

GLEICY LUZ REINOSO PEREIRA

**Importância da elastografia hepática transitória por
(FibroScan®) em prever risco de carcinoma hepatocelular
em pacientes cirróticos por vírus da hepatite C**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Suzane Kioko Ono

São Paulo

2022

GLEICY LUZ REINOSO PEREIRA

**Importância da elastografia hepática transitória por
(FibroScan®) em prever risco de carcinoma hepatocelular
em pacientes cirróticos por vírus da hepatite C**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Programa de Ciências em Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Suzane Kioko Ono

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Pereira, Gleicy Luz Reinoso

Importância da elastografia hepática transitória por (FibroScan®) em predizer risco de carcinoma hepatocelular em pacientes cirróticos por vírus da hepatite C / Gleicy Luz Reinoso Pereira. -- São Paulo, 2022.

Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Ciências em Gastroenterologia.
Orientadora: Suzane Kioko Ono.

Descritores: 1.Elastografia 2.Cirrose 3.Carcinoma hepatocelular 4.Hepatite C

USP/FM/DBD-215/2022

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Primeiramente, este trabalho é dedicado a Deus pela oportunidade recebida e a toda minha família, em especial a meu amado esposo Paulo. Agradeço pelo suporte que recebi durante cada etapa de sua realização e, ainda, por todo incentivo durante minha vida acadêmica.

Ainda no âmbito familiar, agradeço a meus pais e, especialmente, a minha mãe Marli. Minha primeira professora, aquela me ensinou o gosto pela leitura, bem como exemplo sempre presente de dedicação aos estudos e estímulo afetivo em todos os momentos.

A meu querido irmão Cleidimir, e minha amada prima Neusa, pessoas sempre presentes e muito especiais que sempre me apoiaram e torceram por mim.

Dedico a meu estimado professor Dr. Aristides, grande mestre que me ajudou desde os primeiros passos na especialidade de Gastroenterologia, pessoa sempre tão amável e gentil, grande exemplo profissional e ser humano ímpar.

À professora Dra. Denise, profissional brilhante e inspiradora, grande referência incansável nos estudos de elastografia, pessoa que me ensinou ultrassonografia com grandes lições de vida. Foram anos de muito aprendizado e amizade adquirida.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Flair José Carrilho primeiro, por me acolher após minha chegada de Barcelona, e me oferecer a oportunidade de realizar este estudo, pela confiança, bem como seu exemplo de conquistas, e formação profissional.

À Profa. Dra Denise Cerqueira Paranaguá Vezozzo, pelo incentivo, garra e comprometimento. Por seu exemplo profissional, bem como de resiliência e sabedoria. Agradeço pela amizade, companheirismo e incentivo.

À Profa. Dra. Suzane Kioko Ono, grande pesquisadora, exemplo profissional, acadêmico e de apoio para realização deste estudo. Minha gratidão por todos seus fundamentais ensinamentos.

As funcionárias da Divisão de Gastroenterologia, Sra. Cláudia, Sra. Fátima, Sra. Raeldes e Sra. Conceição pelo apoio em vários momentos durante a elaboração desse estudo. Sempre tão disponíveis e colaborativos.

Aos professores Dr. Alberto Farias, Dra. Aline Chagas, Dra Débora Terrabuio, Dra Wanda Caly, Dr. Daniel Mazo e Dr. Lucas Nacif pelas brilhantes sugestões no projeto e às colegas Dras. Marília Mischiati e Bruna Moutinho pelo auxílio no projeto de pesquisa.

Ao estatístico Sr. João Ítalo Dias França, grande profissional, habilidoso, dedicado e sempre disposto a ajudar.

A Sra. Vilma Libério por sua paciência com os alunos e atenção em cada etapa, e as Sras. Rute Tomida e Nilda Lima, que me auxiliaram na correção do trabalho. Apoio fundamental para elaboração desta pesquisa.

*“Dá instrução ao sábio, e ele se fará mais sábio; ensina o
justo e ele aumentará em entendimento”*

Provérbios 9:9

Normalização adotada

Esta dissertação 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 ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVO	4
3 MATERIAL E MÉTODOS	6
3.1 <i>Desenho clínico e seleção de pacientes.</i>	7
3.2 <i>Protocolo de estudo e variáveis avaliadas</i>	8
3.3 <i>Modelo do estudo</i>	12
3.4 <i>Considerações éticas</i>	13
3.5 <i>Análise estatística</i>	13
4 RESULTADOS	15
4.1 <i>Características clínicas, dados laboratoriais e marcadores de fibrose</i>	16
4.2 <i>Características entre os grupos com CHC e sem CHC</i>	18
4.3 <i>Dados Suplementares</i>	21
4.4 <i>C-statistic test comparando os modelos finais</i>	22
4.5 <i>Variáveis independentemente associadas à ocorrência de CHC</i>	22
4.6 <i>Incidência cumulativa de CHC de acordo com a medida de rigidez hepática</i>	23
5 DISCUSSÃO	24
6 CONCLUSÕES	29
7 REFERÊNCIAS.....	31
8 ANEXOS	37
<i>Aprovação Plataforma Brasil</i>	38
<i>Apresentação de posters em Congressos</i>	41
<i>Premiação ElastoRio</i>	43
<i>Pré Print Publicação do Arquivo</i>	44

Listas

ABREVIATURAS E SIGLAS

(AFP)	Alfa fetoproteína
(ALT)	alanina aminotransferase
(APRI)	índice da relação aspartato aminotransferase sobre plaquetas
(AST)	aspartato aminotransferase
(CAP)	parâmetro de atenuação controlada
(CHC)	Carcinoma Hepatocelular
(dB/m)	decibéis por metro
(DM)	diabetes mellitus tipo 2
(FA)	fosfatase alcalina
(FIB-4)	índice de fibrose com 4 elementos
(g/dL)	grama por decilitro
(HR)	razão de risco
(HVPG)	Gradiente de pressão venosa hepática
(IC)	intervalo de confiança
(IMC)	índice de massa corporal
(INR)	razão normalizada internacional
(IQR / M)	intervalo interquartil para a mediana
(kPa)	kiloPascal
(Ln)	logaritmo nominal
(LSM)	Medição de rigidez hepática
(MELD)	modelo para doença hepática terminal
(mg/dL)	milograma por decilitro
(mm)	milímetros
(mm ³)	milímetros cúbicos
(MRE)	elastografia por ressonância magnética
(ng/mL)	nanograma por decilitro
(PCR)	reação em cadeia da polimerase

(RNA)	Ácido Ribonucleico
(RVS)	resposta virológica sustentada
(TE)	Elastografia Transitória
(U/L)	unidades por litro
(US)	Ultrassonografia abdominal
(VHC)	Vírus da Hepatite C

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1 -	Critérios e Classificação Child-Pugh	9
Tabela 2 -	Características clínicas, dados laboratoriais e marcadores de fibrose.....	17
Tabela 3 -	Características entre os grupos com CHC e sem CHC	19
	Dados Suplementares	21
	C-statistic test comparando os modelos finais.....	22
Tabela 4 -	Variáveis independentemente associadas à ocorrência de CHC.....	22
Figura 1 -	APRI.....	9
Figura 2 -	FIB 4.....	9
Figura 3 -	Exame de Elastografia hepática por FibroScan®, e aparelho US abdominal ACUSON S2000®	11
Figura 4 -	Imagem do Elastograma.....	11
Figura 5 -	Organograma do Estudo	12
Figura 6 -	Incidência cumulativa de CHC de acordo com a medida de rigidez hepática	23

RESUMO

Pereira GLR. *Importância da elastografia hepática transitória por (FibroScan®) em prever risco de carcinoma hepatocelular em pacientes cirróticos por vírus da hepatite C* [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Introdução: A cirrose é o principal fator de risco para desenvolvimento do carcinoma hepatocelular CHC e importante causa de mortalidade. À medida que a fibrose desenvolve-se, aumentam os riscos de complicações clínicas, dentre os quais o CHC que representa uma expressiva letalidade, inclusive porque em grande parte das vezes já é diagnosticado em estágio avançado. Atualmente, vários métodos não invasivos tornaram-se disponíveis para avaliar o grau de fibrose e as recentes publicações vêm apresentando o desenvolvimento de risco, à medida que ocorre o aumento de rigidez hepática. A presença de Gradiente de pressão venosa hepática (HVPG) > 10 mmHg está associada a um aumento do risco de CHC em pacientes cirróticos de diversas etiologias. **Objetivos:** avaliar os valores de medição da rigidez hepática por elastografia transitória (TE) relacionados a risco de carcinoma hepatocelular (CHC) em uma coorte prospectiva de pacientes brasileiros com cirrose por vírus da hepatite C (VHC). **Material e métodos:** 99 pacientes com VHC e medida de rigidez hepática acima de 12 kPa foram incluídos, consecutivamente, entre 2011 e 2016. As variáveis clínicas foram avaliadas e a ocorrência de CHC foi documentada. Os métodos de Kaplan-Meier com teste de log-rank avaliaram a sobrevida e os testes univariados e multivariados de Cox, discriminaram a associação entre as variáveis e os resultados clínicos. **Resultados:** A média de idade foi $57,8 \pm 10,6$ anos. 20 (20,2%) pacientes desenvolveram CHC, em um período médio de 3,3 anos. Na análise de regressão logística univariada, as variáveis associadas à ocorrência de CHC foram: contagem de plaquetas mais baixas ($p = 0,0446$), valores mais elevados de alfa-fetoproteína sérica ($p = 0,0041$) e de bilirrubina ($p = 0,0008$), elevada pontuação do MELD ($p = 0,0068$) e valor alto de rigidez hepática por TE ($p = 0,0354$). O melhor valor de corte para risco de CHC foi acima de 21,1kPa (HR: 5,548; IC 95%: 1,244-24,766; $p = 0,025$), com risco independente associado ao desenvolvimento de CHC. **Conclusão:** O elevado valor de rigidez hepática está relacionado substancialmente a um risco aumentado de ocorrência de CHC em pacientes brasileiros com cirrose por VHC. Pacientes com TE LSM > 21,1 kPa tiveram uma chance 5,54 maior de desenvolver CHC durante o acompanhamento em comparação com pacientes com LSM inferior no início do estudo.

Descritores: Elastografia; Cirrose; Carcinoma hepatocelular; Hepatite C.

ABSTRACT

Pereira GLR. *Importance of transient hepatic elastography (FibroScan®) in predicting risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C cirrhosis* [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Introduction: Cirrhosis is the main risk factor for the development of Hepatocellular Carcinoma (HCC), and an important cause of mortality. As fibrosis develops, the risks of clinical complications increase, among which HCC represents an expressive lethality, including because it is often diagnosed at an advanced stage. Currently several noninvasive methods have become available to assess the degree of fibrosis and recent publications have presented the development of risk as liver stiffness increases. The presence of hepatic venous pressure gradient (HVPG) > 10 mmHg is associated with an increased risk of HCC in cirrhotic patients of various etiologies. **Objectives:** To evaluate the measurement values of liver stiffness by transient elastography (TE) related to the risk of hepatocellular carcinoma (HCC) in a prospective cohort of Brazilian patients with cirrhosis caused by hepatitis C virus (HCV). **Material and methods:** 99 patients with HCV and liver stiffness measurement above 12 kPa were consecutively included between 2011 and 2016. Clinical variables were evaluated and the occurrence of HCC was documented. The Kaplan-Meier methods with log-rank test evaluated survival, and univariate and multivariate Cox tests discriminated the association between variables and clinical outcomes. **Results:** The mean age was 57.8 ± 10.6 years. 20 (20.2%) patients developed HCC over a mean period of 3.3 years. In the univariate logistic regression analysis, the variables associated with the occurrence of HCC were: lower platelet count ($p = 0.0446$), higher serum alpha-fetoprotein ($p = 0.0041$) and bilirubin ($p = 0.0008$), high MELD score ($p = 0.0068$) and high liver stiffness value by ET ($p = 0.0354$). The best cut-off value for HCC risk was above 21.1kPa (HR: 5.548; 95% CI: 1.244-24.766; $p = 0.025$), with an independent risk associated with the development of HCC. **Conclusion:** Elevated liver stiffness is substantially related to an increased risk of occurrence of HCC in Brazilian patients with cirrhosis due to HCV. Patients with TE LSM > 21.1 kPa had a 5.54 higher chance of developing HCC during follow-up compared to patients with lower LSM at the beginning of the study.

Descriptors: Elastography; Cirrhosis; Hepatocellular carcinoma; Hepatitis C.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O câncer de fígado é uma doença maligna fatal, comum que atinge mais de 1 milhão de pessoas por ano. A incidência anual de CHC aumentou em todo o mundo, afetando entre 2 e 3% dos pacientes com cirrose no ocidente e até 11% nos países asiáticos ^{1,2}.

Um estudo anterior sugeriu a associação entre hipertensão portal e desenvolvimento de CHC na cirrose ^{3}. Gradiente de pressão venosa hepática (HVPG) > 10 mmHg foi associada a um aumento de seis vezes no risco de CHC em pacientes com cirrose compensada. Na verdade, o uso de TE na doença hepática crônica estratifica o grau de fibrose, que também está associado a complicações hepáticas ao longo do tempo, incluindo o risco de desenvolvimento de CHC ^{4}. No entanto, a grande maioria dos estudos de imagem de elasticidade em indivíduos com risco de ocorrência de CHC foi realizada em uma população asiática, abrangendo etiologias heterogêneas e diferentes de doença hepática, agrupando casos cirróticos e não cirróticos. Estudos observacionais de países ocidentais são raros.

