

## CONCEITOS ATUAIS SOBRE OS ADENOMAS HEPATOCELULARES

*Dra. Cecilia Amelia Fazzio Escanhoela*

### 1. INTRODUÇÃO

Até recentemente, adenomas hepatocelulares (AH) eram considerados neoplasias hepáticas benignas e raras, que ocorriam quase que exclusivamente em mulheres em idade fértil (1:100.000 mulheres), usuárias crônicas de contraceptivos orais, relacionando-se à sua dose, tempo de uso e idade (geralmente após os 30 anos). Já era também conhecida sua associação (bem menos frequente) com o uso de esteroides anabolizantes/androgênicos, utilizados para tratamento da síndrome de Fanconi e para ganho de massa muscular. Tanto os estrógenos, como os androgênios, predispõem ao surgimento e crescimento do AH e sua descontinuidade pode levar à regressão. Outros agentes farmacológicos relacionados ao seu aparecimento, porém em frequência bem menor, incluem Clomifeno, Danazol e Carbamazepina. Podem ainda se associar a algumas doenças, como Glicogenose tipos I e III, Diabetes Melitus familiar, Polipose Adenomatosa Familiar, Síndrome de Klinefelter, Doença de Hurler e deficiências imunológicas graves combinadas. O parênquima hepático ao redor da lesão é normal ou esteatótico, com exceção dos casos em associação com doenças metabólicas, sem relação com cirrose. Suas complicações ocorreriam em lesões com mais de 5cm, sendo estas o sangramento abdominal por ruptura e sua malignização, com evolução para carcinoma hepatocelular (CHC) - neoplasia hepática maligna.

Nos últimos anos, no entanto, tem sido crescente o aparecimento de lesões em pacientes do sexo masculino, adolescentes e pacientes idosos, com presença de complicações em lesões menores que 5cm. Essa alteração no espectro clínico da doença acabou estimulando grande avanço nas pesquisas moleculares relacionadas a essa entidade, com a descoberta de mutações específicas, determinado fenótipos específicos. De acordo com essas mutações específicas, até bem recentemente, os AH eram classificados em 4 categorias (classificação genótipo-fenotípica dos AH). Pesquisas moleculares bem atuais, no entanto, propõem formas mistas destas lesões, incluindo mais 2 categorias.

## 2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, LABORATORIAIS E IMAGINOLÓGICAS

A sintomatologia, quando presente, não é exuberante. Discreta dor abdominal localizada em epigástrio e hipocôndrio direito e distensão ou desconforto abdominal são os sintomas mais encontrados. Laboratorialmente, elevações de enzimas canaliculares (fosfatase alcalina e gamaglutamil transferase) podem estar presentes. Quando ocorre transformação maligna, podemos observar elevação dos níveis séricos de alfafetoproteína (AFP). Uma das complicações do AH é sua ruptura, seguida de hemoperitônio. Esta complicação pode ocorrer em 20 a 30% dos casos, especialmente em tumores maiores que 5cm, com eventual evolução para abdômen agudo hemorrágico<sup>(1,2)</sup>. Do ponto de vista imaginológico, o aumento da lesão em 0,5-1,0cm, comparativamente a exames radiológicos anteriores, associado a aumento dos níveis séricos de AFP, aponta para transformação em CHC. Os achados radiológicos dos AH não são específicos e a ultrassonografia (US) pode revelar nódulos iso, hiper ou hipocogênicos, dependendo da presença de gordura, hemorragia ou necrose no interior da lesão. A hipervascularização dos AH pode ser evidenciada à US com Doppler, com demonstração de vasos arteriais periféricos e centrais dispostos de maneira desorganizada. Cápsula ou pseudocápsula pode estar presente. A US com contraste evidencia enchimento precoce e homogêneo na fase arterial, exceto quando há necrose ou hemorragia central. Assim como nas outras lesões focais benignas, as fases portal e tardia evidenciam nódulos isoecogênicos em relação ao parênquima normal. Na tomografia computadorizada os achados são semelhantes aos descritos acima, com nódulos iso ou hipodensos na fase pré-contraste, com enchimento na fase arterial, podendo ser homogêneos ou heterogêneos, conforme as zonas centrais de hemorragia ou necrose. Os achados da ressonância magnética (RNM) para o diagnóstico dos AH são inespecíficos. São hiperintensos nas sequências em T2 e, ocasionalmente, em T1, devido à presença de glicogênio, gordura ou hemorragia. Há intenso realce da lesão após a administração do gadolínio, tornando-se isointensa em relação ao parênquima hepático nas fases venosa e tardia. A sensibilidade da RNM, no diagnóstico dos adenomas, é de 75%<sup>(3)</sup>.

