC95% 0,372-0,565), respectivamente.

Tabela 3 - Valor diagnóstico das variáveis avaliadas para o **desfecho recidiva**

	Positivo se	Sensibilidade	Especificidade	1 - Especificidade	RV+	RV-
RNL	> 2,475	0,307	0,732	0,268	1,146	0,947
RPL	> 100,250	0,520	0,620	0,380	1,367	0,775
RML	> 2,680	0,747	0,310	0,690	1,082	0,818

RNL: relação neutrófilo-linfócito, RPL: relação plaqueta-linfócito, RML: relação monócito-linfócito, RV+: razão de verossimilhança positiva, RV-: razão de verossimilhança negativa.

Figura 6 – Curvas ROC para o desfecho recidiva das variáveis (A) relação neutrófilo-linfócito, (B) relação plaqueta-linfócito e (C) relação monócito-linfócito

4.2 Valor prognóstico dos marcadores inflamatórios para SG

A RNL ($> 1,715$) foi preditora de menor SG nos pacientes submetidos à hepatectomia por CHC. A SG em 5 anos foi 56% no grupo RNL baixa ($\leq 1,715$) vs. 40% no grupo RNL alta ($> 1,715$) ($p=0,018$; Figura 7).

Figura 7 - Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão neutrófilo-linfócito (RNL) baixa (azul) e alta (vermelho) ($\log\text{-rank}=0,018$)

Já a RPL ($> 115,05$) e a RML ($> 1,75$) não discriminaram grupos com pior prognóstico após ressecção de CHC (Figuras 8 e 9).

Figura 8 - Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão plaqueta-linfócito (RPL) baixa (azul) e alta (vermelho) ($\log\text{-rank} = 0,332$)

Figura 9 - Sobrevida global dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos relação monócito-linfócito (RML) baixa (azul) e alta (vermelho) (*log-rank*=0,519).

A Tabela 4 mostra as características clínicas, laboratoriais e patológicas dos grupos com RNL baixa ($\leq 1,715$) e alta ($> 1,715$). Os pacientes com RNL alta apresentaram albumina sérica menor (4,1 g/dL [3,7-4,5] vs. 4,3 g/dL [4,1-4,6]; $p=0,028$) e nódulos maiores (77 mm [35-100] vs. 39 mm [21-45]; $p<0,001$). Observa-se, ainda, associação com maiores RPL (134 [91,2-160] vs. 72,4 [53,7-93,2]; $p<0,001$) e RML (4,4 [3,4-5,5] vs. 3,1 [2-3,8]; $p<0,001$).

Tabela 4 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 1,715$) e alta ($> 1,715$)

	RNL		p
	$\leq 1,715$	$> 1,715$	
Idade (anos)			0,209
média $\pm$ dp	61 $\pm$ 9	63 $\pm$ 12	
mediana (min-máx)	63 (18-79)	64 (20-86)	
Gênero (%)			0,230
masculino	39 (60,9%)	69 (71,1%)	
feminino	25 (39,1%)	28 (28,9%)	
Hepatopatia pré-operatória (%)			0,122
não	5 (7,8%)	15 (15,4%)	
sim	59 (92,2%)	82 (50,6%)	
Hipertensão portal (%)			0,748
não	34 (53,1%)	48 (49,5%)	
sim	30 (46,9%)	49 (30,6%)	
Varizes de esôfago (%)			1
não	55 (85,9%)	84 (86,6%)	
sim	9 (14,1%)	13 (13,4%)	
Child-Pugh (%*)			0,117
A5	44 (74,6%)	62 (57,3%)	
A6	14 (21,8%)	30 (30,9%)	
B7	1 (1,6%)	5 (5,2%)	
MELD			0,159
média $\pm$ dp	8 $\pm$ 2	9 $\pm$ 3	
mediana (quartil 25-75)	8 (7-9)	9 (7-10)	
Bilirrubina total (g/dL)			0,862
média $\pm$ dp	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,3	
mediana (quartil 25-75)	0,6 (0,5-0,9)	0,6 (0,5-0,9)	
Aspartato aminotransferase (AST, U/L)			0,671
média $\pm$ dp	60 $\pm$ 46	62 $\pm$ 32	
mediana (quartil 25-75)	47 (29-72)	42 (27-64)	
Alanina aminotransferase (ALT, U/L)			0,068
média $\pm$ dp	56 $\pm$ 50	51 $\pm$ 51	
mediana (quartil 25-75)	41 (30-69)	35 (21-59)	
Alfafetoproteína (ng/mL)			0,784
média $\pm$ dp	382 $\pm$ 897,5	3975,6 $\pm$ 15975	
mediana (quartil 25-75)	21,6 (5,1-227,7)	22 (4,9-151)	

continua

conclusão

Tabela 4 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 1,715$) e alta ($> 1,715$)

	RNL		p
	$\leq 1,715$	$> 1,715$	
Albumina (g/dL)			0,028
média $\pm$ dp	4,2 $\pm$ 0,3	4,0 $\pm$ 0,3	
mediana (quartil 25-75)	4,3 (4,1-4,6)	4,1 (3,7-4,5)	
Relação plaqueta-linfócito (RPL)			<0,001
média $\pm$ dp	89,9 $\pm$ 103	134 $\pm$ 73,1	
mediana (quartil 25-75)	72,4 (53,7-93,2)	111,4 (91,2-160)	
Relação monócito-linfócito (RML)			<0,001
média $\pm$ dp	3,2 $\pm$ 3,9	4,6 $\pm$ 3,3	
mediana (quartil 25-75)	3,1 (2-3,8)	4,4 (3,4-5,5)	
Tamanho do maior nódulo (mm)			<0,001
média $\pm$ dp	39 $\pm$ 26	77 $\pm$ 57	
mediana (quartil 25-75)	35 (21-45)	58 (35-100)	
Invasão vascular			0,521
não	32 (50%)	54 (55,6%)	
sim	32 (50%)	43 (44,3%)	

MELD: *Model for End Stage Liver Disease*

*do total de pacientes portadores de hepatopatia crônica

4.3 Valor prognóstico dos marcadores inflamatórios para SLD

A RNL ($> 2,475$) e a RPL ($> 100,25$) foram preditoras de menor SLD nos pacientes submetidos à hepatectomia por CHC (Figuras 10 e 11, respectivamente).

Figura 10 - Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão neutrófilo-linfócito (RNL) baixa (azul) e alta (vermelho) ($\log\text{-rank} = 0,047$).

Figura 11 - Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão plaqueta-linfócito (RPL) baixa (azul) e alta (vermelho) ($\log\text{-rank} = 0,028$).

Por sua vez, a RML ($> 2,68$) não discriminou grupos com pior prognóstico após ressecção de CHC (Figura 12).

Figura 12 – Sobrevida livre de doença dos pacientes portadores de carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa nos grupos razão monócito-linfócito (RML) baixa (azul) e alta (vermelha) ($\log\text{-rank} = 0,674$)

As principais características clínicas, laboratoriais e patológicas dos grupos de pacientes determinados pelos pontos de corte que se correlacionaram com SLD (RNL 2,475 e RPL 100,25) são mostradas nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Os pacientes com RNL alta ($> 2,475$) apresentam bilirrubina total pré-operatória maior (0,7 g/dL [0,5-0,9] vs. 0,6 g/dL [0,5-0,7]; $p=0,020$) e nódulos maiores (67 mm [40-100] vs. 40 mm [25-65]; $p=0,003$). Observa-se, ainda, associação com maiores RPL (147,2 [104,5-176] vs. 82,3 [60-108]; $p<0,001$) e RML (3,8 [3-5,2] vs. 2,1 [1,6-3,3]; $p<0,001$) (Tabela 5).

Tabela 5 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 2,475$) e alta ($> 2,475$)

	RNL		p
	$\leq 2,475$	$> 2,475$	
Idade (anos)			0,773
média $\pm$ dp	62 $\pm$ 11	63 $\pm$ 10	
mediana (min-máx)	64 (18-86)	61 (19-79)	
Gênero (%)			0,083
masculino	69 (63,3%)	33 (78,6%)	
feminino	40 (36,7%)	9 (21,4%)	
Hepatopatia pré-operatória (%)			0,122
não	18 (16,5%)	6 (14,2%)	
sim	91 (83,5%)	36 (85,7%)	
Hipertensão portal (%)			0,835
não	57 (74,3%)	25 (69,4%)	
sim	28 (25,7%)	11 (30,6%)	
Varizes de esôfago (%)			0,617
não	94 (86,2%)	35 (83,3%)	
sim	15 (13,8%)	7 (16,7%)	
Child-Pugh (%*)			0,366
A5	71 (84,6%)	30 (83,3%)	
A6	11 (12,1%)	4 (11,1%)	
B7	3 (3,3%)	2 (5,6%)	
MELD			0,388
média $\pm$ dp	8 $\pm$ 2	9 $\pm$ 3	
mediana (quartil 25-75)	8 (7-9)	8 (7-10)	
Bilirrubina total (g/dL)			0,020
média $\pm$ dp	0,6 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,4	
mediana (quartil 25-75)	0,6 (0,5-0,7)	0,7 (0,5-0,9)	
Aspartato aminotransferase (AST, U/L)			0,470
média $\pm$ dp	59 $\pm$ 59	65 $\pm$ 65	
mediana (quartil 25-75)	44 (29-66)	40 (24-74)	
Alanina aminotransferase (ALT, U/L)			0,491
média $\pm$ dp	56 $\pm$ 53	53 $\pm$ 47	
mediana (quartil 25-75)	41 (27-64)	38 (20-80)	
Alfafetoproteína (ng/mL)			0,338
média $\pm$ dp	2051,4 $\pm$ 9625,9	2455 $\pm$ 7045,6	
mediana (quartil 25-75)	16,2 (4,6-141,4)	35,4 (4,7-424,3)	

continua

conclusão

Tabela 5 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação neutrófilo-linfócito (RNL) baixa ($\leq 2,475$) e alta ($> 2,475$)

	RNL		p
	$\leq 2,475$	$> 2,475$	
Albumina (g/dL)			0,577
média $\pm$ dp	4,1 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,6	
mediana (quartil 25-75)	4,1 (3,8-4,5)	4,0 (3,6-4,5)	
Relação plaqueta-linfócito (RPL)			<0,001
média $\pm$ dp	98 $\pm$ 87,5	157 $\pm$ 81,9	
mediana (quartil 25-75)	82,3 (60-108)	147,2 (104,5-176)	
Relação monócito-linfócito (RML)			<0,001
média $\pm$ dp	2,5 $\pm$ 1,1	4,4 $\pm$ 2,1	
mediana (quartil 25-75)	2,1 (1,6-3,3)	3,8 (3-5,2)	
Tamanho do maior nódulo (mm)			0,003
média $\pm$ dp	54 $\pm$ 44	80 $\pm$ 58	
mediana (quartil 25-75)	40 (25-65)	67 (40-100)	
Invasão vascular			0,367
não	54 (51,4%)	18 (42,9%)	
sim	51 (48,6%)	24 (57,1%)	