Atualmente, a base racional para a vigilância do CHC em pacientes com cirrose é sustentada por exames de ultrassonografia (US) abdominal a cada 6 meses, fortemente recomendados pelas Sociedades de Hepatologia em todo o mundo ^{5,6}. No entanto, apesar dos benefícios relatados da vigilância ^{7}, a implementação e adesão às estratégias de rastreamento do CHC podem ser difíceis na prática ^{8}. Dessa forma, as estratégias que poderiam identificar prontamente os pacientes com alto risco de desenvolvimento de CHC entre todos os pacientes com cirrose, são uma necessidade importante não atendida. Esta abordagem pode ajudar na detecção

precoce de CHC, permitindo a implementação de tratamentos curativos. Além disso, apesar de relatórios anteriores avaliarem a estratificação de risco de CHC por TE em coortes de HCV ^{9,10}, não há dados em populações mistas, como entre os brasileiros. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o grau de fibrose hepática relacionado ao valor do TE, como fator de risco para CHC em uma coorte prospectiva ocidental de pacientes brasileiros com cirrose relacionada ao HCV. Em nossa prática clínica, em razão das ruins condições de vigilância e das dificuldades a acesso aos serviços de saúde, em grande parte das vezes, os pacientes já se apresentam em estágio avançado na ocasião do diagnóstico do CHC, o que, conseqüentemente, reduz as opções de cura e tratamento.

2 OBJETIVO

2 OBJETIVO

Avaliar os valores de medição da rigidez hepática por elastografia transitória (TE) relacionada ao risco de carcinoma hepatocelular (CHC) em uma coorte prospectiva de pacientes brasileiros com cirrose causada pelo vírus da hepatite C (VHC).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Desenho clínico e seleção de pacientes

Um estudo prospectivo foi realizado em uma coorte de 99 pacientes consecutivos (não internados) com cirrose relacionada ao VHC acompanhados na Divisão de Gastroenterologia Clínica e Hepatologia do Hospital das Clínicas do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Brasil (público terciário centro de saúde) entre 2011 e 2016.

Os critérios de inclusão no estudo foram : positividade do RNA da reação em cadeia da polimerase de VHC, pelo menos, 6 meses com uma medição de rigidez hepática (LSM) mínima de 12 kPa por TE. Os critérios de exclusão foram idade menor de 18 anos; Coinfecção com vírus da hepatite B ou vírus da imunodeficiência humana, ingestão significativa e atual de álcool (> 100 g / semana), outra doença hepática crônica, hipertensão portal não cirrótica, história de transplante de fígado ou recusa a participar do estudo. Tais critérios foram utilizados para exclusão, tendo em vista a possibilidade de serem fatores confundidores que, conseqüentemente, pudessem alterar a confiabilidade do estudo, já que as diferentes etiologias de cirrose podem alterar os valores de referência para fibrose em elastografia , bem como uso ativo do álcool .

3.2 Protocolo de estudo e variáveis avaliadas

Os dados antropométricos e clínicos na inclusão do estudo foram coletados: sexo, idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), presença de Diabetes mellitus (DM) tipo 2, ingestão anterior de álcool e tabagismo. Estes pacientes também foram avaliados com bioquímica sérica e escores de função hepática, incluindo genótipo de VHC, alfa-fetoproteína (AFP), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST), bilirrubina total (BT), gama-glutamil transpeptidase (GGT), contagem de plaquetas, razão normalizada internacional (INR), albumina, uréia, glicose, creatinina.

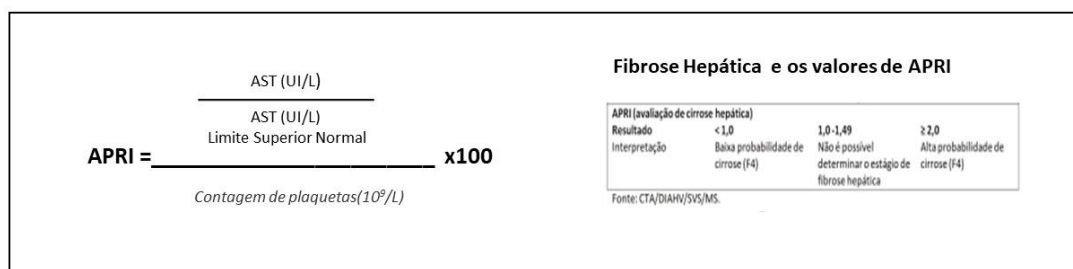
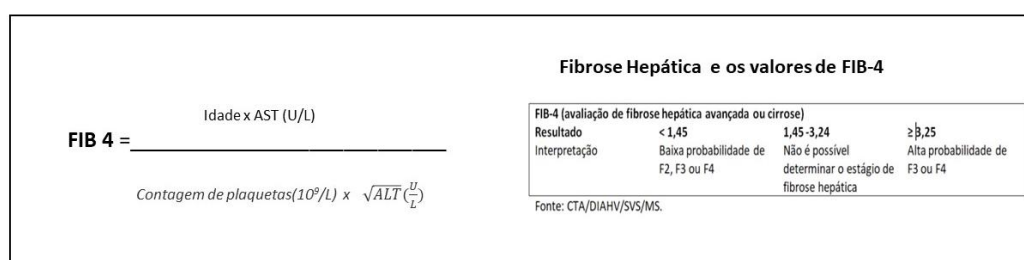
Calculamos ainda como critérios para pontuações de gravidade da doença a pontuação Child-Pugh (TABELA 1) e a escala MELD - Modelo para Doença Hepática em Estágio Final. Este modelo é comumente utilizado para priorizar a alocação dos pacientes para transplantes hepáticos. A escala MELD varia, de acordo com a gravidade de 6 a 40, pode ser calculada utilizando a seguinte fórmula: **MELD** = 3,78 [Ln bilirrubina sérica (mg/dL)] + 11,2 [Ln INR] + 9,57 [Ln creatinina sérica (mg/dL)] + 6,43

A pontuação de Child - Pugh pode variar entre 5 e 15 pontos, sendo os pacientes denominados como **Child A** aqueles cujo escore totalizaram 5 ou 6, que seriam portadores de uma cirrose considerada “compensada”; os **Child B**, aqueles que alcançaram entre 7 e 9 pontos; e **Child C**, os que tiveram escore mais elevados entre 10 e 15 pontos, considerados, dessa forma, como pacientes mais graves.

Tabela 1 - Critérios e Classificação Child-Pugh

Fator	1 ponto	2 pontos	3 pontos
Bilirrubina (mg/dL)	<2,0	2,0-3,0	>3,0
Albumina (g/dL)	>3,5	3,0-3,5	<3,0
Ascite	Nenhuma	Facilmente controlada	Mal controlada
Distúrbio neurológico	Nenhum	Mínimo	Coma avançado
Tempo de Protrombina (INR)	<1,7	1,7-2,3	>2,3
Classificação	(A) 5-6 pontos	(B) 7-9 pontos	(C) 10-15 pontos

Dois testes não invasivos séricos para avaliação da fibrose hepática— também foram calculados na inclusão do estudo. A pontuação **APRI** [(AST / ULN) x100] / contagem de plaquetas 10⁹ / L, ULN: limite superior do normal] (Figura 1) e pontuação de fibrose-4 (**FIB-4**) {[idade (anos) x AST (U / L)] / [contagem de plaquetas (10⁹ / L) x ALT (U / L)]} — (Figura 2).

**Figura 1 - APRI****Figura 2 - FIB-4**

Os pacientes foram submetidos à US abdominal ACUSON S2000®, Siemens, Alemanha com transdutor 4C1 no mesmo momento da avaliação da TE (ambos realizados por operador habilitado) na inclusão do estudo. A ausência de lesões hepáticas suspeitas focais de malignidade também foi registrada.

A realização do exame de elastografia (Figura 3) é realizada com o paciente deitado em decúbito dorsal e o membro superior direito semiflexionado acima da cabeça. Na linha axilar média, na altura do apêndice xifóide (geralmente, na mesma localização onde é realizada a biópsia hepática) o transdutor é colocado perpendicular à pele. O gráfico do elastograma deve ter a espessura de, pelo menos, 10 mm. O modo M (movimento) apresentado no primeiro quadro (Figura 4) representa a flexão do som e varia de acordo com a respiração. A escala de medidas de profundidade no eixo vertical em relação ao eixo horizontal, permite garantir que não haja interferência em relação a grandes vasos ou arcos costais. Foram realizados, pelo menos dez disparos válidos nesses pacientes. A LSM e o grau de esteatose com parâmetro de atenuação controlada (CAP) foram obtidos usando o dispositivo FibroScan® 402 alimentado por VCTE (EchoSens, Paris, França) equipado com a sonda M padrão. O LSM foi considerado confiável quando os seguintes critérios foram preenchidos: 10 medições válidas, taxa de sucesso > 60% e razão do intervalo interquartil para a mediana ($IQR / M \leq 30\%$). O exame TE foi realizado, de acordo com a descrição anterior^{11}.



FONTE: Imagens cedidas pela Professora Dra. Denise Vezozzo

Figura 3 - Exame de Elastografia hepática por FibroScan®, à esquerda e ao fundo o aparelho US abdominal ACUSON S2000®

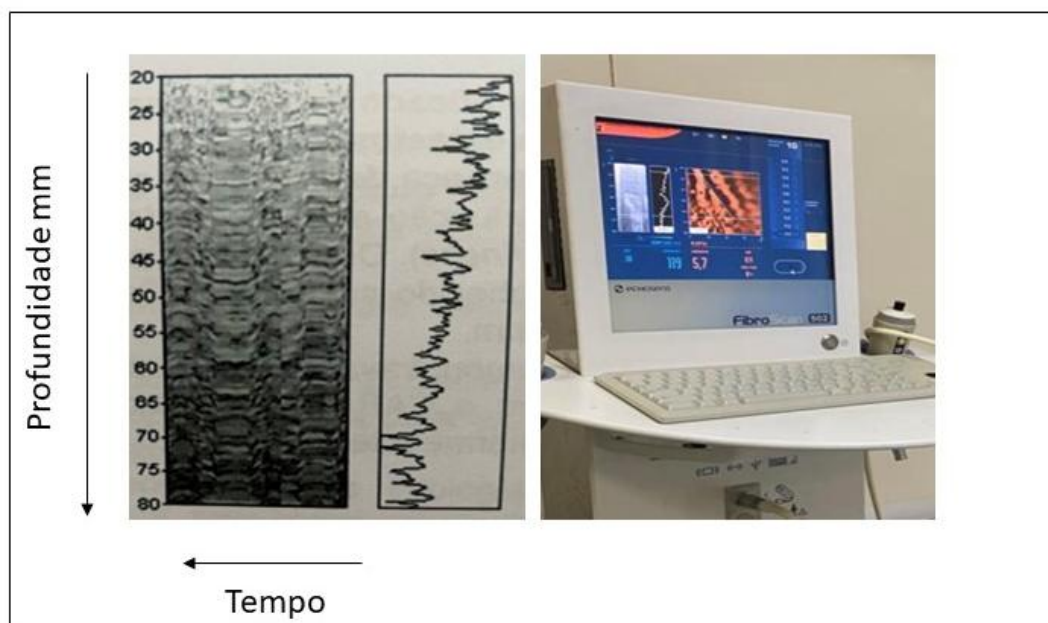
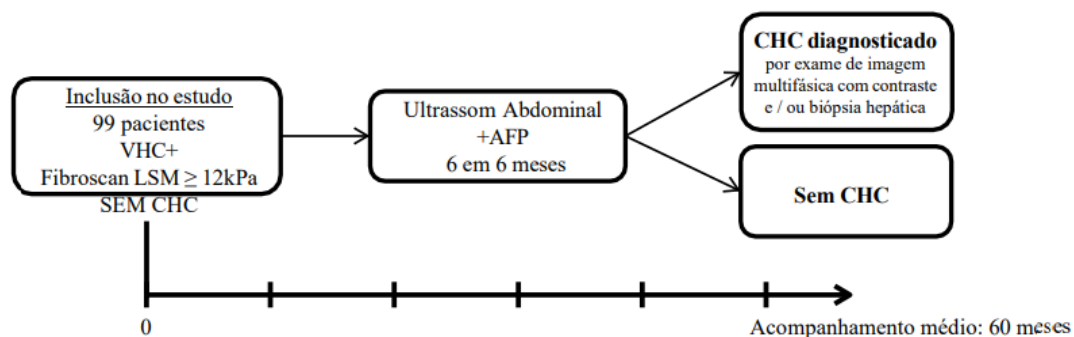


Figura 4 - Imagem do Elastograma

Após a inclusão do estudo, acompanhamos sistematicamente esses pacientes a cada 6 meses para detecção de CHC com US e medições de AFP sérica, de acordo com nossa prática clínica institucional de rotina. Durante o período do estudo, documentamos a terapia para VHC e a erradicação viral. Também analisamos estas variáveis em relação ao desfecho do estudo de ocorrência de CHC. O diagnóstico de CHC foi baseado em critérios radiológicos por ressonância magnética multifásica com contraste ou tomografia computadorizada, mostrando hiperatenuação na fase arterial, com washout na fase venosa portal. Nos casos com achados de imagem inconclusivas, foi realizada biópsia do tumor para confirmação do diagnóstico de CHC. O estágio de CHC em classificado em relação aos critérios de Milão ^{12}(1- diâmetro do tumor único menor que 5 cm; 2- não mais do que três focos de tumor, cada um não excedendo 3 cm; 3- sem invasão vascular; 4- sem envolvimento extra-hepático).