### 3. PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

Os AH costumam ser solitários (aproximadamente 80% dos casos), localizando-se preferencialmente no lobo direito <sup>(1)</sup>. Quando relacionados à terapia androgênica ou à glicogenose, podem ocorrer de forma múltipla (adenomatose), com mais de 10 lesões. Este é, no entanto, acontecimento raro, acometendo faixa etária menor. Em sua forma clássica, é redondo ou ovalado, bem delimitado, com consistência macia, não totalmente encapsulado, com cápsula fibrosa muito delgada ou ausente <sup>(1,4)</sup>. Geralmente faz proeminência na superfície hepática, podendo ser pedunculado; mede entre 3 a 5cm, mas pode chegar até 30cm de diâmetro! Exibe vasos de parede espessa na superfície externa; sua coloração é variegada, alternando áreas de hemorragia, necrose e cicatriciais. A superfície de corte pode ser marrom ou amarela, na dependência da presença de esteatose. A hemorragia intratumoral pode originar lesão castanhoavermelhada, necrótica e macia <sup>(5)</sup>.

Histologicamente, caracterizam-se por serem constituídos exclusivamente por hepatócitos distribuídos em trabéculas pouco espessas: três células no máximo. Estas trabéculas são separadas por sinusoides delgados, revestidos por endotélio. As mitoses são ausentes ou raras. O arcabouço reticulínico está preservado, sendo este importante fator no diagnóstico diferencial com o CHC bem diferenciado. As células geralmente são maiores que os hepatócitos normais, tendo o citoplasma mais claro ou pálido, na dependência da quantidade de depósito de glicogênio ou gordura. O núcleo tem a cromatina delicada e a relação núcleo/citoplasmática está preservada. Em alguns casos pode haver intensa atipia nuclear, especialmente nos casos associados à mutação do gene ativador da beta-catenina (ver adiante). Não há espaços-porta e/ou ductos biliares, porém depósitos de bile podem ser observados no citoplasma ou distendendo o polo canalicular. Ramos arteriais de tamanhos variados, por vezes grandes e tortuosos, bem como veias dilatadas e de parede delgada, estão presentes. Elementos hematopoéticos podem ser vistos, bem como eventuais granulomas não caseificantes. Também podem estar presentes áreas de necrose, degeneração mixoide do estroma, hemorragia e infartos recentes ou antigos. Áreas de fibrose e formação de septos podem gerar confusão diagnóstica

com Hiperplasia Nodular Focal (HNF) - outra lesão hepática benigna, com a qual faz importante e frequente diagnóstico diferencial, principalmente em material de biópsia percutânea <sup>(4)</sup>.

O diagnóstico diferencial mais importante, no entanto, é com o CHC bem diferenciado, principalmente nos adenomas associados à mutação do gene ativador da beta-catenina, nos quais as atipias celulares podem ser proeminentes ou pode haver, com maior frequência, transformação maligna da lesão. Os aspectos mais importantes são a espessura das trabéculas (nunca mais de três células) e a preservação do arcabouço reticulínico. No entanto, CHCs pequenos e bem diferenciados costumam ter arcabouço reticulínico também preservado. Outro dado importante, porém nem sempre representado na biópsia, é a ausência de cirrose no parênquima não tumoral, o que pode favorecer o diagnóstico de lesão maligna. Nestes casos, é de suma importância a informação clínico-laboratorial do paciente, incluindo a dosagem plasmática de AFP, a qual é normal ou pouco elevada ( $\leq 20\text{ng/ml}$ ) nos AH. Em alguns casos há necessidade de se realizar painéis imunohistoquímicos que objetivem este diagnóstico diferencial; os anticorpos mais utilizados são Glipican-3, Glutamina Sintetase (GS), HSP-70 e Ki-67. Muitas vezes, no entanto, principalmente em biópsias pequenas, o diagnóstico de certeza é muito difícil, quando não impossível <sup>(5)</sup>.

#### **4. Classificação genótipo-fenotípica dos AH**

A partir das publicações de Bioulac-Sage et al. em 2007 <sup>(6)</sup>, a classificação dos AH passou a se basear, principalmente, em algumas alterações moleculares que foram então detectadas: inativação bialélica do fator nuclear 1-alfa de hepatócitos (HNF-1A) e mutação do gene ativador da beta-catenina. Relacionando estas alterações moleculares às características patológicas e clínicas, Bioulac-Sage et al. propuseram a identificação de 4 subtipos de AH <sup>(6)</sup>.