MELD: *Model for End-Stage Liver Disease*

*do total de pacientes portadores de hepatopatia crônica

Os pacientes com RPL alta ($>100,25$) apresentam nível sérico de bilirrubina total pré-operatória mais elevado (0,7 g/dL [0,5-0,9] vs. 0,6 g/dL [0,4-0,8]; $p=0,004$), nódulos maiores (75 mm [40-125] vs. 34 mm [22-45]; $p<0,001$), além de maior frequência de invasão vascular (62,1% vs. 42%; $p=0,020$). Observa-se ainda associação com valores maiores da RNL (2,5 [1,9-3,5] vs. 2,5 [1,9-3,6]; $p<0,001$) e da RML (4 [3-5,2] vs. 3,1 [1,8-3,8]; $p<0,001$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação plaqueta-linfócito (RPL) baixa ($\leq 100,25$) e alta ($> 100,25$)

	RPL		p
	$\leq 100,25$	$> 100,25$	
Idade (anos)			0,112
média $\pm$ dp	63 $\pm$ 9	60 $\pm$ 13	
mediana (min-máx)	64 (18-81)	60 (19-86)	
Gênero (%)			0,223
masculino	53 (63,1%)	49 (73,1%)	
feminino	31 (36,9%)	18 (26,9%)	
Hepatopatia pré-operatória (%)			0,072
não	9 (10,7%)	15 (22,4%)	
sim	75 (83,3%)	52 (74,6%)	
Hipertensão portal (%)			0,431
não	59 (70,2%)	53 (79,1%)	
sim	25 (29,8%)	14 (20,9%)	
Varizes de esôfago (%)			0,490
não	70 (83,3%)	59 (88,1%)	
sim	14 (16,7%)	8 (11,9%)	
Child-Pugh (%*)			0,351
A5	63 (84%)	46 (88,5%)	
A6	10 (13,3%)	3 (5,8%)	
B7	2 (2,7%)	3 (5,8%)	
MELD			0,881
média $\pm$ dp	8 $\pm$ 2	9 $\pm$ 3	
mediana (quartil 25-75)	8 (7-9)	8 (7-9)	
Bilirrubina total (g/dL)			0,004
média $\pm$ dp	0,7 $\pm$ 0,4	0,8 $\pm$ 0,4	
mediana (quartil 25-75)	0,6 (0,4-0,8)	0,7 (0,5-0,9)	
Aspartato aminotransferase (AST, U/L)			0,495
média $\pm$ dp	63 $\pm$ 66	59 $\pm$ 53	
mediana (quartil 25-75)	44 (29-68)	40 (26-66)	
Alanina aminotransferase (ALT, U/L)			0,093
média $\pm$ dp	57 $\pm$ 46	53 $\pm$ 58	
mediana (quartil 25-75)	46 (28-67)	34 (21-69)	
Alfafetoproteína (ng/mL)			0,390
média $\pm$ dp	489 $\pm$ 1782,7	4278,8 $\pm$ 13149,5	
mediana (quartil 25-75)	18,8 (5,8-174,4)	19 (2,6-161)	

continua

conclusão

Tabela 6 - Características clinicopatológicas dos pacientes nos grupos com relação plaqueta-linfócito (RPL) baixa ($\leq 100,25$) e alta ($> 100,25$)

	RPL		p
	$\leq 100,25$	$> 100,25$	
Albumina (g/dL)			0,889
média $\pm$ dp	4,1 $\pm$ 0,6	4,1 $\pm$ 0,5	
mediana (quartil 25-75)	4,1 (3,8-4,5)	4,1 (3,7-4,5)	
Relação neutrófilo-linfócito (RNL)			<0,001
média $\pm$ dp	1,6 $\pm$ 0,7	3,2 $\pm$ 3,1	
mediana (quartil 25-75)	1,5 (1,1-2,0)	2,5 (1,9-3,6)	
Relação monócito-linfócito (RML)			<0,001
média $\pm$ dp	3,4 $\pm$ 2,4	4,2 $\pm$ 1,6	
mediana (quartil 25-75)	3,1 (1,8-3,8)	4 (3-5,2)	
Tamanho do maior nódulo (mm)			<0,001
média $\pm$ dp	41 $\pm$ 28	86 $\pm$ 59	
mediana (quartil 25-75)	34 (22-45)	75 (40-125)	
Invasão vascular			0,020
não	47 (58%)	25 (37,9%)	
sim	34 (42%)	41 (62,1%)	

MELD: *Model for End Stage Liver Disease*

* do total de pacientes portadores de hepatopatia crônica

4.4 Análise do impacto prognóstico dos marcadores inflamatórios em subgrupos de pacientes com CHC estratificados pelo tamanho do tumor

Foi avaliado o impacto dos marcadores inflamatórios em três grupos de pacientes com CHC estratificados pelo tamanho do maior nódulo:

- Grupo I: lesões < 5 cm;
- Grupo II: lesões entre 5 e 10 cm;
- Grupo III: lesões > 10 cm.

A SG e SLD nos Grupos I, II e III são mostradas na Figura 13, não houve diferença para ambos os desfechos entre os grupos.

Figura 13 – Sobrevida global e livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular submetidos à hepatectomia com intenção curativa de acordo com o tamanho: Grupo I (< 5 cm), Grupo II (5-10 cm) e Grupo III (> 10 cm). Não foi observada diferença entre os grupos para ambos os desfechos ($\log\text{-rank} = 0,519$ e $\log\text{-rank} = 0,454$, respectivamente)

4.4.1 Grupo I: CHC < 5 cm

Do total, 98 pacientes foram incluídos nesse subgrupo. Observamos que a RML (> 1,75) foi discriminatória de pior SG ($p=0,047$, Figura 14). Os demais marcadores não foram preditores de sobrevida. Nenhum dos marcadores foi preditor de recidiva nesse subgrupo de pacientes (Figura 14).

Figura 14 - Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular < 5 cm (Grupo I): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

Figura 15 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular < 5 cm (Grupo I): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

4.4.2 Grupo II: CHC entre 5-10 cm

Foram incluídos 35 pacientes neste subgrupo. Nenhum marcador foi preditor de SG ou SLD nesses pacientes (Figuras 16 e 17).

Figura 16 - Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular entre 5-10 cm (Grupo II): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

Figura 17 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular entre 5-10 cm (Grupo II): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

4.4.3 Grupo III: CHC > 10 cm

Do total, 28 pacientes foram incluídos nesse subgrupo. Nenhum marcador discriminou pacientes com menor SG ou SLD (Figuras 18 e 19, respectivamente).

Figura 18 - Sobrevida global dos pacientes com carcinoma hepatocelular > 10 cm (Grupo III): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

Figura 19 - Sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular > 10 cm (Grupo III): (A) relação neutrófilo-linfócito (RNL), (B) relação plaqueta-linfócito (RPL) e (C) relação monócito-linfócito (RML)

4.5 Fatores de risco para SG e SLD

As variáveis associadas à SG e SLD após ressecção de CHC com intenção curativa na análise univariada são mostradas na Tabela 7.

Tabela 7 - Análise univariada dos fatores prognósticos para sobrevida global e sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular operados com intenção curativa

Sobrevida global		Sobrevida livre de doença			
Variável	p	HR IC95%	Variável	p	HR IC95%
Hepatite C	0,016	1,98 (1,13-3,40)	Presença de nódulos satélites	0,023	1,77 (1,08-2,92)
Hipertensão portal	0,005	2,16 (1,25-3,74)	Invasão vascular	0,005	1,97 (1,22-3,19)
Varizes de esôfago (sim vs. não)	0,047	1,90 (1,10-3,60)	Idade > 50 anos	0,050	0,54 (0,95-1,00)
Necessidade de hemotransfusão	0,002	2,38 (1,38-4,10)	Bilirrubinas totais > 1,2 mg/dL	0,020	2,41 (1,15-5,07)
Complicação perioperatória	0,006	2,00 (1,21-3,34)	AST > 50 U/dL	0,037	1,63 (1,10-2,59)
Invasão vascular	0,007	2,02 (1,20-3,40)	AFP > 20 ng/ml	< 0,001	3,64 (2,23-5,91)
Bilirrubinas totais > 1,2 mg/dL	0,048	1,90 (1,05-3,60)	RNL > 2,475	0,047	1,28 (1,01-1,96)
AST > 50 U/dL	0,021	1,85 (1,09-3,14)	RPL > 100,25	0,028	1,60 (1,02-2,52)
Tempo de UTI > 3 dias	<0,001	3,06(1,80-5,23)			
AFP > 20 ng/ml	<0,001	3,42 (1,96-5,91)			
RNL > 1,715	0,043	1,61 (1,01-2,67)			

AST: aspartato aminotransferase, AFP: alfafetoproteína, RNL: relação neutrófilo-linfócito, RPL: relação plaqueta-linfócito, HR: *hazard ratio*

A análise multivariada mostrou como fatores prognósticos independentes para menor SG: presença de hipertensão portal (HR=7,035; IC95% 2,396-20,660; $p<0,001$), nível AST pré-operatória > 50 U/dL (HR=3,057; IC95% 1,104-8,470; $p=0,032$) e tempo de UTI pós-operatório > 3

dias (HR=5,039; IC95% 1,752-14,489; $p=0,003$). Já os fatores prognósticos independentes relacionados com pior SLD foram: AST pré-operatória > 50 U/dL (HR=3,324; IC95% 1,600-6,905; $p=0,001$), invasão vascular (HR=2,363; IC95% 1,133-4,928; $p=0,022$) e RPL elevada (HR=3,029; IC95% 1,499-6,121; $p=0,002$) (Tabela 9).

Tabela 9 - Análise multivariada dos fatores prognósticos para sobrevida global e sobrevida livre de doença dos pacientes com carcinoma hepatocelular operados com intenção curativa.