3.3 Modelo do estudo

O organograma do procedimento do estudo e as modalidades de avaliação do paciente são mostrados na Figura 5.



Abreviaturas: AFP: alfafetoproteína, CHC: Carcinoma hepatocelular, VHC: Hepatite C, LSM: grau de rigidez hepática

Figura 5 – Organograma do Estudo

3.4 Considerações éticas

O Comitê de Ética do HCFMUSP (número 6.570) aprovou o estudo, que foi conduzido de acordo com as diretrizes éticas da Declaração de Helsinque da Associação Médica Mundial de 2013 ^{13}. Obtivemos o consentimento informado de todos os participantes.

3.5 Análise estatística

Presumimos que a taxa daqueles com $TE > 12$ kPa é de, aproximadamente, 30% em nosso ambulatório de fígado entre todos os pacientes com hepatite C crônica. Assim, para detectar uma razão de risco (HR), acima de 2 com um alfa de 5% e poder do estudo de 80%, o tamanho da amostra necessário seria, pelo menos, de 78 pacientes. Foram calculadas as estatísticas descritivas (média, desvio-padrão, valores mínimo e máximo e mediana). Sendo realizadas análises de regressão logística univariada (contínua e binária com log rank) e multivariada de Cox, e uma razão de risco (HR) para ocorrência de CHC foi calculada, além de um intervalo de confiança (IC) de 95%. Evitamos a colinearidade entre as variáveis significativas mencionadas na análise univariada, e também construímos seis modelos, usando a análise de Cox e com o teste da estatística C aplicado para selecionar o melhor modelo incluindo corte $LSM > 21,1$ kPa em todos eles. Isso foi quase exclusivamente associado de forma independente ao desenvolvimento de CHC. Os escores APRI e FIB-4 também foram incluídos nesses modelos, em razão de sua significância na prática clínica. Os escores FIB-4 e TE compuseram o modelo final da análise de Cox

selecionada com a melhor estatística C em 6 meses e com valor estável e alto durante a avaliação de 3 anos (dados complementares). Utilizamos o teste de Lausen para encontrar o melhor ponto de corte para a ocorrência de CHC. Para estimar a incidência de CHC, aplicamos o teste de log rank e Kaplan-Meier. Foi usado um teste bicaudal, e o valor de probabilidade $<0,05$ foi considerado significativo. As análises estatísticas foram realizadas, usando o IBM SPSS Statistics for Windows Versão 19.0 (IBM Corp, EUA).

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Avaliamos 111 pacientes para recrutamento para o estudo, sendo 99 indivíduos incluídos, após a aplicação dos critérios de exclusão (avaliação de dados clínicos e exames laboratoriais incompletos no início do estudo).

Dos pacientes excluídos $n = 4$; perderam seguimento, $n = 7$ apresentavam ingestão significativa prévia e atual de álcool, $n = 1$. A média de idade foi $57,8 \pm 10,6$ anos e 49,5% eram do sexo masculino ($n = 49$).

A maioria dos pacientes incluídos apresentava sobrepeso (IMC médio: $28,6 \pm 4,8$) e 31,1% apresentavam DM. Em relação à função hepática, 80,8% (80/99) dos pacientes eram Child-Pugh A e 19,2% (19/99) eram Child-Pugh B com escore MELD médio de $9,7 \pm 3,1$. O LSM médio desta coorte foi $27,3 \pm 13,3$ kPa.

4.1 Características clínicas, dados laboratoriais e marcadores de fibrose

Os dados da Tabela 2 mostram as características clínicas basais, variáveis laboratoriais e marcadores de fibrose hepática não invasivos da população em estudo. Durante o período do estudo (seguimento médio de 5 anos), 20 (20,2%) pacientes desenvolveram CHC e, destes, 65% eram do sexo masculino. O tempo médio desde a inclusão do estudo até o diagnóstico de CHC foi 2,6 (0,02-4,74) anos.

Tabela 2 - Características clínicas, dados laboratoriais e marcadores de fibrose hepática (n=99)

Variáveis	n (%) ou mediana (min-max)
Idade (anos)	59 (27 - 82)
Gênero, Masculino (%)	49 (49.5%)
IMC	28 (18.5 - 48.4)
Tabagismo, n (%)	30 (30.3%)
Diabetes mellitus, n(%)	31 (31.3%)
Passado de ingesta alcoólica	20 (20.2%)
HCV genótipo 1 / não-1, n (%)	81 (81.8%) / 18 (18.2%)
AST (U/L)	74 (12 - 457)
ALT (U/L)	61 (14 - 393)
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	94 (33 - 257)
GGT (U/L)	86 (11 -1068)
Fosfatase alcalina (U/L)	101 (41 -267)
Albumina (g/dL)	4.1 (2.5 - 5.2)
Alfafetoproteína (ng/mL)	8.2 (1.6 - 151.2)
Creatinina (mg/dL)	0.8 (0.4 - 3.5)
INR	1.6 (0.7 - 2.19)
Bilirrubina Total (mg/dL)	0.9 (0.3 - 5.4)
Child-Pugh score A/B, n (%)	80 (80.8%) /19 (19.2%)
MELD score	9 (6 -19)
APRI score	1 (0.2 - 6.5)
FIB-4 score	4.9 (1.4 - 32.3)
Elastografia Transitória (kPa)	22.8 (12 -75)
IQR	3.8 (0.1 - 18)
CAP (dB/m)	221 (100 - 354)
TE taxa de sucesso (%)	100 (60 - 100)

Abreviaturas: ALT: alanina amino transferase; AST: aspartato amino transferase; IMC: índice de massa corporal; CAP: parâmetro de atenuação controlada; GGT: gama glutamil transferase; HCV: vírus da hepatite C; INR: razão normalizada internacional; IQR: intervalo interquartil de medidas; MELD: Modelo para doença hepática em estágio terminal; TE: elastografia transitória.

4.2 Características entre os grupos com CHC e sem CHC

No total, 28 (28,3%) pacientes evoluíram para óbito. Entre eles, 7/28 (25%) tinham diagnóstico de CHC, e os óbitos foram causados por complicações na terapia de CHC / complicações da cirrose ou após o transplante de fígado [três pacientes morreram em razão de complicações, após a quimioembolização de CHC (dois relacionados à insuficiência hepática, e um à infecção)], dois em razão de complicações pós-transplante de fígado (um secundário à infecção e um relacionado a sangramento gastrointestinal), e dois secundários a complicações de cirrose (um por causa de sangramento hipertensivo portal, e outro por peritonite bacteriana espontânea (PBE). Os restantes, 21/28 (75%), morreram em razão de complicações da cirrose (hemorragia digestiva alta por hipertensão portal, síndrome hepatorenal e outras infecções).

A prevalência de Diabetes em pacientes com CHC foi 40% (8/20), e 25% (8/31) dos diabéticos desenvolveram CHC durante o período do estudo.

Na análise de regressão logística univariada, as variáveis basais associadas à ocorrência de CHC ao longo do tempo foram: menor contagem de plaquetas ($p = 0,0446$), maior AFP sérica ($p = 0,0041$), maiores valores de bilirrubina total ($p = 0,0008$), maiores escores MELD ($p = 0,0068$), e LSM superior por TE ($p=0,0354$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Características entre os grupos com CHC e sem CHC

Variáveis	Não-CHC (n=79)	CHC (n=20)	HR - CI 95%	p value
	n (%) ou mediana (min – max)	n (%) ou mediana (min – max)		
Masculino n,(%)	36 (45.6%)	13 (65%)	2.425 (0.965-6.091)	0.0595
Diabetes mellitus	23 (29.1%)	8 (40.0%)	1.525 (0.623-3.734)	0.3521
Child-Pugh score B	12 (15.2%)	7 (35.0%)	1.896 (0.755-4.761)	0.1660
Idade (anos)	59 (33-82)	61.5 (27-70)	0.995 (0.957-1.035)	0.8174
IMC	28.5 (18.5-48.4)	26.5 (22.2-39)	0.955 (0.865-1.054)	0.3556
Tabagismo	25(31.6%)	5(25%)	0.762(0.277-2.099)	0.59
AST (U/L)	74 (12-457)	77.5 (26-185)	0.999 (0.991-1.006)	0.7116
ALT (U/L)	60 (14-393)	63 (19-147)	0.995 (0.988-1.003)	0.2554
Plaquetas (x10³ /mm³)	99 (33-257)	88 (36-150)	0.989 (0.978-0.999)	0.0446*
GGT (U/L)	81 (11-1068)	106.5 (29- 685)	1.000 (0.997-1.002)	0.9319
Fostatase alcalina (U/L)	90 (41-267)	112.5(59-215)	1.008 (1.000-1.016)	0.0504
Albumina (g/dL)	4.1(2.5-5.1)	3.9 (2.7-5.2)	0.491 (0.235-1.026)	0.0585
Alfafetoproteína (ng/mL)	7.70 (1.6-151.5)	14.8(2.2-119.7)	1.017 (1.005-1.028)	0.0041*
Creatinina (mg/dL)	0.8 (0.4-3.5)	0.9 (0.5-1.47)	1.435 (0.435-4.737)	0.5529
INR	1.1 (0.7-2.1)	1.2 (1.0-1.8)	3.477 (0.801-15.099)	0.0963
Bilirrubina total (mg/dL)	0.9 (0.3-4.3)	1.1(0.4-5.4)	1.763 (1.267-2.454)	0.0008*
MELD score	9 (6-19)	11 (7-18)	1.182 (1.047-1.334)	0.0068*
APRI score	0.9 (0.2-6.5)	1.3(0.7-3.7)	1.205 (0.886-1.638)	0.2351
FIB-4 score	4.8 (1.4-32.3)	6.2 (2.6-15.6)	1.072 (0.985-1.167)	0.1081
TE (kPa)	21.9 (12.0- 67.8)	25.8(17.6-75.0)	1.031 (1.002-1.060)	0.0354*
CHC apresentação diagnóstica				
Múltiplo		5 (25%)		
Nódulo Único (n, %)		15 (75%)		
≤ 20 mm —		2 (10%)		
> 20 and ≤ 30 mm — —		13 (65%)		
> 30 and ≤ 50 mm —		3 (15%)		
> 50 mm — —		2 (10%)		
CHC -Critério de Milão, sim/não (n, %)		15 (75%) / 5 (25%)		

Análise de regressão logística univariada. Abreviaturas: ALT: alanina amino transferase; AST: aspartato amino transferase; IMC: índice de massa corporal; IC: intervalo de confiança; GGT: gama glutamiltransferase; HCC: carcinoma hepatocelular; HR: razão de risco; INR: razão normalizada internacional; MELD: Modelo para doença hepática em estágio terminal; TE: Elastografia transitória; mm: milímetros.* p<0.05

Os melhores valores de corte para estas variáveis, como fatores de risco para predição de CHC na análise univariada, foram: contagem de plaquetas $<114 \times 10^3 / \text{mm}^3$, AFP $\geq 11,2 \text{ ng / mL}$, bilirrubina total $\geq 2,04 \text{ mg / dL}$, pontuação MELD ≥ 11 e TE $> 21,1 \text{ kPa}$.

Na admissão, todos os pacientes eram virgens de tratamento para o VHC, mas durante o acompanhamento, 87 (87,9%) pacientes foram tratados.

A resposta virológica sustentada (RVS) ocorreu em quatro pacientes tratados com regimes baseados em interferon e em 58 tratados com agentes antivirais de ação direta (DAA). A RVS (PCR qualitativo negativo após 6 meses de suspensão do tratamento) geral foi 73,5%. Vinte e cinco pacientes não alcançaram RVS. Destes, cinco pacientes tiveram diagnóstico de CHC e 12 evoluíram para óbito.

Analisamos algumas variáveis potenciais de confusão para a ocorrência de CHC: tratamento para hepatite C ($p = 0,9474$), resposta ao tratamento para VHC ($p = 0,6248$), ingestão anterior de álcool ($p = 0,5510$), uso de tabaco ($p = 0,7050$), Diabetes mellitus ($p = 0,3521$) e gênero ($p = 0,0517$). Estas variáveis não foram associadas ao desenvolvimento de CHC nesta coorte.

Construímos seis modelos na análise de Cox entre as variáveis significativas citadas na análise univariada, e também com os escores APRI e FIB-4 em razão de sua significância na prática clínica (Dados Suplementares).

4.3 Dados Suplementares

Os seis modelos múltiplos de Cox foram construídos com variáveis significativas na análise de regressão logística univariada e também com FIB-4 e APRI pela sua significância na prática clínica.