**Mutações bialélicas com inativação do HNF-1A definiram o primeiro grupo dos AH, fenotipicamente caracterizados por esteatose acentuada, ausência de anormalidades citológicas e/ou infiltrado inflamatório.**

**Presença da mutação do gene ativador de beta-catenina definiu o segundo grupo, representando 15% dos casos, geralmente caracterizado por maior risco de transformação maligna para CHC.**

**O terceiro grupo dos AH foi definido pela presença de infiltrado inflamatório, com características adicionais mais ou menos óbvias, como dilatação sinusoidal, vasos distróficos e reação ductular.**

**Finalmente, o quarto grupo dos AH incluiu as lesões não mutadas para HNF-1A ou beta-catenina e sem infiltrado inflamatório.**

Para as confirmações destas alterações moleculares, propuseram a utilização de um painel imuno-histoquímico com 4 anticorpos <sup>(6)</sup>:

1. A ausência de expressão da proteína ligadora de ácidos graxos (**L-FABP**) se relacionou fortemente à mutação do HNF-1A (100% de sensibilidade e especificidade).
2. A combinação da superexpressão da glutamina sintetase (**GS**) e **B-catenina** nuclear foi excelente fator preditivo de mutação da beta-catenina (85% de sensibilidade; 100% de especificidade).
3. A positividade para a proteína amiloide sérica (**SAA**) foi ideal para classificar o AH como inflamatório (91% de sensibilidade e especificidade).

Utilizando-se destes marcadores, lesões que outrora haviam sido diagnosticadas como HNF telangiectásicas, passaram a ser classificadas como variante inflamatória dos AH. Relacionaram também os AH inflamatórios a pacientes com alto índice de

massa corpórea e consumo excessivo de álcool, sugerindo que tais fatores poderiam ter papel direto na gênese deste tipo de AH. Por outro lado, o desenvolvimento de AH em mulheres estaria associado à contracepção oral, qualquer que fosse o subtipo (7).

A classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2010 (8) reconheceu estes 4 subtipos de AH, com base em características morfológicas, imunohistoquímicas e moleculares. Esta classificação imunofenotípica do AH, com base na classificação molecular, tem sido amplamente utilizada em centros de referência em doenças hepáticas.

#### **AH relacionado à inativação do fator nuclear 1-alfa de Hepatócitos (HNF-1A): AH-H.**

Compreende 30% a 40% dos AH, com esteatose proeminente e sem atipia citoarquitetural significativa. É caracterizado por mutações inativadoras no gene HNF-1A. O HNF-1A regula positivamente o gene FABP1, que codifica a proteína ligante de ácido graxo do fígado (L-FABP). Nos hepatócitos normais, a L-FABP é expressa no citoplasma e, portanto, a perda da expressão da L-FABP é útil para o diagnóstico do AH-H (9,10,11,12).

#### **AH inflamatório (telangiectásico): AH-I.**

É responsável por 40% a 50% dos AH e é marcado por dilatação sinusoidal (telangiectasia) e inflamação. Septos fibrosos e reação ductular estão frequentemente presentes e podem imitar a HNF, especialmente na biópsia. Esta variante é caracterizada pela ativação da via de sinalização da interleucina (IL) -6 (via IL6 / JAK / STAT3) devido a mutações no gene IL6ST (60% de I-HCA) e menos comum em outros genes, como FRK, STAT3, GNAS e JAK1. Expressão difusa de reagentes de fase aguda, como proteína amilóide sérica (SAA) e/ou proteína C-reativa (PCR), podem ser demonstrados em >90% dos AH-I. A ativação da beta-catenina também ocorre em 10% dos AH-I, frequentemente devida às mutações no exon 3 CTNNB1. Tais tumores foram referidos como AH-I com ativação de beta-catenina, e seu risco de CHC é semelhante àqueles com ativação de beta-catenina, mas sem características inflamatórias (9,10).