Variável	Sobrevida global			Sobrevida livre de doença		
	HR	IC95%	<i>p</i>	HR	IC95%	<i>p</i>
Hipertensão portal	7,04	2,40-20,66	<0,001			
AST > 50	3,06	1,10-8,47	0,032	3,32	1,60-6,91	0,001
UTI > 3 dias	5,04	1,75-14,49	0,003			
Invasão vascular				2,36	1,13-4,93	0,022
RPL				3,03	1,50-6,12	0,002

HR: *hazard ratio*, IC95%: intervalo de confiança de 95%, AST: aspartato aminotransferase, UTI: unidade de terapia intensiva, RPL: relação plaqueta-linfócito.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A determinação do prognóstico de pacientes com CHC submetidos à hepatectomia com intenção curativa não é dependente exclusivamente das características anatomopatológicas do espécime cirúrgico e/ou da presença ou não de disseminação a distância. Para a completa avaliação prognóstica, é preciso levar em consideração também variáveis clínicas e laboratoriais. Isto significa que características de cada paciente, individualmente ou associadas, podem ter peso determinante na evolução clínica e oncológica. Dessa forma, identificar condições clínicas ou marcadores laboratoriais e bioquímicos de mau prognóstico pode ser ação fundamental e custo-efetiva na tomada de decisões clínicas, como a de submeter ou não o paciente a um procedimento de grande porte (como uma hepatectomia maior), ou, até mesmo, levar à utilização de protocolos mais rígidos de acompanhamento pós-operatório nos casos com elevado risco de recidiva, assim como discutir o potencial benefício de estratégias de tratamento neo ou adjuvante.

5.1 As variáveis clínico-patológicas dos pacientes com CHC

A média de idade dos pacientes incluídos no presente estudo foi de 62 ± 11 anos, resultado semelhante aos resultados de centros norte-americanos (65 ± 10 anos).¹⁰⁵ Casuísticas orientais trazem médias de idade inferiores, em torno de 52 ± 9 anos.^{106,107} Este fato pode estar relacionado às altas taxas de infecção precoce pelo VHB na população oriental, especialmente por meio da transmissão vertical, assim como, pelo desenvolvimento de CHC em fígados não cirróticos.¹⁰⁷ Por outro lado, pacientes com CHC relacionado ao VHC e alcoolismo desenvolvem a neoplasia com grande frequência no contexto de hepatopatia crônica e cirrose hepática, situações que costumam ocorrer em momentos mais

tardios da vida adulta.¹⁰⁸ Mesmo o padrão da infecção pelo VHB tem comportamento diverso no Ocidente, já que o vírus costuma ser adquirido na idade adulta e existe, em muitos países, um programa de vacinação implementado.¹⁰⁹

Quando analisamos a etiologia da hepatopatia crônica, as principais em nossa casuística foram hepatite C (60%), seguida da hepatite B (20%) e EHNA (11%). Por sua vez, estudos orientais apontam prevalência de infecção pelo VHB acima de 50%.^{110,111} Em alguns centros, notadamente chineses, coreanos e da região dos tigres asiáticos, o VHB é responsável por 60 a 70% dos casos, enquanto o VHC, a doença alcoólica do fígado e a EHNA possuem, somados, participação inferior a 30-40% dos casos de CHC.¹⁰⁷ Dados provenientes de casuísticas ocidentais assemelham-se aos resultados do nosso estudo, mostrando o VHC como fator predisponente em 27 a 75% em pacientes com CHC.¹¹² Massarweh *et al.*¹¹³ estudando pacientes norte-americanos observaram que a cirrose pelo VHC foi a principal etiologia do CHC (70% dos casos), seguida pela EHNA (15%) e apenas em terceiro lugar o VHB, com menos de 5% dos casos. A infecção pelo VHC está associada a um incremento de 15 a 20 vezes no risco de CHC.¹¹⁴ Resultados de estudos prospectivos mostram que a sua incidência varia de 1 a 3% ao longo de 30 anos de seguimento, já nos casos com cirrose estabelecida, desenvolve-se em uma taxa de 1 a 8% ao ano, com média 3,5%.¹¹⁴

No presente estudo, 67,1% dos pacientes com diagnóstico de CHC eram do sexo masculino, dados condizentes com os da literatura que mostram que o CHC é aproximadamente duas vezes mais comum nos pacientes do sexo masculino.¹¹⁵ Tal fato deve-se à associação mais frequente de condições clínicas predisponentes em homens, como, por exemplo, a maior incidência de hepatites virais e de doença hepática alcoólica.¹¹⁶

Nossos dados evidenciaram que 84% dos pacientes submetidos à hepatectomia apresentavam algum grau de hepatopatia crônica, sendo 96% classificados como Child-Pugh A. Nestes pacientes, ressecções hepáticas

maiores são possíveis, já nos pacientes Child-Pugh B7, consideramos elegíveis apenas aqueles pacientes em que eram necessárias ressecções menores. Beard *et al.*,¹¹⁷ em centro ocidental, comparando desfechos cirúrgicos em pacientes cirróticos e não cirróticos portadores de CHC, encontraram prevalência de cirrose em 73% destes. Por sua vez, estudos orientais mostram prevalência menor de cirrose/hepatopatia crônica, em um percentual que não ultrapassa os 54%.¹¹⁸

Quanto ao número de nódulos, o presente estudo mostrou que 74% dos pacientes operados apresentavam doença uninodular, com mediana de tamanho 42 mm. De fato, existe consenso na literatura de que os candidatos ideais para ressecção hepática são aqueles com função hepática preservada, doença oligonodular e sem hipertensão portal clinicamente significativa.¹¹⁹

Nesse contexto, os resultados do nosso estudo evidenciaram que a presença de hipertensão portal foi fator independente de pior SG (HR=7,04; IC95% 2,40-20,66, $p<0,001$), o mesmo não foi identificado com relação à SLD. De fato, existem dados na literatura que apontam o impacto da presença de hipertensão portal na morbidade pós-operatória e na sobrevida de pacientes com CHC. Em uma metanálise que incluiu 11 estudos (totalizando 2.285 pacientes operados por CHC com e sem hipertensão portal), Choi *et al.*¹²⁰ mostraram que a proporção pareada de mortalidade foi de 6,1% (IC95% 0,03-0,12) no grupo de pacientes com hipertensão portal e 2,1% (IC95% 0,01-0,05) nos pacientes sem hipertensão portal, além de encontrar maior ocorrência de complicações pós-operatórias no primeiro grupo (OR=1,39; IC95% 1,09-1,76; $p=0,008$). Esses resultados mostram o impacto da hipertensão portal nos resultados pós-operatórios de pacientes operados por CHC, em que pese o potencial viés de seleção dos estudos, e as diferenças na abordagem cirúrgica entre centros orientais e ocidentais.¹²⁰

Com relação ao IMC, também notamos diferenças na nossa casuística quando comparada às orientais. Os pacientes incluídos em nosso estudo possuem mediana de 24,9 (22,6-27,7), já os pacientes de populações orientais possuem mediana de 23 (20,46-26,56).¹²¹ Em revisão sistemática

envolvendo 61 estudos, na sua maioria derivados de centros ocidentais, foram incluídos 25.337 pacientes com CHC e mostrou-se que pacientes com $IMC \geq 25\text{kg/m}^2$ apresentavam incremento de 39% no risco de desenvolvimento de CHC ($RR=1,39$; $IC_{95\%} 1,25-1,55$) para um aumento de 5 pontos no IMC.¹²² Além disso, a associação entre o aumento do IMC e o CHC foi mais pronunciado nos pacientes com infecção concomitante pelo VHC quando comparados aos portadores do VHB.¹²²

Os resultados dos níveis AFP pré-operatórios também evidenciaram diferenças entre os dados do presente estudo e de centros orientais. Na nossa casuística, a mediana dos valores de AFP foi de 19 (4,7-172,7), em estudos orientais, este valor gira em torno de 46,55 (15,01-369,47).¹¹⁸ AFP é o biomarcador mais amplamente utilizado e conhecido no contexto do CHC. Uma casuística alemã recente mostrou correlação estatisticamente significativa entre os níveis de AFP e o volume tumoral, com relação direta entre o tamanho do tumor, a presença de lesões satélites e os níveis pré-operatórios de AFP.¹²³ Dessa forma, a diferença entre os resultados da nossa casuística e os orientais pode ser justificada pela diferença de tamanho do tumor principal, que, em estudos orientais, apresentou mediana de 6,7 cm (4,23-9,00)¹¹⁸ comparados aos 4,2 cm (2,9-8,0) encontrados no presente estudo, assim como, pelo diferente percentual de presença de nódulos satélites, cerca de 27 a 32% dos casos em casuísticas orientais,^{118,124} enquanto, no nosso estudo, este percentual foi de 24,8%.

Frente ao exposto, não resta dúvida de que as características epidemiológicas e clinicopatológicas diferem sobremaneira entre populações orientais e ocidentais. Tal heterogeneidade tem o potencial de contribuir para as diferenças encontradas em sistemas de estadiamento, abordagens terapêuticas e nos resultados dos principais desfechos clínicos observados entre estes países. Nesse sentido, cria-se também o desafio de identificar fatores prognósticos específicos para estas populações.

5.2. Pontos de corte dos marcadores inflamatórios para SG e SLD

A SG e SLD são desfechos amplamente utilizados em análises prognósticas relacionadas a intervenções cirúrgicas, radiointervencionistas e clínicas. Como refletem aspectos diferentes da evolução da doença e do seu tratamento, idealmente são necessários valores diferentes de “*cut-offs*” para cada desfecho. Por esse motivo, adotamos em nosso estudo o cálculo de pontos de corte específicos (tendo como base dados da nossa casuística) para os desfechos recidiva e óbito, diferentemente de outros estudos que utilizaram um mesmo ponto de corte para ambos (em geral, calculados a partir do desfecho óbito) ou “*cut-offs*” provenientes de outros estudos.¹²⁵⁻¹²⁶ Na nossa visão, a utilização de tais expedientes poderia criar distorções de difícil controle na análise e interpretação dos dados.

Apesar de controverso, a maioria dos estudos que relacionou marcadores inflamatórios e prognóstico utilizou a análise das curvas ROC com este propósito.¹²⁷ Desenhadas inicialmente para avaliar a acurácia de testes diagnósticos, os pontos de corte definidos pelas curvas determinam grupos dicotômicos/binários (acima e abaixo do “*cut-off*”), os quais podem ser usados para fins prognósticos por meio da confecção de curvas de sobrevida. No entanto, a conversão destes grupos dicotômicos em desfechos contínuos ao longo do tempo (como SG e SLD) pode explicar a baixa performance encontrada no presente estudo. Todos os pontos de corte calculados apresentaram AUC-ROC próximas a 0,50, seja para SG seja para SLD. Apesar da baixa performance, os pontos de corte calculados para a RNL foram discriminatórios para SG e SLD, assim como, a RPL para SLD e a RML para SG em $CHC < 5$ cm.