O modo final de redução após o método Stepwise Back-ward do Modelo 1 e 2:

	HR (95% CI)	<i>p-value</i>
TE (>21.1 kPa)	4.462 (0.984 - 20.227)	0.052
Alfafetoproteína (>11.2 ng/mL)	2.362 (0.917 – 6.085)	0.074
Bilirubina total (mg/dL)	5.161 (1.956 – 13.619)	0.0009*

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; TE : elastografia transitória
* p<0.05

O modo final de redução após o método Stepwise Back-ward do Modelo 3:

	HR (95% CI)	<i>p-value</i>
TE (>21.1 kPa)	5.675 (1.286 – 25.034)	0.021*
MELD score (>11)	2.158 (0.881 – 5.281)	0.092

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; MELD: Modelo para doença hepática terminal; TE: elastografia transitória. * p<0.05

Modelo 4:

	HR (95% CI)	<i>p-value</i>
TE (>21.1 kPa)	5.072 (1.164 – 22.109)	0.031*
APRI (>0,75)	6.351 (0.837 – 48.212)	0.074

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; TE: : elastografia transitória.
*p<0.05

Modelo 5:

	HR (95% CI)	<i>p-value</i>
TE (>21.1 kPa)	5.548 (1.244- 24.766)	0.025*
FIB-4 score (>5.7)	1.947 (0.760- 4.987)	0.165

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; TE: : elastografia transitória.
* p<0.05

Modelo 6:

	HR (95% CI)	p-value
TE (>21.1 kPa)	5.769 (1.295- 25.674)	0.021*
Plaquetas (< 114x10 ³ /mm ³)	1.820 (0.593- 5.585)	0.295

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; TE: : elastografia transitória.

** p<0.05

4.4 C-statistic test comparando os modelos finais**C-Statistic test comparando os modelos finais**

Model	C-Statistic			
	6 months	1 year	2 years	3 years
Modelo 1+2 (TE + Alfafetoproteína + bilirrubina total)	0.5538	0.7337	0.7968	0.7997
Modelo 3 (TE + MELD score)	0.5590	0.6745	0.7208	0.7420
Modelo 4 (TE + APRI)	0.6441	0.7014	0.7388	0.7616
Modelo 5 (TE + FIB-4 score)	0.6892	0.7214	0.7195	0.7371
Modelo 6 (TE + Plaquetas)	0.6372	0.6129	0.7084	0.7306

TE: elastografia transitória

4.5 Variáveis independentemente associadas à ocorrência de CHC

Nesta análise, comparando TE e FIB-4, observamos que apenas o LSM > 21,1 kPa por TE foi um preditor independente de CHC (p = 0,025) conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Variáveis independentemente associadas à ocorrência de CHC

	HR (95% CI)	p-value
TE (>21.1 kPa)	5.548 (1.244- 24.766)	0.025*
FIB-4 score (>5.7)	1.947 (0.760- 4.987)	0.165

Análise de Cox. Abreviaturas: IC: intervalo de confiança; HR: razão de risco; TE: elastografia transitória.

* p<0.05

Desta forma, aqueles pacientes com $LSM > 21,1$ kPa por TE apresentaram chances 5,54 vezes maiores de desenvolver CHC (Tabela 4).

4.6 Incidência cumulativa de CHC de acordo com a medida de rigidez hepática

A taxa de incidência anual geral de CHC foi 6,3%, 13,3%, 22,6% e 27,4%. Em comparação, a taxa de incidência anual de CHC em pacientes com $LSM > 21,1$ kPa foi muito maior: 10,7%, 22,6%, 35,8% e 39,2% versus abaixo deste ponto de corte: 2,5%, 2,5%, 2,5% e 9,5%, $p = 0,0026$ (Figura 6).

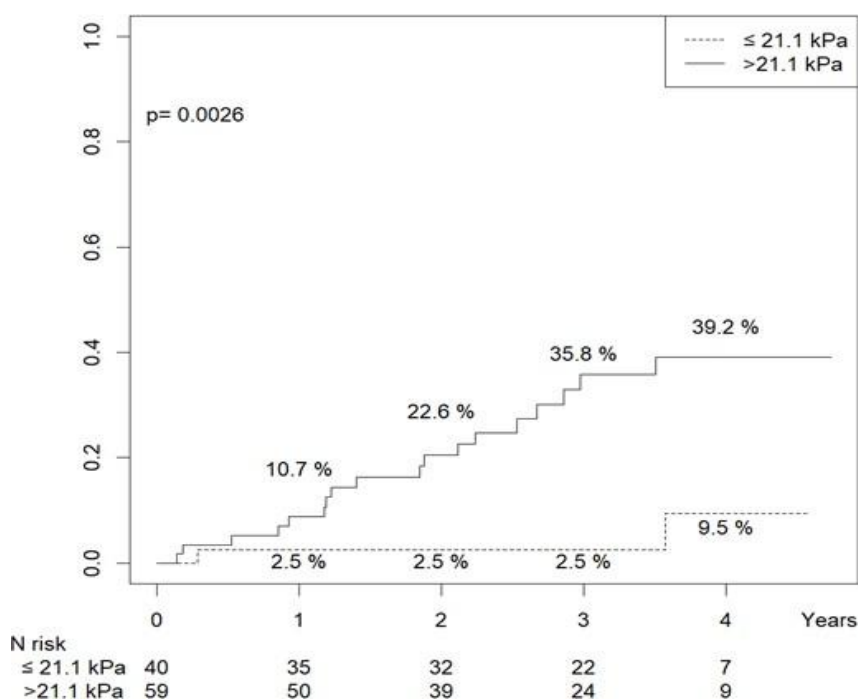


Figura 6 - Incidência cumulativa de CHC de acordo com a medida de rigidez hepática LSM por elastografia (TE) considerando um ponto de corte de 21.1kPa

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Este estudo de coorte prospectivo de pacientes com cirrose relacionada ao VHC mostrou que menor contagem de plaquetas, maior AFP sérica, maiores valores de bilirrubina total, maiores escores de MELD e maiores valores de rigidez hepática avaliados por TE foram fatores de risco para ocorrência de CHC ao longo do tempo na logística univariada análise de regressão. Curiosamente, o LSM avaliado por TE foi independentemente associado ao desenvolvimento de CHC, e o melhor valor de corte relacionado à maior risco de CHC foi 21,1 kPa. Aqueles com TE LSM > 21,1 kPa tiveram uma chance 5,54 maior de desenvolver CHC durante o acompanhamento em comparação com pacientes com LSM inferior no início do estudo.

Desde o estudo pioneiro de Masuzaki et al. ^{9}, reconhecemos a falta de consenso na literatura sobre o grau de rigidez hepática ao usar o FibroScan para prever o risco de CHC. Pacientes com LSM superior a 21,1kPa mostraram uma incidência cumulativa de CHC significativamente elevada de até 35,8% em três anos semelhante a Masuzaki et al. ^{9} ao considerarem a zona de grau de LSM de até 25,1kPa. Estes autores estratificaram diferentes riscos de CHC, de acordo com o LSM durante a era do interferon; mais recentemente, Poynard et al. ^{14} descreveram valores mais altos de LSM relacionados ao risco de CHC, mas com terapias de DAA para HCV. Nakagomi et al. ^{15} relataram, recentemente, uma análise retrospectiva de 1.146 pacientes japoneses com hepatite C crônica em que LSM por TE no momento da inscrição no estudo poderia prever o desenvolvimento de CHC e também a sobrevida geral nesta coorte. Da mesma forma, Rinaldi et al. ^{10} relataram um estudo

italiano de pacientes com HCV com cirrose e mostraram que o risco de CHC foi muito maior ($p = 0,019$; HR 0,329), quando eles foram classificados pelo $LSM > 30$ kPa. Os pacientes eram bastante comparáveis, apesar de encontrarem um ponto de corte mais alto de LSM do que nosso estudo, exceto pela presença mais frequente de DM e escore Child-Pugh B no Coorte italiana. Digno de nota, Singh et al. ^{16} demonstraram que cada kiloPascal de aumento em LSM em pacientes com cirrose aumentava o risco de CHC em 4%.

Além de ter um papel de linha de base na previsão do risco de CHC ao longo do tempo, a avaliação da redução de LSM após a erradicação viral bem-sucedida também pode ser útil para a estratificação de risco em pacientes com cirrose relacionada ao VHC, como mostrado por Ravaioli et al. ^{17}. Os autores relataram que uma redução delta LSM de menos de 30% no final do tratamento antiviral em relação à linha de base estava independentemente associada à ocorrência de CHC. Recentemente, Vutien et al. ^{18} demonstraram que, após a erradicação viral com DAA, valores de rigidez hepática > 20 kPa foram independentemente associados ao desenvolvimento de cirrose descompensada, incluindo a ocorrência de CHC.

Outros testes mecânicos não invasivos para fibrose hepática foram avaliados em relação à predição de CHC em pacientes com VHC. Hamada et al. ^{19} relataram que, após a RVS, a elastografia por onda de cisalhamento ≥ 11 kPa junto com a idade ≥ 75 anos e níveis de alfa-fetoproteína maiores que 6 ng / mg foram independentemente associados ao desenvolvimento de CHC.

Usando elastografia por ressonância magnética (MRE) para pacientes com doenças hepáticas crônicas, Ichikawa et al. ^{20} referiram que uma maior rigidez do fígado leva a um risco maior de CHC. Além disso, Tamaki et al. ^{21} também

relataram recentemente que a rigidez hepática $\geq 3,75$ avaliada por MRE 12 semanas após o tratamento bem-sucedido do VHC foi um fator preditivo independente para ocorrência de CHC. Encontramos uma associação dos valores basais de bilirrubina total e pontuação MELD (marcadores de função hepática) com a ocorrência de CHC na análise de regressão logística univariada, conforme citado anteriormente ^{22}. Além do risco de desenvolver CHC ao longo do tempo, alguns destes parâmetros (como níveis de bilirrubina, AFP, contagem de plaquetas e pontuação MELD) podem estar associados à presença de CHC no momento da avaliação de pacientes com cirrose por hepatite C ^{23}. Apesar de algumas evidências da associação entre tabagismo e CHC ^{24, 25}, não pudemos demonstrar isso em nossa população. A fim de evitar viés, a política de recrutamento do estudo excluiu pacientes com ingestão alcoólica significativa e atual, pois este também é um importante fator de risco para o surgimento de CHC ^{25, 26}. Em nossa amostra, a prevalência de DM em pacientes com CHC foi 40%. O DM é altamente prevalente em pacientes com CHC e um conhecido fator de risco para o desenvolvimento de CHC ^{27, 28, 29}. No entanto, não encontramos uma associação entre a ocorrência de DM e CHC em nossa coorte.

A obesidade também não foi associada à predição de CHC em nossa população, em contraste com relatórios anteriores ^{24}. No entanto, a maioria de nossos pacientes estava com sobrepeso, o que pode ter atenuado essa associação. A incidência anual de CHC vem aumentando em todo o mundo ^{30, 31}. Um estudo anterior de nosso grupo ^{32} relatou uma incidência cumulativa de CHC de 16,9% em 5 anos, em pacientes com HCV-cirrose avaliados entre 1998 e 2008. O estudo apresentado envolveu pacientes entre 2011 a 2016 e mostrou uma maior incidência de CHC. O LSM médio da linha de base por TE de nossa população foi de 22,8 kPa,

acima do valor de corte que foi associado a um maior risco de CHC. O rigoroso protocolo de rastreamento e as características da população poderiam, pelo menos em parte, justificar o aumento da incidência cumulativa de CHC encontrada no presente estudo.

LSM > 21,1 kPa foi um modo fortemente sensível para discriminar pacientes com alto risco de desenvolver CHC, embora não seja específico. Identificar pacientes de alto risco entre toda a população cirrótica poderia concentrar esforços no diagnóstico precoce do CHC e, conseqüentemente, em tratamentos curativos. Apesar de tentador, intervalos de exame de US mais curtos em tais pacientes podem não melhorar a detecção de CHC pequeno, como descrito anteriormente ^{33}. Em vez disso, os pacientes com LSM por TE > 21,1 kPa devem ser rigorosamente incluídos nos programas de vigilância de CHC e acompanhados ativamente para adesão. A avaliação LSM em nossa coorte foi realizada antes do tratamento para HCV. Após a erradicação do HCV com sucesso, os valores de LSM geralmente diminuem ^{34}, e nossos resultados podem não se aplicar aos pacientes tratados.

O presente estudo tem algumas limitações. Inscrevemos uma coorte relativamente pequena de pacientes de apenas um único centro; portanto, esses resultados precisam ser validados em estudos maiores. Além disso, o perfil metabólico completo não foi coletado sistematicamente durante o período de estudo. Além disso, os dados de polimorfismos PNPLA3 nesses pacientes podem adicionar na estratificação de risco de CHC ^{35}. Os pontos fortes de nosso estudo incluem a coorte bem caracterizada de pacientes acompanhados prospectivamente por mais de 4 anos sob um programa de vigilância de CHC rigoroso.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

Nesta coorte de pacientes brasileiros com cirrose relacionada ao VHC, podemos demonstrar que menor contagem de plaquetas, maiores valores de AFP sérica e bilirrubina total, maiores escores de MELD e maiores valores de rigidez hepática avaliados por TE foram fatores de risco para ocorrência de CHC na análise de regressão logística univariada. LSM avaliado por TE foi independentemente associado ao desenvolvimento de CHC. A presença de LSM > 21,1 kPa foi uma maneira fortemente sensível para discriminar pacientes com alto risco de desenvolver CHC em pacientes cirróticos por VHC. Aqueles com TE LSM > 21,1 kPa tiveram uma chance 5,54 maior de desenvolver CHC durante o acompanhamento em comparação com pacientes com LSM inferior no início do estudo.