Outros autores, tanto orientais quanto ocidentais, também encontraram baixas performances das curvas ROC para os diversos marcadores inflamatórios. Lin *et al.*¹²⁸ encontraram AUC-ROC para RML no desfecho óbito de 0,66 (IC95% 0,59-0,73). Galun *et al.*,¹²⁹ em casuística ocidental, reportaram AUC-ROC para a RNL referente ao desfecho óbito de 0,65.

É importante salientar que os diversos estudos ainda trazem enorme heterogeneidade quanto aos valores de corte para cada marcador inflamatório. Wang *et al.*,¹³⁰ em metanálise recente, incluíram 17 estudos (13 para SG e 7 para SLD) encontrando valores de corte para RNL que variaram de 1,51 até 5,0. Wang *et al.*¹²⁷ utilizaram também curvas ROC para determinar pontos de corte para RNL e RPL. Neste estudo, os valores ideais foram 2,92 e 128,1, respectivamente.

5.3 O papel dos marcadores inflamatórios no prognóstico de pacientes com CHC

Os marcadores inflamatórios vêm assumindo papel de destaque na tentativa de aumentar a acurácia da estratificação prognóstica em diversas neoplasias sólidas.^{131,132} Eles têm como principais vantagens a avaliação por meio de exames realizados rotineiramente, o seu baixo custo e a possibilidade de serem aferidos antes da intervenção terapêutica. Tais marcadores podem ser usados, caso validada sua eficácia clínica, no auxílio à tomada de decisões mais custo-efetivas sobre o curso do tratamento.¹³³ O hemograma completo, por exemplo, possui um dos menores valores agregados, tanto no ambiente da saúde suplementar quanto no Sistema Único de Saúde (SUS). O custo do hemograma completo no SUS gira em torno de R\$ 4,00 enquanto no ambiente de assistência particular/convênios seu valor é de cerca de R\$ 18,00.¹³⁴ Por outro lado, o custo de marcadores tumorais como CA19-9 e AFP gira em torno de R\$ 70,00 por exame.¹³⁴

O presente estudo evidenciou que a RNL elevada ($> 1,715$) foi preditora de menor SG nos pacientes submetidos à hepatectomia por CHC. A SG em 5 anos foi 56% no grupo RNL baixa ($\leq 1,715$) vs. 40% no grupo RNL alta ($> 1,715$) ($p=0,018$). Quanto à SLD, a RNL $\geq 2,745$ foi também preditora de menor SLD ($p=0,047$). O impacto da RNL no prognóstico de pacientes com neoplasias sólidas tem sido extensamente estudado nos últimos anos. Em revisão sistemática recente, incluindo 100 estudos (40.559

pacientes), Templeton *et al.*⁸¹ demonstraram que a RNL elevada foi associada a desfecho adverso em diversas neoplasias sólidas, sendo a maior associação observada nos pacientes com mesotelioma pleural, neoplasia de pâncreas e no próprio CHC.

Em 2008, Halazun *et al.*¹³⁵ demonstraram que a RNL elevada no pré-operatório foi preditora de sobrevida em pacientes com metástases hepáticas de câncer colorretal após hepatectomia. Por sua vez, Gomez *et al.*¹³⁶, no mesmo ano, demonstraram que a RNL pré-operatória foi capaz de predizer o prognóstico de pacientes submetidos à hepatectomia por CHC. Da mesma forma, a RNL elevada tem se mostrado preditora de pior sobrevida após outros tratamentos para CHC, tais como ablação por radiofrequência,¹³⁷ quimioembolização transarterial¹³⁸ e transplante hepático.¹³⁹

No contexto do tratamento cirúrgico curativo do CHC, Xingshun *et al.*⁹² publicaram metanálise incluindo 20.475 pacientes portadores de CHC, demonstrando a capacidade da RNL em predizer prognóstico, especialmente os pacientes com RNL baixa ($< 2,0$) que apresentaram melhor SG quando comparados a pacientes com RNL elevada ($> 4,0$) (HR=1,80; IC95% 1,59-2,04; $p<0,00001$).

É importante salientar que existem trabalhos na literatura, principalmente ocidental, que não demonstraram impacto da RNL na SG e SLD. Sullivan *et al.*¹⁴⁰, em estudo norte-americano, avaliaram pacientes consecutivos com CHC que ainda não haviam tido condução terapêutica definida. Por meio de análise multivariada, a RNL não se mostrou preditora tanto de SG (HR=1,09; IC95% 0,95-1,24; $p=0,23$) quanto do eventual tratamento indicado (ressecção, transplante ou quimioembolização arterial) (OR=0,85; IC95% 0,71-1,02; $p=0,08$). Trabalho incluindo pacientes do Reino Unido mostrou que a RNL foi preditora de SLD (HR=4,67; IC95% 1,88-11,64; $p=0,001$), mas não de SG no subgrupo de pacientes cirróticos submetidos à hepatectomia por CHC, não sendo encontrada relação em pacientes não cirróticos operados.¹⁴¹ Dessa forma, podemos imaginar que a presença ou

não de cirrose possa impactar a capacidade preditiva da RNL e, possivelmente, de outros marcadores inflamatórios.

Em nosso estudo, observamos que a RPL elevada foi preditora de menor SLD, sendo também fator independente relacionado à SLD por meio da análise multivariada pelo método de Cox (HR=3,03; IC95% 1,50-6,12; $p=0,002$). Resultados semelhantes vêm sendo publicados na literatura, Kaida *et al.*,¹⁴² estudando pacientes com CHC em estágio precoce submetidos à hepatectomia, compararam 5 escores baseados em marcadores inflamatórios confirmando que a RPL pré-operatória foi fator preditor independente de recidiva. Em nossa casuística, não observamos correlação entre RPL e SG, no entanto, outros autores, como Wang *et al.*,¹²⁷ encontraram, em casuística de 239 pacientes com CHC submetidos à hepatectomia curativa, relação significativa entre RPL elevada e pior SG (HR= 1,013; IC95% 1,00-1,02; $p<0,05$) e SLD (HR=1,007; IC95% 1,001-1,013, $p<0,01$). Em metanálise publicada por Zhao *et al.*,¹⁴³ em 2017, com 2.315 pacientes submetidos à cirurgia ou quimioembolização por CHC, foi identificado que a RPL elevada foi associada à pior SG (HR=1,60; IC95% 1,23-2,08, $p=0,0005$).

O presente estudo mostrou que, em pacientes com CHC < 5cm, a RML elevada (>1,715), foi preditora de pior SG. Como já salientado anteriormente, o equilíbrio entre os microambientes inflamatório e imune afeta, de modo significativo, o prognóstico global dos pacientes com CHC.¹⁴⁴ O desequilíbrio entre as células inflamatórias ligadas ao tumor e células imunes resulta, com frequência, na progressão desta neoplasia.¹⁴⁵ Os monócitos são células precursoras de macrófagos, dessa forma, um aumento do número de monócitos levaria ao aumento do número de TAMs, favorecendo a resposta pró-tumoral. Um número crescente de estudos na literatura vem justificando e validando essas observações, confirmando o papel prognóstico da RML em diversas neoplasias sólidas.^{146,147} No que diz respeito à relação entre este marcador e o tamanho do CHC, o presente estudo trouxe resultados de certa forma inéditos na literatura. Diferente do subgrupo com CHC < 5cm, o estudo não encontrou impacto prognóstico da

RML nos subgrupos entre 5-10 cm e > 10 cm. O resultado encontrado apenas em CHCs < 5cm pode ser justificado pelo fato de que, talvez, em pacientes com lesões maiores, outros tipos celulares como neutrófilos e plaquetas assumam papel predominante na invasão local e disseminação metastática. De fato, sabe-se que a ativação de monócitos e, por sua vez, de macrófagos, costuma ocorrer em etapas mais iniciais do processo de crescimento tumoral.¹⁴⁸

Apesar da RNL ser fator prognóstico para SG e SLD na análise univariada e a RPL para SLD, apenas essa última foi fator independente pelo método de Cox. Pelo menos parcialmente, esse achado pode ser explicado pela estreita relação entre os marcadores inflamatórios, como pode ser visto pela correlação de valores elevados de RNL com relações elevadas de RPL e RML (Tabelas 5 e 6). Além disso, apesar da grande participação do sistema imune, outros fatores podem ter papel também de destaque no desfecho oncológico de pacientes com CHC. Apesar do MAT desempenhar papel-chave na progressão dessa neoplasia, aproximadamente, 30% dos CHC em estágios iniciais possuem evidências genômicas de ativação imune, além de infiltrado de células inflamatórias.¹⁴⁹ Desta forma, as diferenças estatísticas de resultados encontrados no presente trabalho em comparação à literatura podem, possivelmente, ter surgido também em função das diferenças no ambiente molecular do CHC. Na realidade, os pacientes com CHC podem apresentar, para um mesmo estágio clínico, diferentes perfis moleculares.¹⁵⁰ Tais perfis possuem relação com algumas características clínicas importantes, de modo que os seus subtipos moleculares podem ser agrupados em duas classes principais.¹⁵¹ O subtipo proliferativo (mais frequente em pacientes com infecção pelo VHB) possui características moleculares e histológicas que resultam em um comportamento clínico agressivo, incluindo altos níveis de AFP, tumores pouco diferenciados, instabilidade cromossômica, mutações do TP53 (*tumor protein 53*) e ativação de vias oncogênicas (dependentes do MET, mTOR [*mammalian target of rapamycin*] e MAPK [*mitogen-activated protein kinase*]), e o subtipo não proliferativo que possui principalmente mutações na

via de sinalização da beta-catenina (*CTNNB1*), expressões genéticas mais próximas dos hepatócitos normais, sendo, mais frequentemente, associados à infecção pelo VHC, e apresentando-se como tumores bem diferenciados, com menor frequência de invasão microvascular, além de comportamento clínico menos agressivo.^{152,153}

Apesar da intrincada fisiopatologia do CHC e das diferenças dependentes da etiologia e da presença de hepatopatia crônica, evidências atuais vêm demonstrando a capacidade prognóstica dos marcadores inflamatórios, como a RNL e a RPL. Conforme demonstrado por Wang *et al.*¹⁵⁴, células inflamatórias peritumorais, especialmente neutrófilos, podem suprimir a atividade imunológica antitumoral, por meio do recrutamento de células imunossupressoras como derivados mieloides e células Treg, levando à progressão dos tumores. Além da supressão da atividade de imunidade celular de linfócitos T e células NK, outra via de ação de neutrófilos com impacto pró-tumoral é o estímulo à angiogênese. Kuang *et al.*¹⁵⁵ mostraram um maior número de neutrófilos no estroma peritumoral e esse maior número esteve associado ao desenvolvimento de neoangiogênese.

Um ponto importante na interação plaquetária com o MAT pode justificar os resultados deste estudo quanto à maior recidiva do CHC nos pacientes com elevada RPL. Bambace *et al.*¹⁵⁶ demonstraram que o MAT, no contexto do CHC, contém plaquetas que secretam elevadas quantidades de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF, do Inglês, *vascular endothelial growth factor*) assim como, fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF, do Inglês, *Platelet-Derived Growth Factor*), e tais fatores desempenham papel importante na angiogênese, proliferação celular e na disseminação de metástases tumorais. Além dessa via de ação pró-tumoral, outros estudos têm mostrado que as plaquetas facilitam o escape das células tumorais do sistema imunológico. Nieswandt *et al.*¹⁵⁷ mostraram que as plaquetas facilitam metástases e protegem as células tumorais da lise mediada por células NK. Por sua vez, Lee *et al.* mostraram que, em

pacientes com CHC, elevadas contagens de plaquetas trazem um maior risco de metástases extra-hepáticas.¹⁵⁸

O percentual da população linfocítica é relativamente baixo nos pacientes com RNL e RPL elevadas. Diversos estudos têm demonstrado que um maior infiltrado peritumoral de linfócitos está associado a um melhor prognóstico oncológico nos pacientes oncológicos em geral.¹⁵⁹ Por exemplo, Mleenik *et al.*¹⁶⁰ demonstraram que o aumento do número de linfócitos peritumorais esteve associado a ganho de sobrevida em pacientes com câncer colorretal. Por outro lado, Unitt *et al.* mostraram que uma menor quantidade de linfócitos peritumorais tem se mostrado um indicador confiável de metástases hepáticas em pacientes com tumores colorretais, assim como, de pior prognóstico também em pacientes com CHC.¹⁶¹

Embora tanto as plaquetas quanto os linfócitos representem uma parte importante da interação entre células tumorais e imunes, alguns estudos vêm mostrando resultados conflitantes no que diz respeito à utilidade prognóstica da RPL em pacientes submetidos à hepatectomia por CHC. Em estudos asiáticos, com alta prevalência do HBV, a trombocitose mediada pela inflamação pode desempenhar um papel menor nos pacientes com CHC.^{110,162} Por outro lado, muitos pacientes tratados em centros ocidentais, como ocorre neste estudo, têm síndrome metabólica e EHNA, condições que causam inflamação crônica somada à inflamação relacionada ao câncer, contribuindo, desta maneira, para uma maior prevalência de trombocitose.¹⁶³

5.4 Análises uni e multivariadas de variáveis prognósticas

As análises uni e multivariada permitiram a identificação de fatores prognósticos independentes, relacionados tanto à SG quanto à SLD. A presença de hipertensão portal, no presente estudo, foi identificada como um fator prognóstico independente (HR=7,04; IC95% 2,40-20,66; $p<0,001$) de SG. A literatura corrobora com estes achados. Em revisão sistemática publicada envolvendo 2.285 pacientes, Choi *et al.*¹⁶⁴ mostraram que o grupo

de pacientes com hipertensão portal apresentou pior SG do que o grupo sem hipertensão portal (HR=1,48; IC 95% 1,11-1,98; p=0,007).

Outro fator prognóstico independente identificado no desenvolvimento deste estudo foi o valor da AST pré-operatória. AST > 50 U/dL mostrou-se independentemente relacionada tanto à SG quanto à SLD. O mecanismo exato para explicar essa relação ainda é pouco conhecido, mas uma possível explicação pode envolver algumas observações: a AST é uma enzima quase exclusiva dos hepatócitos e de localização mitocondrial.¹⁶⁵ A hepatopatia crônica é associada à lesão desta organela, o que pode levar a aumento da sua liberação, além de ocasionar diminuição do clareamento desta enzima em função da fibrose progressiva, típica da hepatopatia crônica.¹⁶⁵ Outro ponto importante é a associação de valores elevados sustentados de AST com necrose inflamatória do tecido hepático, o que pode facilitar tanto a invasão quanto a recorrência do CHC.¹⁶⁶

Os resultados do presente estudo mostraram que a presença de invasão microvascular foi identificada como fator prognóstico independente de recidiva (HR=2,37; IC95% 1,13-4,93; p=0,022). A literatura traz resultados semelhantes quanto à invasão microvascular e a recidiva precoce pós-hepatectomia (antes de 2 anos). Lim *et al.*,¹⁶⁷ em um estudo prospectivo envolvendo 454 pacientes, mostraram que a presença de invasão vascular foi preditora de recidiva precoce e SG nos pacientes submetidos à hepatectomia curativa por CHC (94,6 vs. 36 meses, HR=2,12; IC95% 1,52-2,97; p<0,001). A associação entre invasão vascular e micrometástases residuais após ressecção a torna um excelente marcador de recidiva e SG, especialmente por trazer consigo outras características, que refletem um comportamento biológico mais agressivo do tumor, como maior volume de doença micrometastática, maior tamanho de trombos intravasculares e a presença de invasão mural.¹⁶⁸

A análise multivariada evidenciou a RPL como fator independente de recidiva no atual estudo (HR=3,03, IC95% 1,50-6,12, p=0,002). A literatura já traz resultados relevantes sobre a importância prognóstica da RPL nos pacientes com CHC submetidos à hepatectomia, assim como, em outros

tumores sólidos gastrointestinais, corroborando com os resultados encontrados neste trabalho. Buergy *et al.*¹⁶⁹ mostraram que valores elevados de plaquetas se relacionaram com menor sobrevida em diversos tumores sólidos, incluindo adenocarcinoma pancreático, câncer gástrico, câncer de pulmão e CHC. Já Qing *et al.*¹⁷⁰, em estudo retrospectivo envolvendo 172 pacientes, mostraram que níveis pré-operatórios elevados de plaquetas estiveram associados à maior chance de recidiva pós-hepatectomia. Dessa forma, vemos que existe potencial associação entre marcadores derivados de plaquetas e o prognóstico de pacientes submetidos à hepatectomia por CHC.

5.5 Limitações do estudo e perspectivas futuras

As principais limitações do presente estudo são sua natureza retrospectiva, o que aumenta o risco de viés de seleção, confundimento e de aferição. A minimização destes vieses foi feita a partir da escolha da amostra do estudo, utilizando critérios de indicação cirúrgica bem defendidos e padronizados, com a exclusão de pacientes apresentando ressecção R1/R2, sinais infecciosos ou inflamatórios pré-operatórios, além de pacientes com outros tratamentos locorregionais prévios. Outra limitação é o número de pacientes incluídos após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão. Apesar de ser uma amostra expressiva no Ocidente, casuísticas orientais tem números maiores e isso pode ter contribuído para a maior força estatística encontrada nestes últimos em comparação ao nosso estudo.

Apesar das limitações supracitadas, o presente estudo tem por mérito ser um dos primeiros trabalhos ocidentais a estudar conjuntamente os principais marcadores inflamatórios relacionados ao prognóstico do CHC, e em subgrupos estratificados pelo seu tamanho. Em nosso meio, trata-se de estudo pioneiro, já que não foram encontradas outras publicações que abordem o tema. Dessa forma, este pode ser o passo inicial para a realização de outros protocolos de pesquisa visando a um conhecimento

mais abrangente sobre o papel dos marcadores imunológicos e inflamatórios em pacientes portadores de CHC no Ocidente, tendo em vista a enorme heterogeneidade desta patologia no que diz respeito a sua epidemiologia, a sua diversidade molecular e a suas abordagens terapêuticas.

O presente estudo abriu ainda campo para o desenvolvimento de outros projetos, visando preencher lacunas sobre o papel dos marcadores inflamatórios no prognóstico de pacientes operados por CHC. Entre eles, podemos citar, a avaliação específica destes em pacientes com e sem hepatopatia crônica e hipertensão portal, ou subdivididos conforme sua classificação pelo BCLC. Outro projeto em andamento em nosso Serviço é a avaliação temporal pré vs. pós-operatória destes marcadores visando à criação de um “delta” que possa predizer subgrupos com melhor ou pior prognóstico após ressecção hepática.

No que diz respeito à aplicação clínica, este trabalho trouxe importante contribuição, mostrando o potencial dos marcadores inflamatórios como indicadores de prognóstico e sua aplicabilidade no refinamento dos critérios de seleção de pacientes para protocolos de seguimento pós-operatório mais estrito, especialmente naqueles pacientes com pior projeção de SG e/ou recidiva. Da mesma forma, os marcadores inflamatórios podem ser uma importante ferramenta na seleção de pacientes para o estudo de potenciais estratégias adjuvantes, visando à diminuição da taxa de recidiva pós-operatória, certamente, o maior problema relacionado ao tratamento cirúrgico do CHC.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo clínico permitem concluir que:

- 1- A RNL elevada foi preditora de menor SG e SLD. A RPL elevada foi fator independente associado com menor SLD nos pacientes operados por CHC;
- 2- A RML elevada foi preditora de menor SG em pacientes com CHC < 5 cm.

7 ANEXOS

7.1 ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética Médica

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: IMPACTO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM CARCINOMA HEPATOCELULAR SUBMETIDOS À RESSECÇÃO HEPÁTICA COM INTENÇÃO CURATIVA

Pesquisador: Fabricio Ferreira Coelho

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 98435118.0.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.004.022

Apresentação do Projeto:

O tratamento do CHC é complexo, dentre as modalidades terapêuticas potencialmente curativas a ressecção cirúrgica tem papel preponderante cursando com sobrevida em 5 anos de 50 a 75%, no entanto, com alta taxa de recidiva (50-80% em 5 anos). Por esta razão, a busca de fatores prognósticos que possam refinar o entendimento da biologia e comportamento tumoral tem tido interesse crescente. Este será um estudo observacional retrospectivo.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo primário é avaliar o impacto prognóstico de alguns dos principais marcadores inflamatórios pré-operatórios: relação neutrófilos-linfócitos (RNL), relação plaquetas-linfócitos (RPL), relação linfócitos-monócitos (RLM), índice prognóstico (IP), índice prognóstico nutricional (IPN) e Modified Glasgow Prognostic Score (mGPS); no desfecho oncológico tardio de pacientes portadores de CHC submetidos à ressecção hepática com intenção curativa.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: nenhum. Benefícios: Identificação de marcadores prognósticos pré-operatórios de fácil uso clínico.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa adequada

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 3.004.022

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto adequado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1192609.pdf	13/09/2018 16:17:34		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	03/09/2018 11:49:41	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Cronograma	CRONOGAMA.docx	03/09/2018 11:47:30	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Folha de Rosto	FRFABRICIOFERREIRACOELHO.pdf	27/08/2018 14:19:32	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Outros	Cartadecompromissoexecutanteexterno.pdf	27/08/2018 14:18:50	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Orçamento	Declaracaodedespesas.pdf	27/08/2018 14:17:54	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Cartaanuenciaparachefedepto.pdf	27/08/2018 14:17:22	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito
Declaração de Pesquisadores	CartacompromissoPG.pdf	27/08/2018 14:16:05	Fabricio Ferreira Coelho	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br

Continuação do Parecer: 3.004.022

Não

SAO PAULO, 07 de Novembro de 2018

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

8 REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65:87-108.
2. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, Jemal A. Global cancer incidence and mortality rates and trends - an update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016;25:16-27.
3. Bralet MP, Régimbeau JM, Pineau P, Dubois S, Loas G, Degos F, et al. Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. *Hepatology.* 2000;32:200-4.
4. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
5. DATASUS - SIM. *Sistema de Informação sobre Mortalidade*. Disponível em: <http://sim.saude.gov.br>.
6. Akinyemiju T, Abera S, Ahmed M, Alam N, Alemayohu MA, Allen C, et al. The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level. *JAMA Oncol* 2017;3:1683-91.
7. Röcken C, Carl-McGrath S. Pathology and pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis.* 2001;19(4):269-78.
8. Di Bisceglie AM. Natural history of hepatitis C: Its impact on clinical management. *Hepatology.* 2000;31(4):1014-8.
9. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology.* 2006;43:1303-10.
10. Tilg H, Moschen AB. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology.* 2010;52(5):1836-46.
11. Al Busafi SA, Bhat M, Wong P, Ghali P, Deschenes M. Antioxidant therapy in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepat Res Treat.* 2012;2012:947575.