7 REFERÊNCIAS

7-REFERÊNCIAS

- 1- Villanueva A. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 2019;380:1450-62.
- 2- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2018;69:182-236. Erratum in: *J Hepatol* 2019;70:817.
- 3- Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol.* 2009;50:923-8.
- 4- Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut.* 2006;55:403-8.
- 5- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2018;69:182-236.
- 6- Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2018;67:358-80.
- 7- Kanwal F, Singal AG. Surveillance for hepatocellular carcinoma: current best practice and future direction. *Gastroenterology.* 2019;157:54-64.
- 8- Goldberg DS, Taddei TH, Serper M, Mehta R, Dieperink E, Aytaman A, et al. Identifying barriers to hepatocellular carcinoma surveillance in a national sample of patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2017;65:864-74.

-
- 9- Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T et al. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology*. 2009;49:1954-61.
- 10- Rinaldi L, Guarino M, Perrella A, Pafundi PC, Valente G, Fontanella L et al. Role of liver stiffness measurement in predicting HCC occurrence in direct-acting antivirals setting: A real-life experience. *Dig Dis Sci*. 2019;64:3013-9.
- 11- Ragazzo TG, Paranagua-Vezozzo D, Lima FR, de Campos Mazo DF, Pessoa MG, Oliveira CP, et al. Accuracy of transient elastography-FibroScan®, acoustic radiation force impulse (ARFI) imaging, the enhanced liver fibrosis (ELF) test, APRI, and the FIB-4 index compared with liver biopsy in patients with chronic hepatitis C. *Clinics (Sao Paulo)*. 2017;72:516-25.
- 12- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996;334:693-9.
- 13- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310:2191-4.
- 14- Poynard T, Vergniol J, Ngo Y, Foucher J, Munteanu M, Merrouche W, et al. Staging chronic hepatitis C in seven categories using fibrosis biomarker (FibroTest™) and transient elastography (FibroScan®). *J Hepatol*. 2014;60:706-14.
- 15- Nakagomi R, Tateishi R, Masuzaki R, Soroida Y, Iwai T, Kondo M, et al. Liver stiffness measurements in chronic hepatitis C: Treatment evaluation and risk assessment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019;34:921-8.
- 16- Singh S, Fujii LL, Murad MH, Wang Z, Asrani SK, Ehman RL, et al. Liver stiffness is associated with risk of decompensation, liver cancer, and death in patients

with chronic liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11:1573-1584.e1-2.

17- Ravaioli F, Conti F, Brillanti S, Andreone P, Mazzella G, Buonfiglioli F, et al. Hepatocellular carcinoma risk assessment by the measurement of liver stiffness variations in HCV cirrhotics treated with direct acting antivirals. *Dig Liver Dis*. 2018;50:573-9.

18- Vutien P, Kim NJ, Moon AM, Pearson M, Su F, Berry K, et al. Fibroscan liver stiffness after anti-viral treatment for hepatitis C is independently associated with adverse outcomes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52:1717-27.

19- Hamada K, Saitoh S, Nishino N, Fukushima D, Horikawa Y, Nishida S, et al. Shear wave elastography predicts hepatocellular carcinoma risk in hepatitis C patients after sustained virological response. *PLoS One*. 2018;13:e0195173.

20- Ichikawa S, Motosugi U, Enomoto N, Onishi H. Magnetic resonance elastography can predict development of hepatocellular carcinoma with longitudinally acquired two-point data. *Eur Radiol*. 2019;29:1013-21.

21- Tamaki N, Higuchi M, Kurosaki M, Kirino S, Osawa L, Watakabe K, et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma development by magnetic resonance elastography in chronic hepatitis C patients who achieved sustained virological responses by direct-acting antivirals. *J Viral Hepat*. 2019;26:893-9.

22- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, et al. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut*. 2001;48:251-9.

23- Paranaguá-Vezozzo DC, Matiello CEL, Mazo DFC, Nacif LS, Pessoa MG, Pereira GR, et al. A Potential clinical based score in hepatitis C virus cirrhotic patients to exclude small hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Research*. 2018;4:1-11.

-
- 24- Marrero JA, Fontana RJ, Fu S, Conjeevaram HS, Su GL, Lok AS. Alcohol, tobacco and obesity are synergistic risk factors for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2005;42:218-24.
- 25- Yi SW, Choi JS, Yi JJ, Lee YH, Han KJ. Risk factors for hepatocellular carcinoma by age, sex, and liver disorder status: A prospective cohort study in Korea. *Cancer.* 2018;124:2748-57.
- 26- Ganne-Carrié N, Layese R, Bourcier V, Cagnot C, Marcellin P, Guyader D, et al. Nomogram for individualized prediction of hepatocellular carcinoma occurrence in hepatitis C virus cirrhosis (ANRS CO12 CirVir). *Hepatology.* 2016;64:1136-47.
- 27- Ho SY, Yuan MH, Chen CC, Liu PH, Hsu CY, Huang YH, et al. Differential Survival Impact of Diabetes Mellitus on Hepatocellular Carcinoma: Role of Staging Determinants. *Dig Dis Sci.* 2020;65:3389-402.
- 28- Wainwright P, Scorletti E, Byrne CD. Type 2 Diabetes and Hepatocellular Carcinoma: Risk Factors and Pathogenesis. *Curr Diab Rep.* 2017;17:20.
- 29- El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:369-80.
- 30- Ioannou GN, Green P, Lowy E, Mun EJ, Berry K. Differences in hepatocellular carcinoma risk, predictors and trends over time according to etiology of cirrhosis. *PLoS One.* 2018;13(9):e0204412.
- 31- Sayiner M, Golabi P, Younossi ZM. Disease Burden of Hepatocellular Carcinoma: A Global Perspective. *Dig Dis Sci.* 2019;64:910-7.
- 32- Paranagua-Vezozzo DC, Ono SK, Alvarado-Mora MV, Farias AQ, Cunha-Silva M, Franca JID et al. Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort. *Ann Hepatol.* 2014;13:386-93.

-
- 33- Trinchet JC, Chaffaut C, Bourcier V, Degos F, Henrion J, Fontaine H, et al. Ultrasonographic surveillance of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a randomized trial comparing 3- and 6-month periodicities. *Hepatology*. 2011;54:1987-97.
- 34- Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-Ytter YT. Magnitude and kinetics of decrease in liver stiffness after antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C: A systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:27-38.e4.
- 35- Huang Z, Guo X, Zhang G, Liang L, Nong B. Correlation between PNPLA3 rs738409 polymorphism and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of 10,330 subjects. *Int J Biol Markers*. 2019;34:117-22.

8 ANEXOS

APROVAÇÃO PLATAFORMA BRASIL



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da fibrose hepática por métodos mecânicos em elastografia

Pesquisador: Denise Cerqueira Paranagua Vezozzo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 03998818.7.0000.0068

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.173.340

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo retrospectivo para definição de parâmetros diagnósticos em elastografia em pacientes com hepatopatia crônica.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do estudo é identificar os valores de rigidez hepática que correspondam aos pontos de corte, considerando melhor sensibilidade e especificidade, para estadiamento de fibrose significativa, fibrose avançada e cirrose dos pacientes com doença hepática crônica com biópsia hepática e, validar os cut-offs estabelecidos na Europa, Ásia e América, na nossa população brasileira de pacientes, sem biópsia hepática.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O estudo é retrospectivo e será realizado pela análise de prontuário sem risco para o doente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é inédita e interessante, totalmente retrospectiva, a ser realizada no Serviço de Gastroenterologia do HC-FMUSP. Há definição clara dos critérios de inclusão e exclusão. Os métodos estão bem descritos e a equipe tem preparo técnico-científico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores solicitam dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O pedido pode ser atendido, uma vez que não riscos envolvidos e há o compromisso de manter o sigilo e a confidencialidade dos dados, preservando os direitos do participante dessa pesquisa de caráter

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: 3.173.340

unicamente retrospectivo.

Recomendações:

Não se aplica.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O protocolo pode ser aprovado para início imediato.

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_BASICAS_DO_PROJETO_1173500.pdf	03/12/2018 13:50:05		Aceito
Folha de Rosto	FRDENISECERQUEIRA6570.pdf	03/12/2018 13:49:26	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_do_TCLE_e_Compromisso_do_Pesquisador.pdf	18/07/2018 15:03:54	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Dispensa_do_TCLE_e_Compromisso_do_Pesquisador.doc	18/07/2018 15:03:42	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Final_assinaturas.pdf	18/07/2018 15:03:28	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Final.doc	18/07/2018 15:03:10	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
Orçamento	Declaracao_de_custos.pdf	18/07/2018 15:02:52	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito
Orçamento	Declaracao_de_custos.docx	18/07/2018 15:02:34	Denise Cerqueira Paranaqua Vezozzo	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5ª 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



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE

Continuação do Parecer: 3.173.340

Declaração de Pesquisadores	DECLARACAO_GLEICY.pdf	18/07/2018 15:02:18	Denise Cerqueira Paranagua Vezozzo	Aceito
Cronograma	Cronograma.doc	18/07/2018 15:01:31	Denise Cerqueira Paranagua Vezozzo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 27 de Fevereiro de 2019

Alfredo Mansur

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

APRESENTAÇÃO DE POSTERS EM CONGRESSOS




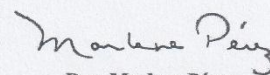
La Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado ALEH, certifica que el trabajo titulado:

TRANSIENT ELASTOGRAFY CAN PREDICT THE DEVELOPMENT OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA IN HEPATITIS C CIRRHOTIC PATIENTS


Reinoso-Pereira, Gleicy Luz, Paranaguá-Vezozzo D.C., Souto-Nacif L., Mischiatti M.N., Moutinho R., Mazo D., Ono S.K., Ferreira Alves V.A., Carrilho F.

Ha sido presentado en modalidad e-Poster, durante el "XXV Congreso de la Asociación Latinoamericana para el Estudio del Hígado, ALEH", realizado del 20 al 23 de septiembre de 2018 en Punta Cana, República Dominicana.


Dr. Fernando Contreras
Presidente ALEH (2016-2018)


Dra. Marlene Pérez
Presidenta XXV Congreso ALEH 2018

Punta Cana, Septiembre 2018





Geneva, 27 September, 2017

To whom it may concern:

The European Association for the Study of the Liver (EASL) is organising The HCC Summit from 2-5 February 2017.

EASL confirms that the abstract entitled

"Transient elastography can predict the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C cirrhotic patients" - HCC-374 , P15.06

co-authored by Denise C. Paranaguá-Vezozzo, **Gleicy L. Reinoso** , Lucas S. Nacif, Marília N. Mischiatti 1Suzane K. Ono 1 2Daniel Mazo , Renata Moutinho , Venancio F. Alves, with Flair Jose Carrilho as senior author

was selected for both ePoster and paper poster presentation at the HCC summit 2017.

Please do not hesitate to contact us should you require any further information at the following address: ILC.abstracts@easloffice.eu

Yours sincerely,

Janine Gourgel
Scientific Programme Coordinator
European Association for the Study of the Liver

7 rue Daubin, 1203 Geneva, Switzerland
Phone: +41 22 807 03 60
Fax: +41 22 328 07 24

CONGRESS ORGANISER

EASL Office
HOME OF HEPATOLOGY
7 rue Daubin
1203, Geneva, Switzerland
Phone: +41 22 807 03 60
Fax: +41 22 328 07 24
ilc.information@easloffice.eu
www.easl.eu

REGISTRATION AGENCY

MCI Geneva Office
Rue du Pre-Bouvier 9
1242, Satigny
Geneva, Switzerland
Phone: +41 22 33 99 593
Fax: +41 22 33 99 631
ilc.registration@mci-group.com

ILC HOUSING AGENCY

RAI Hotel Services
Europaplein 22
1078 G2 Amsterdam
The Netherlands
Phone: +31 20 5491927
hotelservices@rai.nl

PREMIAÇÃO ELASTORIO

PRÉ PRINT PUBLICAÇÃO DO ARQUIVO

ORIGINAL ARTICLE

AG-2021-205

High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

Gleicy Luz REINOSO-PEREIRA¹, Denise Cerqueira PARANAGUÁ-VEZOZZO^{1,2}, Daniel F MAZO^{1,3}, João Italo Dias FRANÇA¹, Suzane Kioko ONO^{1,2} and Flair José CARRILHO^{1,2}

Received: 27 October 2021
Accepted: 23 February 2022

ABSTRACT – Background – Evaluate the role of liver stiffness measurement (LSM) by transient elastography (TE) as a risk factor for hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence in a prospective cohort of Brazilian hepatitis C virus (HCV) patients with cirrhosis. **Methods** – A cohort of 99 consecutive HCV patients was included between 2011 and 2016 with baseline LSM ≥ 12 kilopascals (kPa). Baseline variables were evaluated and HCC occurrence was documented. Kaplan-Meier methods with a log-rank test and the use of cox univariate and multivariate analysis assessed the association between variables and clinical results. **Results** – The mean age was 57.8 \pm 10.6 years. In a follow-up over a mean of 3.3 years, 20 (20.2%) patients developed HCC. In univariate logistic regression analysis, variables associated with HCC occurrence were: lower platelet count ($P=0.0446$), higher serum alpha-fetoprotein ($P=0.0041$) and bilirubin ($P=0.0008$) values, higher Model for End-Stage Liver Disease (MELD) score ($P=0.0068$) and higher LSM ($P=0.0354$). LSM evaluated by TE was independently associated with HCC development, and the best cut-off value for higher HCC risk was >21.1 kPa (HR: 5.548; 95%CI: 1.244–24.766; $P=0.025$). **Conclusion** – A high value of liver stiffness relates substantially to an increased risk for HCC occurrence in Brazilian patients with cirrhosis due to HCV.

Keywords – Elasticity imaging techniques; risk factors; carcinoma hepatocellular; mortality; hepatitis C; complications; Brazil-epidemiology.

INTRODUCTION

Liver cancer is a common fatal malignancy that afflicts over 1 million people per year. The annual incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) has increased worldwide affecting 2 to 3% of patients with cirrhosis in the West and up to 11% in Asian countries^(1,2).

A previous study suggested the association between portal hypertension and HCC development in cirrhosis⁽³⁾. Hepatic venous pressure gradient (HVPG) >10 mmHg was associated with a 6-fold increase in HCC risk in patients with compensated cirrhosis. The use of TE in chronic liver disease stratifies the degree of fibrosis, which is also associated with hepatic complications over time including the risk of HCC development⁽⁴⁾. However, the vast majority of elasticity imaging studies on subjects at risk of HCC occurrence were held in an Asian population encompassing heterogeneous and different etiologies of liver disease grouping together cirrhotic and non-cirrhotic cases; observational studies from Western countries are rare.

Currently, the rational basis for the HCC surveillance in patients with cirrhosis is supported by abdominal ultrasonography exams (US) every six months, strongly recommended by Hepatology Societies worldwide^(5,6). However, despite the reported benefits from surveillance⁽⁷⁾, implementation and adherence to HCC screening strategies may be difficult in practice⁽⁸⁾.

In this way, strategies that could promptly identify patients at high risk for HCC developments among all patients with cirrhosis

are an important unmet need. This approach could potentially help early HCC detection allowing curative treatments to be implemented. In addition, despite previous reports evaluating HCC risk stratification by TE in hepatitis C virus (HCV) cohorts^(9,10), there is no data in admixed populations such as among Brazilians. Therefore, the aim of this study was to evaluate the liver fibrosis degree related to the value of TE as a risk factor for HCC in a western prospective cohort of Brazilian patients with HCV-related cirrhosis.

METHODS

Clinical design and patient selection

A prospective study was conducted in a cohort of patients with HCV-related cirrhosis followed up at the Division of Clinical Gastroenterology and Hepatology, Hospital das Clínicas of the Department of Gastroenterology, University of São Paulo School of Medicine (HCFMUSP), Brazil (tertiary public healthcare center) between 2011 and 2016. Inclusion criteria: HCV polymerase chain reaction RNA positivity for at least 6 months with a minimum baseline liver stiffness measurement (LSM) of 12 kPa by TE. The exclusion criteria were age under 18 years; hepatitis B virus or human immunodeficiency virus co-infection, significant and current alcohol intake (>100 g/week), other chronic liver disease, non-cirrhotic portal hypertension, history of liver transplantation, or refusal to participate in the study.

Declared conflict of interest of all authors: none
Disclosure of funding: no funding received

¹Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Departamento de Gastroenterologia, Divisão de Gastroenterologia Clínica e Hepatologia, São Paulo, SP, Brasil. ²Grupo São Paulo Clínicas de Câncer de Fígado, São Paulo, SP, Brasil. ³Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Divisão de Gastroenterologia Gastrocentro, Campinas, SP, Brasil
Corresponding author: Gleicy Luz Reinoso-Pereira. E-mail: gleicy_reinoso@yahoo.com.br

Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JID, Ono SK, Carrilho FJ
High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

Study protocol and variables evaluated

We collected the anthropometric and clinical data at study inclusion: sex, age, weight, height, body mass index (BMI), presence of type 2 diabetes mellitus (DM), past alcohol ingestion, and smoking status. These patients were also evaluated with serum biochemistry and liver function scores including HCV genotype, alpha-fetoprotein (AFP), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (AP), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin, gamma-glutamyl transpeptidase, platelet count, international normalized ratio (INR), albumin, urea, glucose, creatinine, and Child-Pugh and Model for End-Stage Liver Disease (MELD) scores. The APRI score $[(AST/ULN) \times 100] / \text{platelet count } 10^9/L$, ULN: upper limit of normal, and Fibrosis-4 (FIB-4) score $\{[\text{age (years)} \times \text{AST (U/L)}] / [\text{platelet count } (10^9/L) \times \text{ALT (U/L)}]\}$ —two serum non-invasive tests for liver fibrosis evaluation—were also calculated at study inclusion.

Patients were submitted to abdominal US (ACUSON S2000®, Siemens, Germany) with transducer 4C1 at the same time as TE evaluation (both were performed by a skilled operator) at study inclusion. The absence of focal suspected malignant liver lesions was also registered. LSM and steatosis grade with controlled attenuation parameter (CAP) were both obtained using the FibroScan® 402 device powered by VCTE (EchoSens, Paris, France) equipped with the standard M probe. The LSM was considered reliable when the following criteria were fulfilled: 10 valid measurements, success rate >60% and the ratio of the interquartile range to the median (IQR/M) ≤30%. TE examination was performed according to the previous description⁽¹⁾.

After study inclusion, we systematically followed these patients every 6 months for HCC detection with US and serum AFP measurements following our routine institutional clinical practice. During the study period, we documented HCV therapy and viral eradication. We also analyzed these variables concerning the study outcome of HCC occurrence. The diagnosis of HCC was based on radiological criteria by multiphase contrast-enhanced magnetic resonance imaging or computed tomography scan showing hyperattenuation in the arterial phase, with washout in the portal venous phase. In cases with inconclusive imaging findings, tumor biopsy was performed to confirm the HCC diagnosis. HCC stage according to Milan criteria⁽²⁾ (1- single tumor diameter less than 5 cm; 2- not more than three foci of the tumor, each one not exceeding 3 cm; 3- no vascular invasion; 4- no extrahepatic involvement) was described. The study procedures and patient assessment modalities are shown in FIGURE 1.

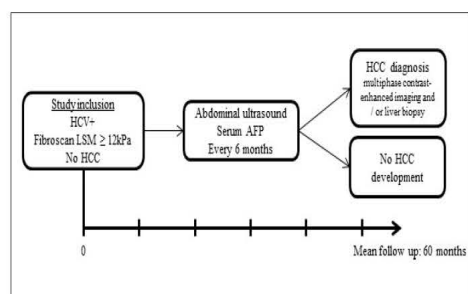


FIGURE 1. Study procedures.

AFP: alpha-fetoprotein; HCC: hepatocellular carcinoma; HCV: hepatitis C virus; LSM: liver stiffness measurements.

Ethical considerations

The Ethics Committee of the HCFMUSP (number 6570) approved the study, which was conducted under the ethical guidelines of the 2013 World Medical Association Declaration of Helsinki⁽³⁾. We obtained informed consent from all participants.

Statistical analysis

We assumed that the rate of those with TE >12 kPa is approximately 30% in our liver outpatient clinic among all chronic hepatitis C patients. Thus, to detect a hazard ratio (HR) above two with an alpha of 5% and study power of 80%, the sample size required would be at least 78 patients. The descriptive statistics (mean, standard deviation, minimum and maximum, and median values) were calculated. Univariate (continuous and binary with log-rank) and multivariate Cox logistic regression analysis were performed, and a hazard ratio (HR) for HCC occurrence was calculated in addition to a 95% confidence interval (CI). We avoided collinearity among the significant variables mentioned in the univariate analysis, and we also built six models using Cox analysis, and with C-statistic test applied to select the best model including LSM cutoff >21.1 kPa in all of them. This was almost exclusive independently associated with HCC development. APRI and FIB-4 scores were also included in these models, due to their significance in clinical practice. The FIB-4 score and TE composed the final selected Cox analysis model with the best C-statistic in six months and with stable and high value during the 3 year-evaluation (supplementary data). We used Lausen's test to find the best cutoff point for HCC occurrence. To estimate the incidence of HCC, we applied the log-rank test and Kaplan-Meier. A two-tailed test was used, and a probability value of <0.05 was considered significant. A biomedical statistician (França JI) conducted the statistical analyses using IBM SPSS Statistics for Windows Version 19.0 (IBM Corp, USA).

RESULTS

We evaluated 111 patients for study recruitment, and 99 subjects were included after exclusion criteria were applied: incomplete clinical and laboratory data at baseline, n=4; lost in follow-up, n=7; significant and current alcohol intake, n=1.

The mean age was 57.8±10.6 years, and 49.5% were male (n=49). Most of the included patients were overweight (mean BMI: 28.6±4.8), and 31.1% presented DM. Regarding liver function, 80.8% (80/99) of the patients were Child-Pugh A, and 19.2% (19/99) were Child-Pugh B with a mean MELD score of 9.7±3.1. The mean LSM of this cohort was 27.3±13.3 kPa. TABLE 1 shows the baseline clinical characteristics, laboratory variables and non-invasive liver fibrosis markers of the study population.

During the study period (mean follow-up of 5 years), 20 (20.2%) patients developed HCC, and of these, 65% were male. The median time from study inclusion to HCC diagnosis was 2.6 (0.02–4.74) years. In addition, 28 (28.3%) patients evolved to death. Among them, 7/28 (25%) had HCC diagnosis, and deaths were caused by complications in HCC therapy/complications of cirrhosis or after liver transplantation [three patients died due to complications after HCC chemoembolization (two related to liver failure, and one due to infection)], two due to post-liver transplantation complications (one secondary to infection, and one related to gastrointestinal bleeding), and two secondary to complications of cirrhosis (one due to portal hypertensive bleeding, and the other due to spontaneous bacterial peritonitis). The remaining, 21/28 (75%), died due

Reinoso-Pereira GL, Paranaquá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JD, Ono SK, Carrilho FJ
 High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

TABLE 1. Clinical characteristics, laboratory data and liver fibrosis markers (n=99).

Variables	n (%) or median (min-max)
Age (years)	59 (27-82)
Gender, male (%)	49 (49.5%)
BMI	28 (18.5-48.4)
Tobacco use, n (%)	30 (30.3%)
Diabetes mellitus, n (%)	31 (31.3%)
Past alcohol ingestion	20 (20.2%)
HCV genotype 1 / non-1, n (%)	81 (81.8%) / 18 (18.2%)
AST (U/L)	74 (12-457)
ALT (U/L)	61 (14-393)
Platelets ($\times 10^3$ /mm ³)	94 (33-257)
GGT (U/L)	86 (11-1068)
Alkaline phosphatase (U/L)	101 (41-267)
Albumin (g/dL)	4.1 (2.5-5.2)
Alpha-fetoprotein (ng/mL)	8.2 (1.6-151.2)
Creatinine (mg/dL)	0.8 (0.4-3.5)
INR	1.6 (0.7-2.19)
Total bilirubin (mg/dL)	0.9 (0.3-5.4)
Child-Pugh score A/B, n (%)	80 (80.8%) / 19 (19.2%)
MELD score	9 (6-19)
APRI score	1 (0.2-6.5)
FIB-4 score	4.9 (1.4-32.3)
Transient elastography (kPa)	22.8 (12-75)
IQR	3.8 (0.1-18)
CAP (dB/m)	221 (100-354)
TE success rate (%)	100 (60-100)

ALT: alanine amino transferase, AST: aspartate amino transferase, BMI: body mass index, CAP: controlled attenuation parameter, GGT: gamma glutamyl transferase, HCV: hepatitis C virus, INR: international normalized ratio, IQR: interquartile range of measurements, MELD: Model for End-Stage Liver Disease, TE: transient elastography.

to complications of cirrhosis (portal hypertensive bleeding, hepatorenal syndrome, and infections). The prevalence of diabetes in patients with HCC was 40% (8/20), and 25% (8/31) of the diabetics developed HCC during the study period.

In the univariate logistic regression analysis (TABLE 2), the baseline variables associated with HCC occurrence over time were lower platelet count ($P=0.0446$), higher serum AFP ($P=0.0041$), higher total bilirubin ($P=0.0008$) values, higher MELD scores ($P=0.0068$), and higher LSM by TE ($P=0.0354$). The best cut-off values for these variables as risk factors for HCC prediction in the univariate analysis were: platelet count $<114 \times 10^3$ /mm³, AFP ≥ 11.2 ng/mL, total bilirubin ≥ 2.04 mg/dL, MELD Score ≥ 11 and TE >21.1 kPa.

At admission, all patients were HCV treatment naïve, but during the follow-up, 87 (87.9%) patients were treated. Sustained virological response (SVR) occurred in four patients treated with interferon-based regimens and in 58 patients treated with direct-acting antiviral (DAA) agents. The overall SVR was 73.5%. Twenty-five patients did not achieve SVR. Among them, five patients had HCC diagnosis and 12 evolved to death. We analyzed some potential confounder variables for HCC occurrence: hepatitis C treatment ($P=0.9474$), response to HCV treatment ($P=0.6248$), past alcohol ingestion ($P=0.5510$), tobacco use ($P=0.7050$), diabetes mellitus ($P=0.3521$), and gender ($P=0.0517$). These variables were not associated with HCC development in this cohort.