12. Margini C, Dufour JF. The story of HCC in NAFLD: from epidemiology across pathogenesis, to prevention and treatment. *Liver Int.* 2016;36(3):317-24.
13. Takaki A, Kawai D, Yamamoto K. Multiple hits including oxidative stress as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci.* 2013;15:20704-8.
14. Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analyses of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology.* 2011;53(6):1883-94.
15. Ioannou GN, Splan MF, Weiss NS, McDonald GB, Beretta L, Lee SP. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007;5:938-45.
16. Signal AG, Pillai A, Tiro J. Early detection, curative treatment, and survival rates for hepatocellular carcinoma surveillance in patients with cirrhosis: a meta-analysis. *PLoS Med.* 2014;11(4):e1001624.
17. Debes JD, Chan AJ, Balderramo D, Kikuchi L, Gonzalez Ballera E, Prieto JE, et al. Hepatocellular carcinoma in South America: evaluation of risk factors, demographics and therapy. *Liver Int.* 2018 Jan;38(1):136-43.
18. Paranaguá-Vezozzo DC, Ono SK, Alvarado-Mora MV, Farias AQ, Cunha-Silva M, França JI, et al. Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort. *Ann Hepatol.* 2014 Jul-Aug;13(4):386-93.
19. Lopes FL, Coelho FF, Kruger JA, Fonseca GM, Araujo RL, Jeismann VB, Herman P. Influence of Hepatocellular Carcinoma etiology in the survival after resection. *Arq Bras Cir Dig.* 2016 Apr-Jun;29(2):105-8.
20. European Association for the Study of the Liver, European Organization for Research and Treatment of Cancer. 2012. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2012;56(4):908-43.
21. Italian Association for the Study of the Liver (AISF); AISF Expert Panel; AISF Coordinating Committee, Bolondi L, Cillo U, Colombo M, Craxi A, Farinati F, Giannini EG, et al. Position paper of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF): the multidisciplinary clinical approach to hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis.* 2013;45:712-23.

22. Kudo M, Okanoue T, Japan Society of Hepatology. Management of Hepatocellular Carcinoma in Japan: consensus-based clinical practice manual proposed by the Japan Society of Hepatology. *Oncology*. 2007;72(Suppl. 1): 2-15.
23. Villanueva A. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2019;380(15):1450-62.
24. Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis*. 1999;19:329-38.
25. Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. *Semin Liver Dis*. 2010;30:61-74.
26. Cucchetti A, Djulbegovic B, Tsalatsanis A, Vitale A, Hozo I, Piscaglia F, et al. When to perform hepatic resection for intermediate stage hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2014;61(3):905-14.
27. Cescon M, Cucchetti A, Grazi GL, Ferrero A, Viganò L, Ercolani G, et al. Indication of the extent of hepatectomy for hepatocellular carcinoma on cirrhosis by a simple algorithm based on preoperative variables. *Arch Surg*. 2009; 144(1):57-63.
28. Ishizawa T, Hasegawa K, Aoki T, Takahashi M, Inoue Y, Sano K, et al. Neither multiple tumors nor portal hypertension are surgical contraindications for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2008;134(7):1908-16.
29. Yang SL, Liu LP, Yang S, Liu L, Ren JW, Fang X, Chen GG, Lai PBS. Preoperative serum alpha-fetoprotein and prognosis after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *BJS*. 2016;103:716-24.
30. Huang J, Xu L, Luo Y, He F, Zhang Y, Chen M. The inflammation-based scores to predict prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Med Oncol*. 2014;31(4):883.
31. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation and cancer. *Cell*. 2010;140(6):883-99.
32. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001;357(9255):539-45.
33. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013;13:759-71.
34. Smyth MJ, Godfrey DJ, Trapani JA. A fresh look at tumor immunosurveillance and immunotherapy. *Nat Immunol*. 2001; 2(4):293-9.

35. Pickup MW, Mouw JK, Weaver VM. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.* 2014;15:1243-53.
36. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016, 97, 4-27.
37. Han KQ, He XQ, Ma MY, Guo XD, Zhang XM, Chen J, et al. Inflammatory microenvironment and expression of chemokines in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2015;21(16):4864-74.
38. Yang JD, Nakamura L, Roberts LR. The tumor microenvironment in cancer in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets. *Semin Cancer Biol.* 2011;21:35-43.
39. Chen F, Zhuang X, Lin L, Yu P, Wang Y, Shi Y, et al. New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities. *BMC Med.* 2015;13:45.
40. Shimoda M, Mellody KT, Orimo A. Carcinoma-associated fibroblasts are a rate-limiting determinant for tumor progression. *Semin Cell Dev Biol.* 2010;21(1):19-25.
41. Lau EY, Lo J, Cheng BY, Ma MK, Lee JM, Ng JK, et al. Cancer associated fibroblasts regulate tumor initiating cell plasticity in hepatocellular carcinoma through c-MET/FRA1/HEY1 signaling. *Cell Rep.* 2016;15:1175-89.
42. Noy R, Pollard JW. Tumor associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity.* 2014;41:49-61.
43. Birgani MT, Carloni V. Tumor microenvironment, a paradigm in hepatocellular carcinoma progression and therapy. *Int J Mol Sci.* 2017;18(2):405.
44. Finn RS, Zhu AX. Targeting angiogenesis in hepatocellular carcinoma. Focus on VEGF e bevacizumab. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009;9:503-9.
45. Al-Husein B, Abdalla M, Trepte M, DeRemmer DL, Somanath PR. Anti-angiogenic therapy for cancer: an update. *Pharmacotherapy.* 2012;32:1095-11.
46. Kay AB. Paul Ehrlich and the early history of granulocytes. *Microbiol Spectr.* 2016;4(4). doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0032-201.
47. Adrover JM, Nicolás-Ávila JÁ, Hidalgo A. Aging: a temporal dimension for neutrophils. *Trends Immunol.* 2016;37(5):334-5.
48. Nicolás-Ávila JA, Adrover JM, Hidalgo A. Neutrophils in homeostasis, immunity and cancer. *Immunity.* 2017;46:15-28.

49. Singh SR, Rameshwar P, Siegel P. Targeting tumor microenvironment in cancer therapy. *Cancer Lett.* 2016;380:203-4.
50. Jamieson T, Clarke M, Steele CW, Samuel MS, Neumann J, Jung A, et al. Inhibition of CXCR2 profoundly suppresses inflammation-driven and spontaneous tumorigenesis. *J Clin Invest.* 2012;122:3127-44.
51. Katoh H, Wang D, Daikoku T, Sun H, Dey SK, Dubois RN. CXCR2-expressing myeloid-derived suppressor cells are essential to promote colitis-associated tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2013;24:631-44.
52. Silvestre-Roig C, Hidalgo A, Soehnlein O. Neutrophil heterogeneity: Implications for homeostasis and pathogenesis. *Blood.* 2016;127:2173-81.
53. Shen M, Hu P, Donskov F, Wang G, Liu Q, Du J. Tumor-associated neutrophils as new prognostic factor in cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(6):e98258.
54. Eruslanov EB, Bhojnagarwala PS, Quatromoni JG, Stephen TL, Rangnathan A, Desphande C, et al. Tumor-associated neutrophils stimulate T cell responses in early-stage human lung cancer. *J Clin Invest.* 2014;124:5466-80.
55. Yan B, Wei JJ, Yuan Y, Sun R, Li D, Luo L, et al. IL-6 cooperates with G-CSF to induce protumor function of neutrophils in bone marrow by enhancing STAT3 activation. *J Immunol.* 2013;190:5882-93.
56. Mishalian I, Bayuh R, Levy L, Zolotarov L, Michaeli J, Friedlender ZG. Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression. *Cancer Immunol Immunother.* 2013;62:1745-56.
57. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013;39:1-10.
58. Dunn GP, Lloyd J, Schreiber RD. The Immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity.* 2004;21:137-48.
59. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat. Immunol.* 2002;3:991-8.
60. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, Schreiber RD. IFN gamma and lymphocytes prevent primary tumor development and shape tumor immunogenicity. *Nature.* 2001;410:1107-11. doi: 10.1038/35074122.