We built six models in Cox analysis among the significant variables mentioned in the univariate analysis, and with APRI and FIB-4 scores due to their significance in clinical practice (TABLE SUPPLEMENTARY). The multivariate logistic regression analysis showed the HCC risk in each model, with TE value above 21.1 kPa, in almost of them. Subsequently, the C-statistical test selected the best of them, considering the short and long HCC occurrence time. In this analysis, comparing TE and FIB-4, we observed that only the LSM >21.1 kPa by TE was an independent HCC predictor ($P=0.025$) as shown in TABLE 3. Those patients with LSM >21.1 kPa by TE presented a 5.54-fold higher chance of developing HCC (TABLE 3). The general annual incidence rate of HCC was 6.3%, 13.3%, 22.6%, and 27.4%. By comparison, the annual incidence rate for HCC in patients with LSM >21.1 kPa was much higher: 10.7%, 22.6%, 35.8%, and 39.2% versus below this cutoff: 2.5%, 2.5%, 2.5%, and 9.5%, $P=0.0026$ (FIGURE 2).

DISCUSSION

This prospective cohort study of patients with HCV-related cirrhosis showed that lower platelet count, higher serum AFP, higher total bilirubin values, higher MELD scores, and higher liver stiffness values evaluated by TE were risk factors for HCC occurrence over time in the univariate logistic regression analysis. Interestingly, LSM evaluated by TE was independently associated with HCC development, and the best cut-off value related to higher HCC risk was 21.1 kPa. Those with TE LSM >21.1 kPa had a 5.54-higher chance of developing HCC during follow up versus patients with lower LSM at baseline.

Since the pioneering study from Masuzaki et al.⁽⁹⁾, we recognized the lack of consensus in the literature regarding the grade of the liver stiffness when using FibroScan® for predicting HCC risk. Patients with an LSM higher than 21.1 kPa showed a significantly elevated cumulative HCC incidence up to 35.8% in 3 years similar to Masuzaki et al.⁽⁹⁾ when considering the grade zone of LSM up to 25.1 kPa. These authors stratified different HCC risk according to the LSM during the interferon era; more recently, Poynard et al.⁽⁴⁴⁾ described higher values of LSM related to HCC risk, but with DAA HCV therapies. Nakagomi et al.⁽¹⁹⁾ recently reported a retrospective analysis of 1146 Japanese patients with chronic hepatitis C whereby LSM by TE at study enrollment could predict HCC development and also, the overall survival in this cohort. Likewise, Rinaldi et al.⁽¹⁰⁾ reported an Italian study of HCV patients with cirrhosis and showed that the risk of HCC was much higher ($P=0.019$; HR 0.329) when they were classified by LSM >30 kPa. The patients were quite comparable despite finding a higher cut-off of LSM than our study, and except for the more frequent presence of DM and Child-Pugh

Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JD, Ono SK, Carrilho FJ
 High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

TABLE 2. Characteristics among the groups with and without hepatocellular carcinoma.

Variables	Non-HCC (n=79) n (%) or median (min-max)	HCC (n=20) n (%) or median (min-max)	HR - CI95%	P value
Males n (%)	36 (45.6%)	13 (65%)	2.425 (0.965–6.091)	0.0595
Diabetes mellitus	23 (29.1%)	8 (40.0%)	1.525 (0.623–3.734)	0.3521
Child-Pugh score B	12 (15.2%)	7 (35.0%)	1.896 (0.755–4.761)	0.1660
Age (years)	59 (33–82)	61.5 (27–70)	0.995 (0.957–1.035)	0.8174
BMI	28.5 (18.5–48.4)	26.5 (22.2–39)	0.955 (0.865–1.054)	0.3556
Tobacco use	25 (31.6%)	5 (25%)	0.762 (0.277–2.099)	0.59
AST (U/L)	74 (12–457)	77.5 (26–185)	0.999 (0.991–1.006)	0.7116
ALT (U/L)	60 (14–393)	63 (19–147)	0.995 (0.988–1.003)	0.2554
Platelets (x10 ³ /mm ³)	99 (33–257)	88 (36–150)	0.989 (0.978–0.999)	0.0446*
GGT (U/L)	81 (11–1068)	106.5 (29–685)	1.000 (0.997–1.002)	0.9319
Alkaline phosphatase (U/L)	90 (41–267)	112.5 (59–215)	1.008 (1.000–1.016)	0.0504
Albumin (g/dL)	4.1 (2.5–5.1)	3.9 (2.7–5.2)	0.491 (0.235–1.026)	0.0585
Alpha-fetoprotein (ng/mL)	7.70 (1.6–151.5)	14.8 (2.2–119.7)	1.017 (1.005–1.028)	0.0041*
Creatinine (mg/dL)	0.8 (0.4–3.5)	0.9 (0.5–1.47)	1.435 (0.435–4.737)	0.5529
INR	1.1 (0.7–2.1)	1.2 (1.0–1.8)	3.477 (0.801–15.099)	0.0963
Total bilirubin (mg/dL)	0.9 (0.3–4.3)	1.1 (0.4–5.4)	1.763 (1.267–2.454)	0.0008*
MELD score	9 (6–19)	11 (7–18)	1.182 (1.047–1.334)	0.0068*
APRI score	0.9 (0.2–6.5)	1.3 (0.7–3.7)	1.205 (0.886–1.638)	0.2351
FIB-4 score	4.8 (1.4–32.3)	6.2 (2.6–15.6)	1.072 (0.985–1.167)	0.1081
TE (kPa)	21.9 (12.0–67.8)	25.8 (17.6–75.0)	1.031 (1.002–1.060)	0.0354*
HCC diagnostic presentation				
Multiple		5 (25%)		
Single tumor nodule (n, %)		15 (75%)		
≤20 mm		2 (10%)		
>20 and ≤30 mm		13 (65%)		
>30 and ≤50 mm		3 (15%)		
>50 mm		2 (10%)		
HCC within Milan Criteria, yes/no (n, %)		15 (75%) / 5 (25%)		

ALT: alanine amino transferase; AST: aspartate amino transferase; BMI: body mass index; CI: confidence interval; GGT: gamma glutamyl transferase; HCC: hepatocellular carcinoma; HR: hazard ratio; INR: international normalized ratio; MELD: Model for End-Stage Liver Disease; TE: Transient elastography; mm: millimeters. *P<0.05.

TABLE 3. Variables independently associated with hepatocellular carcinoma occurrence.

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	5.548 (1.244–24.766)	0.025*
FIB-4 score (>5.7)	1.947 (0.760–4.987)	0.165

CI: confidence interval; HR: hazard ratio; TE: transient elastography. *P<0.05.

Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JD, Ono SK, Carrilho FJ
High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

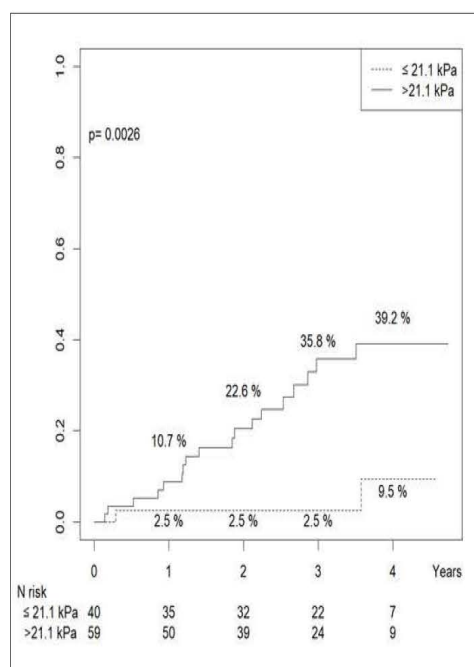


FIGURE 2. Cumulative incidence of hepatocellular carcinoma according to transient elastography LSM.
HCC: Hepatocellular carcinoma; LSM: liver stiffness measurements.

B score in the Italian cohort. Of note, Singh et al.⁽¹⁶⁾ demonstrated that each kilopascal of increase in LSM in patients with cirrhosis raised the risk of HCC by 4%.

In addition to having a baseline role in predicting HCC risk over time, the evaluation of LSM reduction after successful viral eradication can also be useful for risk stratification in patients with HCV-related cirrhosis as shown by Ravaioli et al.⁽¹⁷⁾ The authors reported that a delta LSM reduction of less than 30% at the end of antiviral treatment in relation to baseline was independently associated with HCC occurrence. Vutien et al.⁽¹⁸⁾ recently demonstrated that after viral eradication with DAA, liver stiffness values >20 kPa were independently associated with the development of decompensated cirrhosis including HCC occurrence.

Other non-invasive mechanical tests for liver fibrosis were evaluated regarding HCC prediction in HCV patients. Hamada et al.⁽¹⁹⁾ reported that after SVR, shear wave elastography ≥ 11 kPa along with age ≥ 75 years and alpha-fetoprotein levels more than 6 ng/mg were independently associated with HCC development. Using magnetic resonance elastography (MRE) for patients with chronic liver diseases, Ichikawa et al.⁽²⁰⁾ reported that a higher liver stiffness leads to a higher risk of HCC. In addition, Tamaki et al.⁽²¹⁾ also recently reported that liver stiffness ≥ 3.75 as evaluated by MRE 12 weeks after successful HCV treatment was an independent predictive factor for HCC occurrence.

We found an association of baseline total bilirubin values and MELD score (markers of liver function) with the occurrence of HCC in the univariate logistic regression analysis, as previously reported⁽²²⁾. In addition to the risk for developing HCC over time,

some of these parameters (such as bilirubin levels, AFP, platelet count and MELD score) may be associated with the presence of HCC at the time of assessing patients with cirrhosis due to hepatitis C⁽²³⁾.

Despite some evidence of an association between tobacco smoking and HCC^(24,25), we could not demonstrate this in our population. To avoid bias, the study recruitment policy excluded patients with significant and current alcohol intake because this is also an important risk factor for HCC emergence^(25,26). In addition, significant alcohol consumption may overestimate the results of LSM by FibroScan[®]^(11,27). In our sample, the prevalence of DM in patients with HCC was 40%. DM is highly prevalent in HCC patients and a well-known risk factor for HCC development^(28,29,30). However, we could not find an association between DM and HCC occurrence in our cohort. Obesity was also not associated with HCC prediction in our population in contrast to previous reports⁽²⁴⁾. However, the majority of our patients were overweight, which may have attenuated this association.

The annual incidence of HCC has increased worldwide^(31,32). A previous study from our group⁽³³⁾ reported a cumulative HCC incidence of 16.9% in 5 years, in patients with HCV-cirrhosis evaluated from 1998 to 2008. The presented study enrolled patients from 2011 to 2016 and showed a higher HCC incidence. The mean baseline LSM by TE of our population was 22.8 kPa, above the cut-off value that was associated with a higher HCC risk. The stringent screening protocol and the characteristics of the population could, at least in part, justify the increased HCC cumulative incidence found in the present study.

LSM > 21.1 kPa was a strongly sensitive manner to discriminate patients at high risk of developing HCC yet it is not specific. Identifying high-risk patients among all the cirrhotic population could concentrate efforts in early HCC diagnosis and consequently in curative treatments. Despite tempting, shorter US exam intervals in such patients may not improve the detection of small HCC, as previously described⁽³⁴⁾. Instead, patients with LSM by TE >21.1 kPa should be rigorously included on HCC surveillance programs and followed actively for adherence. LSM evaluation in our cohort was undertaken before HCV treatment. After successful HCV eradication, LSM values usually decrease⁽³⁵⁾, and our results might not apply for treated patients.

However, we must recognize that TE is currently not widely available in Brazil, especially in public health services. And for cirrhotic patients, the population included in this study, HCC screening remains based upon ultrasonography and/or AFP at 6-month intervals. On the other hand, with the spread of its use, in addition to facilitating the diagnosis of cirrhosis, it may allow better stratification of patients at greater risk of developing HCC. Indeed, LSM by TE was included in simple algorithms to identify the occurrence of de novo HCC in patients with compensated advanced chronic liver disease after cure of hepatitis C, as recently reported by Semmler et al.⁽³⁶⁾.

The present study has some limitations. We enrolled a relatively small cohort of patients from only a single center; therefore, these results need to be validated in larger trials. Furthermore, complete metabolic profiling was not systematically collected during the study period. In addition, PNPLA3 polymorphisms data in these patients could add to HCC risk stratification⁽³⁷⁾. The strengths of our study include the well-characterized cohort of patients prospectively followed for more than four years under a stringent HCC surveillance program.

Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JID, Ono SK, Carrilho FJ
High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

CONCLUSION

In this cohort of Brazilian patients with HCV-related cirrhosis, we could demonstrate that lower platelet count, higher serum AFP and total bilirubin values, higher MELD scores, and higher liver stiffness values evaluated by TE were risk factors for HCC occurrence in the univariate logistic regression analysis. LSM evaluated by TE was independently associated with HCC development.

ACKNOWLEDGMENT

Venâncio Avancini Ferreira Alves for his rich suggestions to help to design the project and to Lucas Souto Nacif for the surgical HCC treatments of our patients.

Authors' contribution

Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC: data collection. Reinoso-Pereira GL: research execution. Reinoso-Pereira GL, Paranaguá-Vezozzo DC, Mazo DF: Text writing. França JID: statistical Analysis. Carrilho FJ, Mazo DF, Ono SK: final review.

Orcid

Gleicy Luz Reinoso-Pereira: 0000-0001-6041-5679.
Denise Cerqueira Paranaguá -Vezozzo: 0000-0002-9606-4935.
Daniel Ferraz Campos Mazo: 0000-0002-2164-2630.
João Italo Dias França: 0000-0002-6963-0911.
Suzane Kioko Ono: 0000-0002-6963-0911.
Flair José Carrilho: 0000-0002-7682-3105.

Supplementary Data

The 6 multiple Cox models were built with significant variables in the univariate logistic regression analysis and also with FIB-4 and APRI due to their significance in clinical practice. The reduction final mode after Stepwise Back-ward method from Model 1 and 2:

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	4.462 (0.984–20.227)	0.052
Alpha-fetoprotein (>11.2 ng/mL)	2.362 (0.917–6.085)	0.074
Total bilirubin (mg/dL)	5.161 (1.956–13.619)	0.0009*

CI: confidence interval, HR: hazard ratio, TE: transient elastography. *P<0.05.

The reduction final mode after Stepwise Back-ward method from Model 3:

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	5.675 (1.286–25.034)	0.021*
MELD score (>11)	2.158 (0.881–5.281)	0.092

CI: confidence interval, HR: hazard ratio, MELD: Model for End-Stage Liver Disease, TE: transient elastography. *P<0.05.

Model 4:

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	5.072 (1.164–22.109)	0.031*
APRI (>0.75)	6.351 (0.837–48.212)	0.074

CI: confidence interval, HR: hazard ratio, TE: transient elastography. *P<0.05.

Model 5:

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	5.548 (1.244–24.766)	0.025*
FIB-4 score (>5.7)	1.947 (0.760–4.987)	0.165

CI: confidence interval, HR: hazard ratio, TE: transient elastography. *P<0.05.

Model 6:

	HR (95%CI)	P-value
TE (>21.1 kPa)	5.769 (1.295–25.674)	0.021*
Platelets (<114x10 ³ /mm ³)	1.820 (0.593–5.585)	0.295

CI: confidence interval, HR: hazard ratio, TE: transient elastography. *P<0.05.

C-Statistic test comparing the final models.

Model	C-statistic			
	6 months	1 year	2 years	3 years
Model 1+2 (TE + Alpha-fetoprotein + total bilirubin)	0.5538	0.7337	0.7968	0.7997
Model 3 (TE + MELD score)	0.5590	0.6745	0.7208	0.7420
Model 4 (TE + APRI)	0.6441	0.7014	0.7388	0.7616
Model 5 (TE + FIB-4 score)	0.6892	0.7214	0.7195	0.7371
Model 6 (TE + Platelets)	0.6372	0.6129	0.7084	0.7306

TE: transient elastography.

Reinoso-Pereira GL, Paranaquá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JID, Ono SK, Carrilho FJ
 High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

Reinoso-Pereira GL, Paranaquá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JID, Ono SK, Carrilho FJ. Altos valores de rigidez hepática desempenham um papel importante na estratificação do risco de carcinoma hepatocelular em pacientes cirróticos com vírus C. *Arq Gastroenterol.* 2022. Ahead of print.

RESUMO – Contexto – O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno hepático mais comum, e a cirrose é o principal fator de risco para o seu desenvolvimento. **Objetivo** – Avaliar o papel da medição da rigidez hepática por elastografia transitória (ET) como fator de risco para ocorrência de CHC em uma coorte prospectiva de pacientes brasileiros com cirrose por vírus da hepatite C (VHC). **Métodos** – Um total de 99 pacientes com VHC e medida de rigidez hepática ≥ 12 kilopascals (kPa) foram incluídos consecutivamente, entre 2011 e 2016. As variáveis de *baseline* foram avaliadas e a ocorrência de CHC foi documentada. Os testes de Kaplan-Meier e log-rank, além das análises uni e multivariadas de Cox avaliaram a associação entre as variáveis e os resultados clínicos. **Resultados** – A média de idade foi de 57,8 \pm 10,6 anos. Vinte (20,2%) pacientes desenvolveram CHC, num período médio de seguimento de 3,3 anos. Na análise de regressão logística univariada, as variáveis associadas à ocorrência de CHC foram: contagem de plaquetas mais baixa ($P=0,0446$), valores séricos mais elevados de alfa-fetoproteína ($P=0,0041$) e de bilirrubina ($P=0,0008$), maior pontuação do escore MELD ($P=0,0068$) e valores mais altos de rigidez hepática por ET ($P=0,0354$). A medição da rigidez hepática por ET foi independentemente associada ao desenvolvimento de CHC, e o melhor valor de corte para maior risco de CHC foi $>21,1$ kPa (HR: 5,548; IC95%: 1,244–24,766; $P=0,025$). **Conclusão** – Um alto valor de rigidez hepática está relacionado substancialmente a um risco aumentado de ocorrência de CHC em pacientes brasileiros com cirrose por HCV.

Palavras-chave – Técnicas de imagem de elasticidade; fatores de risco; carcinoma hepatocelular; mortalidade, hepatite C; complicações; Brasil-epidemiologia.

REFERENCES

- Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med.* 2019;380:1450-62. <https://doi.org/10.1056/NEJMa1713263>
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2018;69:182-236. Erratum in: *J Hepatol.* 2019;70:817. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.019>
- Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol.* 2009;50:923-8. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2009.01.014>
- Foucher J, Chanelloup E, Vergniol J, Castéra L, Le Bail B, Adhoute X, et al. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut.* 2006;55:403-8. <https://doi.org/10.1136/gut.2005.069153>
- European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2018;69:182-236. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.03.019>
- Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, et al. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2018;67:358-80. <https://doi.org/10.1002/hep.29086>
- Kanwal F, Singal AG. Surveillance for Hepatocellular Carcinoma: Current Best Practice and Future Direction. *Gastroenterology.* 2019;157:54-64. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.02.049>
- Goldberg DS, Taddei TH, Serper M, Mehta R, Dieperink E, Aytaman A, et al. Identifying barriers to hepatocellular carcinoma surveillance in a national sample of patients with cirrhosis. *Hepatology.* 2017;65:864-74. <https://doi.org/10.1002/hep.28765>
- Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, et al. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology.* 2009;49:1954-61. <https://doi.org/10.1002/hep.22870>
- Rimaldi L, Guarino M, Perrella A, Pafundi PC, Valente G, Fontanella L, et al. Role of Liver Stiffness Measurement in Predicting HCC Occurrence in Direct-Acting Antivirals Setting: A Real-Life Experience. *Dig Dis Sci.* 2019;64:3013-9. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05604-8>
- Paranaquá-Vezozzo DC, Andrade A, Mazo DF, Nunes V, Guedes AL, Ragazzo TG, et al. Concordance of non-invasive mechanical and serum tests for liver fibrosis evaluation in chronic hepatitis C. *World J Hepatol.* 2017;9:436-42. <https://doi.org/10.4254/wjgh.v9.i8.436>
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334:693-9. <https://doi.org/10.1056/NEJM199603143341104>
- World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310:2191-4. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
- Poynard T, Vergniol J, Ngo Y, Foucher J, Munteanu M, Merrouche W, et al. Staging chronic hepatitis C in seven categories using fibrosis biomarker (FibroTest™) and transient elastography (FibroScan®). *J Hepatol.* 2014;60:706-14. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.11.016>
- Nakagomi R, Tateishi R, Masuzaki R, Soroida Y, Iwai T, Kondo M, et al. Liver stiffness measurements in chronic hepatitis C: Treatment evaluation and risk assessment. *J Gastroenterol Hepatol.* 2019;34:921-8. <https://doi.org/10.1111/jgh.14530>
- Singh S, Fujii LL, Murad MH, Wang Z, Asrani SK, Elman RL, et al. Liver stiffness is associated with risk of decompensation, liver cancer, and death in patients with chronic liver diseases: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11:1573-84.e1-2. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.07.034>
- Ravaioli F, Conti F, Brillanti S, Andreone P, Mazzella G, Buonfiglioli F, et al. Hepatocellular carcinoma risk assessment by the measurement of liver stiffness variations in HCV cirrhotics treated with direct acting antivirals. *Dig Liver Dis.* 2018;50:573-9. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.02.010>
- Vutien P, Kim NJ, Moon AM, Pearson M, Su F, Berry K, et al. Fibroscan liver stiffness after anti-viral treatment for hepatitis C is independently associated with adverse outcomes. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;52:1717-27. <https://doi.org/10.1111/apt.16092>
- Hamada K, Saitoh S, Nishino N, Fukushima D, Horikawa Y, Nishida S, et al. Shear wave elastography predicts hepatocellular carcinoma risk in hepatitis C patients after sustained virological response. *PLoS One.* 2018;13:e0195173. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195173>
- Ichikawa S, Motosugi U, Enomoto N, Onishi H. Magnetic resonance elastography can predict development of hepatocellular carcinoma with longitudinally acquired two-point data. *Eur Radiol.* 2019;29:1013-21. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-5640-7>
- Tamaki N, Higuchi M, Kurosaki M, Kirino S, Osawa L, Watakabe K, et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma development by magnetic resonance elastography in chronic hepatitis C patients who achieved sustained virological responses by direct-acting antivirals. *J Viral Hepat.* 2019;26:893-9. <https://doi.org/10.1111/jvh.13103>
- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, et al. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut.* 2001;48:251-9. <https://doi.org/10.1136/gut.48.2.251>
- Paranaquá-Vezozzo DC, Mاتيello CEL, Mazo DFC, Nacif LS, Pessoa MG, Pereira GR, et al. A Potential clinical based score in hepatitis C virus cirrhotic patients to exclude small hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Research.* 2018;4:1-11. <https://doi.org/10.20517/2394-5079.2018.17>
- Marrero JA, Fontana RJ, Fu S, Conjeevaram HS, Su GL, Lok AS. Alcohol, tobacco and obesity are synergistic risk factors for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2005;42:218-24. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2004.10.005>

Reinoso-Pereira GL, Paranaquá-Vezozzo DC, Mazo DF, França JD, Ono SK, Carrilho FJ
High values of liver stiffness play an important role in stratifying the risk of hepatocellular carcinoma in cirrhotic hepatitis C patients

25. Yi SW, Choi JS, Yi JJ, Lee YH, Han KJ. Risk factors for hepatocellular carcinoma by age, sex, and liver disorder status: A prospective cohort study in Korea. *Cancer*. 2018;124:2748-57. <https://doi.org/10.1002/ncr.31406>
26. Ganne-Carrié N, Layese R, Bourcier V, Cagnot C, Marcellin P, Guyader D, et al. Nomogram for individualized prediction of hepatocellular carcinoma occurrence in hepatitis C virus cirrhosis (ANRS CO12 CirVir). *Hepatology*. 2016;64:1136-47. <https://doi.org/10.1002/hep.28702>
27. Bardou-Jacquet E, Legros L, Soro D, Latoumerie M, Guillygomarc'h A, Le Lan C, et al. Effect of alcohol consumption on liver stiffness measured by transient elastography. *World J Gastroenterol*. 2013;19:516-22. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i4.516>
28. Ho SY, Yuan MH, Chen CC, Liu PH, Hsu CY, Huang YH, et al. Differential Survival Impact of Diabetes Mellitus on Hepatocellular Carcinoma: Role of Staging Determinants. *Dig Dis Sci*. 2020;65:3389-3402. <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06053-4>
29. Wainwright P, Scorletti E, Byrne CD. Type 2 Diabetes and Hepatocellular Carcinoma: Risk Factors and Pathogenesis. *Curr Diab Rep*. 2017;17:20. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0851-x>
30. El-Serag HB, Hampel H, Javadi F. The association between diabetes and hepatocellular carcinoma: a systematic review of epidemiologic evidence. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4:369-80. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2005.12.007>
31. Ioannou GN, Green P, Lowy E, Mun EJ, Berry K. Differences in hepatocellular carcinoma risk, predictors and trends over time according to etiology of cirrhosis. *PLoS One*. 2018;13:e0204412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204412>
32. Sayiner M, Golabi P, Younossi ZM. Disease Burden of Hepatocellular Carcinoma: A Global Perspective. *Dig Dis Sci*. 2019;64:910-7. <https://doi.org/10.1007/s10620-019-05537-2>
33. Paranaquá-Vezozzo DC, Ono SK, Alvarado-Mora MV, Farias AQ, Cunha-Silva M, França JD, et al. Epidemiology of HCC in Brazil: incidence and risk factors in a ten-year cohort. *Ann Hepatol*. 2014;13:386-93
34. Trinchet JC, Chaffaut C, Bourcier V, Degos F, Henrion J, Fontaine H, et al. Ultrasonographic surveillance of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a randomized trial comparing 3- and 6-month periodicities. *Hepatology*. 2011;54:1987-97. <https://doi.org/10.1002/hep.24545>
35. Singh S, Facciorusso A, Loomba R, Falck-Ytter YT. Magnitude and Kinetics of Decrease in Liver Stiffness After Antiviral Therapy in Patients With Chronic Hepatitis C: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:27-38.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2017.04.038>
36. Semmler G, Meyer EL, Kozbial K, Schwabl P, Hametner-Schreil S, Zanetto A, et al. HCC risk stratification after cure of hepatitis C in patients with compensated advanced chronic liver disease. *J Hepatol*. 2021;S0168-8278:02234-0. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.11.025>
37. Huang Z, Guo X, Zhang G, Liang L, Nong B. Correlation between PNP-LA3 rs738409 polymorphism and hepatocellular carcinoma: a meta-analysis of 10,330 subjects. *Int J Biol Markers*. 2019;34:117-22. <https://doi.org/10.1177/1724600818812471>