61. Street SE, Cretney E, Smyth MJ. Perforin and interferon gama activities independently control tumor initiation, growth and metastasis. *Blood*. 2001;97:192-7.
62. Haemmerle M, Stone RL, Menter DG, Afshar-Kharghan V, Sood AK. The platelet lifeline to cancer: challenges and opportunities. *Cancer Cell*. 2018;33:965-83.
63. Pipili-Synetos E, Papadimitriou E, Maragoudakis ME. Evidence that platelets promote tube formation by endothelial cells on Matrigel. *Br J Pharmacol*. 1998;125:1252-7.
64. Kisucka J, Butterfield CE, Duda DG, Einchenberger SC, Saffaripour S, Ware J, et al. Platelets and platelet adhesion support angiogenesis while preventing excessive hemorrhage. *Proc Natl Sci USA*. 2006;103:855-60.
65. Huong PT, Nguyen LT, Nguyen BX, Lee SK, Bach DH. The role of platelets in the tumor-microenvironment and the drug resistance of cancer cells. *Cancers*. 2019;11(2):240.
66. Caine GJ, Lip GY, Blann AD. Platelet-derived VEGF, Flt-1, angiopoietin-1 and P-selectin in breast and prostate cancer: further evidence for a role of platelets in tumor angiogenesis. *Ann Med*. 2004;36:273-7.
67. Anene C, Graham AM, Boyne J, Roberts W. Platelet microparticle derived microRNA-Let-7a promotes the angiogenic switch. *Biochim. Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2018;16:791-801.
68. Van Dalum G, Holland L, Terstappen LW. Metastasis and circulating tumor cells. *EJIFCC*. 2012;23:87-97.
69. Ling G, Ji Q, Ye W, Ma D, Wang Y. Epithelial-mesenchymal transition regulated by p38/MAPK signaling pathways participates in vasculogenic mimicry formation in SHG44 cells transfected with TGF- β cDNA loaded lentivirus in vitro and in vivo. *Int J Oncol*. 2016;49:2387-98.
70. Egan K, Cooke N, Kenny D. Living in shear: platelets protect cancer cell from shear induced damage. *Metab Clin Exp*. 2014;31:697-704.
71. Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet-derived transforming growth factor-beta downregulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity. *Cancer Res*. 2009;69:7775-83.
72. Wang Y, Sun Y, Li D, Zhang L, Wang K, Zuo Y, Gartner TK, Liu J. Platelet P2Y12 is involved in murine pulmonary metastasis. *PLoS One*. 2013;8(11):e80780. doi: 10.1371/journal.pone.0080780.

73. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell*. 2010;140:883-99.
74. Roxburgh CS, McMillian DC. Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer. *Future Oncol*. 2010;6(1):149-63.
75. Alistaoglu M, Bilici A, Ustaalioglu BB, Konys V, Gucun M, Seker M, Gummus M. The effect of peripheral blood values on prognosis of patients with locally advanced gastric cancer before treatment. *Med Oncol* 2010;27:1060-5. doi: 10.1007/s12032-009-9335-4.
76. Coffelt SB, Kersten K, Doomebal CW, Weiden J, Vñjland K, Hau CS, et al. IL-17 producing YT cells and neutrophils conspire to promote breast cancer metastasis. *Nature*. 2015;522:345-8.
77. Dogan M, Guven ZT, Baykara M, Kos TF, Bal O. Neutrophil-lymphocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, neutrophil-platelet score and prognostic nutritional index: do they have prognostic significance in metastatic pancreas cancer? *Curr Med Res Opin*. 2018 May;34(5):857-63.
78. Malietzis G, Athanasiou T, Aziz O, Jenkins JT. The emerging role of neutrophil to lymphocyte ratio in determining colorectal cancer treatment outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2014 Nov;21(12):3938-46. doi: 10.1245/s10434-014-3815-2.
79. Huang J, Xu L, Luo Y, He F, Zhang Y, Chen M. The inflammation-based scores to predict prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Med Oncol*. 2014;31(4):883.
80. Najjar M, Agrawral S, Emond JC, Halazun KJ. Pretreatment neutrophil-lymphocyte ratio: useful prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma. *J Hepatocell Carcinoma*. 2018;5:17-28.
81. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ration in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(6):dju124.
82. Hirashima M, Higuchi S, Sakamoto K, Nishiyama T, Okada H. The ratio of neutrophils to lymphocytes and the phenotypes of neutrophils in patients with early gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998; 124(6):329-34.
83. Szor D, Ramos M, Zilberstein B, Cecconello I, Ribeiro Jr U. Neutrophil-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients who underwent potentially curative resection for gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2018;117(5):851-7.

84. Malietzis G, Athanasiou T, Aziz O, Jenkins JT. The emerging role of neutrophil to lymphocyte ratio in determining colorectal cancer treatment outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Ann Surg Oncol*. 2014 Nov;21(12):3938-46.
85. Ishibashi Y, Tsujimoto H, Hiraki S, Kumano I, Yaguchi Y, Horiguchi H, et al. Prognostic value of preoperative systemic immunoinflammatory measures in patients with esophageal cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018;25(11):3288-99.
86. Ercolani G, Grazi GL, Ravaioli M, Del Gaudio M, Gardini A, Cescon M, et al. Liver resection for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: univariate and multivariate analysis of risks factors for intrahepatic recurrence. *Ann Surg*. 2003;237:536-43.
87. European Association for the Study of the Liver and European Organisation for Research and Treatment of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56(4):908-43.
88. Yang SL, Liu LP, Yang S, Liu L, Ren JW, Fang X, et al. Preoperative serum alpha-fetoprotein and prognosis after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *BJS*. 2016;103:716-24.
89. Okamura Y, Ashida R, Ito T, Sugiura T, Mori K, Uesaka K, et al.: Preoperative neutrophil to lymphocyte ratio and prognostic nutritional index predict overall survival after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *World J Surg*. 2015;39:1501-9.
90. Zheng J, Cai J, Li H, Zeng K, He L, Fu H, et al. Neutrophil to Lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio as prognostic predictors for hepatocellular carcinoma patients with various treatments: a meta-analysis and systematic review. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44:967-81.
91. Hung CH, Lee JC, Cheng CH, Wu TH, Wang YC, Lee CF, et al. Impact of neutrophil to lymphocyte ratio on survival for hepatocellular carcinoma after curative resection. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*; 2017;24:559-69.
92. Xingshun Qi, Jianjun Li, Han Deng. Neutrophil-to-lymphocyte ratio for the prognostic assessment of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Oncotarget*. 2016;7(29):45282-301.
93. Huang PY, Chih-Chi W, Chih-Chi L, Sheng-Nan L, Jing-Houng W, Chao-Hung H, et al. Predictive effects of inflammatory scores in patients with BCLC 0-A hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Clin Med*. 2019;8(10)1676.

94. Wong L, Bozhilov K, Hernandez B, Kwee S, Chan O, Ellis L, et al. Underlying liver disease and advanced stage liver cancer are associated with elevated neutrophil-lymphocyte ratio. *Clin Mol Hepatol*. 2019;25:305-16.
95. Goh BKP, Kam JH, Lee SY, Chan CY, Allen JC, Jeyaraj P, et al. Significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio and prognostic nutritional index as preoperative predictors of early mortality after liver resection for huge (≥ 10 cm) hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*. 2016;113:621-7.
96. Kabir T, Ye M, Mohd Noor NA, Woon W, Junnarkar SP, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio plus platelet-to-lymphocyte ratio predicts the outcomes after curative resection for hepatocellular carcinoma. *Int J Hepatol*. 2019;4239463.
97. Stotz M, Pichler M, Absenger G, Szkandera J, Arminger F, Schaberl-Moser R, et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcome in patients with stage III colon cancer. *Br J Cancer*. 2014;110:435-40.
98. Zhou X, Du Y, Xu J, Huang Z, Qiu T, Wang X, et al. The preoperative lymphocyte to monocyte ratio predicts clinical outcomes in patients with stage II/III gastric cancer. *Tumor Biol* 2014;35:11659-66.
99. Zhou D, Zhang Y, Xu L, Zhou Z, Huang J, Chen M. A monocyte/granulocyte to lymphocyte ratio predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Nature*. 2015:15263.
100. Lin ZX, Ruan DY, Li Y, Wu DH, Ma XK, Chen J, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio predicts survival of patients with hepatocellular carcinoma after curative resection. *World J Gastroenterol*, 2015;21(38):10898-906.
101. Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, Bruns DE, Gatsonis CA, Hooft L, et al. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration. *BMJ Open*. 2016;6:e012799
102. Kragelund SH, Kjaersgaard M, Jensen-Fangel S, Leth RA, Ank N. Research Electronic Data Capture (REDCap) used as an audit tool with a built-in database. *J Biomed Inform*. 2018 May;81:112-8.
103. Truty MJ, Vauthey JN. Surgical resection of high-risk hepatocellular carcinoma: patient selection, preoperative considerations and operative technique. *Ann Surg Oncol*. 2010;17:1219-25.

104. Mitchell DG, Bruix J, Sherman M, Sirlin CR. LI-RADS (Liver Imaging Reporting and Data System): summary, discussion and consensus of the LI-RADS management working group and future directions. *Hepatology* 2015;61(3):1056-65.
105. El-Serag, Kanwal F. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the United States: where are we? Where do we go? *Hepatology*. 2014;60:1767-75.
106. Umemura T, Ichijo T, Yoshizawa K, Tanaka E, Kurosawa K. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan. *J Gastroenterol*. 2009;44(suppl 19):102-7.
107. Choo SP, Tan WLT, Goh BKP, Tai WM, Zhu AX. Comparison of hepatocellular carcinoma in eastern and western populations. *Cancer*. 2006;122:3430-46.
108. Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, et al. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol*. 2002;155:323-33.
109. El-Serag HB, Lau M, Eschbach K, Davila J, Goodwin J. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Hispanics in the United States. *Arch Intern Med*. 2007;167:1983-9.
110. Yuen M-F, Chen DS, Dusheiko GM, Janssen HLA, Lau DTY, Locarnini SA, Peters MG, et al. Hepatitis B virus infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;4:18035.
111. Tanaka J, Koyama T, Mizui M, Uchida S, Katayama K, Matsuo J, et al. Total numbers of undiagnosed carriers of hepatitis C and B viruses in Japan estimated by age- and area-specific prevalence on the national scale. *Intervirology*. 2011;54:185-95.
112. Makarova-Rusher OV, Altekruse SF, McNeel TS, Ulahannan S, Duffy AG, Graubard BI, et al. Population-attributable fractions of risk factors for hepatocellular carcinoma in the United States. *Cancer*. 2016;122:1757-65.
113. Massarweh N, El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Control*. 2017;24(3):1-11.
114. Lok AS, Seef LB, Morgan TR, di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. *Gastroenterology*. 2009;136:138-48.

115. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Eng J Med*. 2011;365:1118-27.
116. Fattovich G, Stroffolini T, Zagni I, Donato F. Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: Incidence and risk factors. *Gastroenterology*. 2004;5(Suppl 1):S35-S50.
117. Beard RE, Hanto DW, Gautam S, Miksad RA. A comparison of surgical outcomes for noncirrhotic and cirrhotic hepatocellular carcinoma patients in a Western institution. *Surgery*. 2013;154(3):545-55.
118. Yang HJ, Guo Z, Yang TY, Jiang JH, Qi YP, Li JJ, et al. Blood neutrophil-lymphocyte ratio predicts survival after hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a propensity score-based analysis. *World J Gastroenterol*. 2016;22(21):5088-95.
119. Bellissimo F, Pinzone MR, Cacopardo B, Nunnari G. Diagnostic and management of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2015;21(42):12003-21.
120. Choi SB, Kim HJ, Song TJ, Ahn HS, Choi SY. Influence of clinically significant portal hypertension on surgical outcomes and survival following hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*; 2014;21:639-47.
121. Umemura T, Ichijo T, Yoshizawa K, Tanaka E, Kurosawa K. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan. *J Gastroenterol*. 2009;44(suppl 19):102-7.
122. White DL, Kanwal F, El-Serag HB. Association between nonalcoholic fatty liver disease and risk for hepatocellular cancer, based on systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:1342-59.
123. Becker-Assmann J, Fard-Aghaie MH, Kantas A, Makridis G, Reese T, Wagner KC, et al. Diagnostic and prognostic significance of AFP in hepatocellular carcinoma. *Chirurg*. 2020 Sep;91(9):769-77.
124. Wang Y, Peng C, Cheng Z, Wang X, Wu L, Li J, et al. The prognostic significance of preoperative neutrophil-lymphocyte ratio in patients with hepatocellular carcinoma receiving hepatectomy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Surg*. 2018;55(2018):73-80.
125. Chen Q, Li F, Zhong C, Zou Y, Li Z, Gao Y, et al. Inflammatory score system using preoperative inflammatory markers to predict prognosis for hepatocellular carcinoma after hepatectomy: a cohort study. *J Cancer*. 2020;11(17):4947-56.

126. Liao W, Zhang J, Zhu Q, Qin L, Yao W, Lei B, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a new prognostic marker in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Transl Oncol*. 2014;7:248-55.
127. Wang D, Bai N, Hu X, OuYang XW, Yao L, Tao YM, et al. Preoperative inflammatory markers of NLR and PLR as indicators of poor prognosis in resectable HCC. *Peer J*. 2019;7:e7132.
128. Lin ZX, Ruan DY, Li Y, Ma XK, Chen J, Chen ZH, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio predicts survival of patients with hepatocellular carcinoma after curative resection. *World J Gastroenterol*. 2015;21(38):10898-906.
129. Galun D, Bogdanovic A, Kovac JD, Bulajic P, Loncar Z, Zuvela M. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor after curative-intent surgery for hepatocellular carcinoma: experience from a developing country. *Cancer Manag Res*. 2018;10 977-88.
130. Wang Y, Peng C, Cheng Z, Wang X, Wu L, Li J, et al. The prognostic significance of preoperative neutrophil-lymphocyte ratio in patients with hepatocellular carcinoma receiving hepatectomy: a systematic review and meta-analysis. *Int J Surg*. 2018;55:73-80.
131. Hoshimoto S, Hishinuma S, Shirakawa H, Tomikawa M, Ozawa I, Ogata Y. Validation and clinical usefulness of pre and pos-operative systemic inflammatory parameters as prognostic markers in patients with potentially resectable pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2020 Mar;20(2):239-46.
132. Bowen RC, Little NAB, Harmer JR, Ma J, Mirabelli LG, Roller KD, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as prognostic indicator in gastrointestinal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(19):32171-89.
133. Warren JL, Yabroff KR, Meekins A, Topor M, Lamont EB, Brown ML. Evaluation of trends in the cost of initial cancer treatment. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100:888-97.
134. Associação Médica Brasileira. Classificação Brasileira Hierarquizada de Procedimentos Médicos [internet]. 2018 [acesso em 12 set 2020]. Disponível em: <https://amb.org.br/slide/cbhpm-2018/>.
135. Halazun KJ, Aldoori A, Malik HZ, Al-Mukhtar A, Prasad KR, Toogood GJ, et al. Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases. *Eur J Surg Oncol*. 2008;34(1):55-60.

136. Gomez D, Farid S, Malik HZ, Young AL, Toogood GJ, Lodge JP, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic predictor after curative resection for hepatocellular carcinoma. *World J Surg.* 2008;32(8):1757-62.
137. Chen TM, CC Lin, Huang PT, Wen CF. Neutrophil-to-lymphocyte ratio associated with mortality in early hepatocellular carcinoma patients after radiofrequency-ablation. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27(3):553-61.
138. Huang ZL, Luo J, Chen MS, Li JQ, Shi M. Blood neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol.* 2011;22(5):702-9.
139. Bertuzzo VR, Cescon M, Ravaioli M, Grazi GL, Ercolani G, Del Gaudio M, et al. Analysis of factors affecting recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation with special focus on inflammatory markers. *Transplantation.* 2011;91(11):1279-86.
140. Sullivan KM, Groeschl RT, Turaga KK, Tsai S, Christians KK, White SB, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictor of outcomes for patients with hepatocellular carcinoma: a western perspective. *J Surg Oncol.* 2014;109:95-7.
141. Young AL, Adair R, Prasad KR, Toogood GJ, Lodge JPA. Hepatocellular carcinoma within a noncirrhotic, nonfibrotic, seronegative liver: surgical approaches and outcomes. *J Am Coll Surg.* 2012;214(2):174-83.
142. Kaida T, Nitta H, Kitano Y, Yamamura K, Arima K, Higashi T, et al. Preoperative platelet-to-lymphocyte ratio can predict recurrence beyond the Milan criteria after hepatectomy for patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2018;47(10):991-9.
143. Zhao Y, Si G, Zhu F, Hui J, Cai S, Huang C, et al. Prognostic role of platelet-to-lymphocyte ratio in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2017;8(14):22854-62.
144. Diakos CI, Charles KA, McMillan DC, Clarke SJ. Cancer-related inflammation and treatment effectiveness. *Lancet Oncol.* 2014;15(11):e493-503.
145. Sanghera C, Teh JJ, Pinato DJ. The systemic inflammatory response as a source of biomarkers and therapeutic targets in hepatocellular carcinoma. *Liver International.* 2019;39:2008-23.
146. Li GJ, Xu HW, Ji JJ, Yang F, Gao BQ. Prognostic value of preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio in pancreatic adenocarcinoma. *Onco Targets Ther.* 2016;9:1085-92.

147. Tan D, Fu Y, Tong W, Li F. Prognostic significance of lymphocyte-to-monocyte ratio in colorectal cancer: a meta-analysis. *Int J Surg*. 2018 Jul;55:128-38.
148. Shirabe K, Mano Y, Muto J, Matono R, Motomura T, Toshima T, et al. Role of tumor-associated macrophages in the progression of hepatocellular carcinoma. *Surg Today*. 2012;42:1-7.
149. Kan Z, Zheng H, Liu X, Li S, Barber TD, Gong Z, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in hepatocellular carcinoma. *Genome Res*. 2013;23:1422-33.
150. Zucman-Rossi J, Villanueva A, Nault JC, Llovet JM. Genetic landscape and biomarkers of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2015;149(5):1226-39.
151. Sia D, Jiao Y, Martinez-Quetglas I, Kuchuk O, Villacorta-Martin C, Castro de Moura M, et al. Identification of an immune-specific class of hepatocellular carcinoma, based on molecular features. *Gastroenterology*. 2017;153:812-26.
152. Villanueva A, Hioshida Y, Battiston C, Tovar V, Sia D, Alsinet C, et al. Combining clinical, pathology and gene expression data to predict recurrence of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2011;140(5):1501-12.
153. Schulze K, Nault J-C, Villanueva A. Genetic profiling of hepatocellular carcinoma using next-generation sequencing. *J Hepatol*. 2016;65:1031-42.
154. Wang G, Lu X, Dey P, Deng P, Wu CC, Jiang S, et al. Targeting YAP-Dependent MDSC infiltration impairs tumor progression. *Cancer Discov*. 2016;6: 80-95.
155. Kuang DM, Zhao Q, Wu Y, Peng C, Wang J, Xu Z, et al. Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2011;54(5):948-55.
156. Bambace N, Holmes C. The platelet contribution to cancer progression. *J Thromb Haemost*. 2011;9(2):237-49.
157. Nieswandt B, Hafner M, Echtenacher B, Männel DN. Lysis of tumor cells by natural killer cells in mice is impeded by platelets. *Cancer Res*. 1999;59(6):1295-300.
158. Lee CH, Lin YJ, Lin CC, Yen CL, Shen CH, Chang CJ, et al. Pretreatment platelet count early predicts extrahepatic metastasis of human hepatoma. *Liver Int*. 2015;35(10):2327-36.

159. Schumacher K, Haensch W, Roefzaad C, Schlang PM. Prognostic significance of activated CD8(+) T cell infiltrations within esophageal carcinomas. *Cancer Res.* 2001;61:3932-6.
160. Mleenik B, Tosolini M, Kirilovsky A, Berger A, Bindea G, Meatchi T, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with safe of the local immune reaction. *J Clin Oncol.* 2011;29(6):610-8.
161. Unitt E, Marshall A, Gelson W, Rushbrook SM, Davies S, Vowler SL, et al. Tumor lymphocytic infiltrate and recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *J Hepatol.* 2006;45(2):246-53.
162. Levvero M, Zucman-Rossi J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2016. 64(suppl 1):S84-S101.
163. Esnaola NF, Mirza N, Lauwers GY, Ikai I, Regimbeau JM, Belghiti J, et al. Comparison of clinicopathologic characteristics and outcomes after resection in patients with hepatocellular carcinoma treated in the United States, France, and Japan. *Ann Surg.* 2003 Nov;238(5):711-9.
164. Choi SB, Kim HJ, Song TJ, Ahn HS, Choi SY. Influence of clinically significant portal hypertension on surgical outcomes and survival following hepatectomy for hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2014;21:639-47.
165. Giannini EG, Testa R, Savarino V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ.* 2005;172: 367-79.
166. Wang ZX, Jiang CP, Cao Y, Zhang G, Chen WB, Ding YT. Preoperative serum liver enzyme markers for predicting early recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2015;14:178-85.
167. Lim KC, Chow PK, Allen JC, Chia GS, Lim M, Cheow PC, et al. Microvascular invasion is a better predictor of tumor recurrence and overall survival following surgical resection for hepatocellular carcinoma compared to the Milan criteria. *Ann Surg.* 2011;254:108-13.
168. Sumie S, Nakashima O, Okuda K, Kuromatsu R, Kawaguchi A, Nakano M, et al. The significance of classifying microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2014;21:1002-9.
169. Buergy D, Wenz F, Groden C, Brockmann MA. Tumor-platelet interaction in solid tumors. *Int J Cancer.* 2012;130:2747-60.

- 170.** Qing P, Zhang JY, Xu XS, Song SD, Qu K, Chen W, et al. Significance of platelet count and platelet-based models for hepatocellular carcinoma recurrence. *World J Gastroenterol*. 2015 May 14;21(18):5607-21.