**AH beta-catenina ativado: AH-B.**

Ocorre geralmente em pacientes do sexo masculino (~40%) e apresenta anormalidades citoarquiteturais frequentes, como alteração de pequenas células, arranjo pseudoacinar proeminente e atipias nucleares. É caracterizado pela ativação da sinalização Wnt, na maioria das vezes devido à mutação ou deleção do gene CTNNB1. A maioria das mutações ocorre no exon 3 em locais de serina/treonina ou aminoácidos vizinhos que previnem a fosforilação e a degradação de beta-catenina. Isto leva à translocação nuclear da beta-catenina, com ativação da família de fatores de transcrição TCF/LEF, levando à ativação transcricional de uma variedade de genes importantes para a proliferação celular. A demonstração de positividade nuclear de beta-catenina por imuno-histoquímica pode ajudar a identificar tumores com ativação de beta-catenina, enquanto que o padrão de expressão normal é a positividade submembranosa (na ausência de sua ativação). Como um dos genes ajuantes à ativação da sinalização Wnt é a GLUL, com sua ativação transcricional levando à expressão citoplasmática difusa de GS por imuno-histoquímica, a GS também pode servir como um marcador útil de ativação de beta-catenina. Tendo em conta as características histológicas atípicas e a associação frequente com o CHC concomitante ou subsequente, muito tem se argumentado sobre a não categorização destes tumores como AH <sup>(9,10)</sup>.

**AH não classificável:**

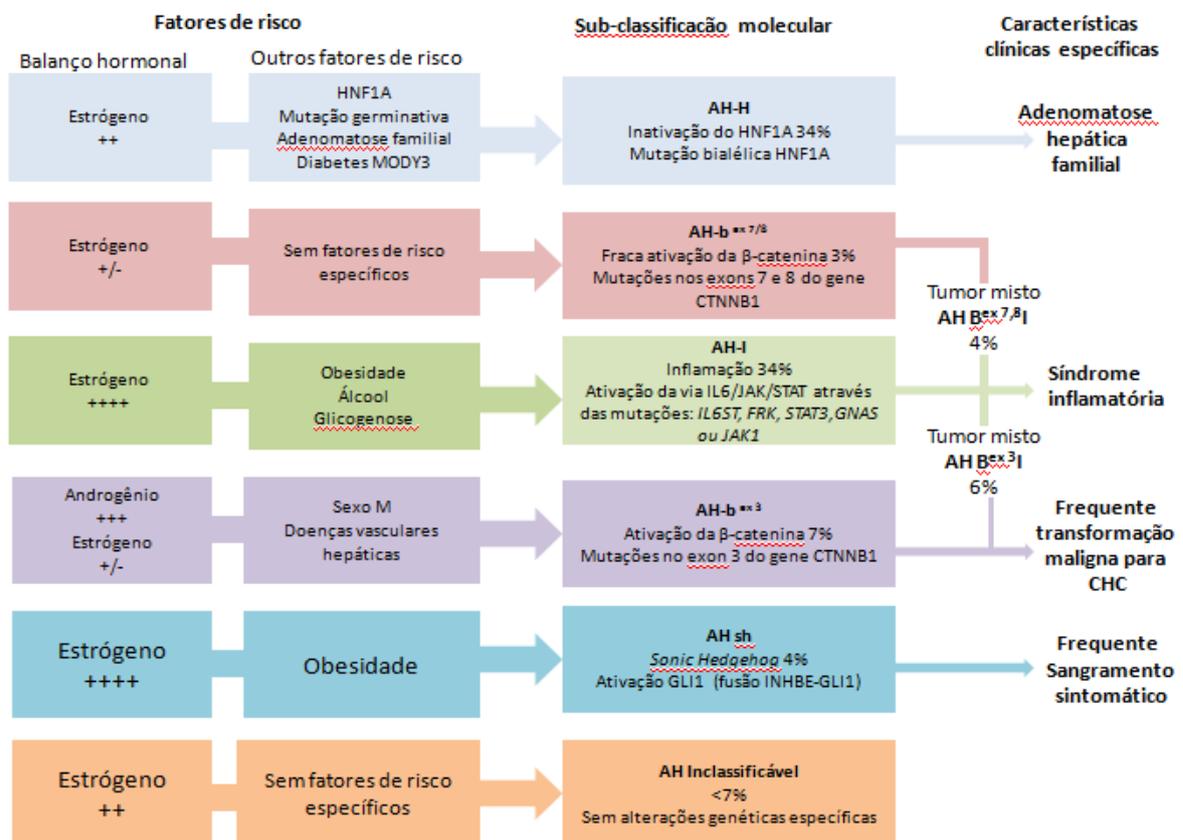
Não apresenta características morfológicas, imuno-histoquímicas ou moleculares dos subtipos reconhecidos. Estudos recentes sugerem subtipos adicionais, mas estudos adicionais ainda são necessários para confirmar se eles representam entidades distintas <sup>(9,10)</sup>.

**ESPECIFICAÇÕES ACERCA DESTAS ALTERAÇÕES MOLECULARES <sup>(11)</sup>**

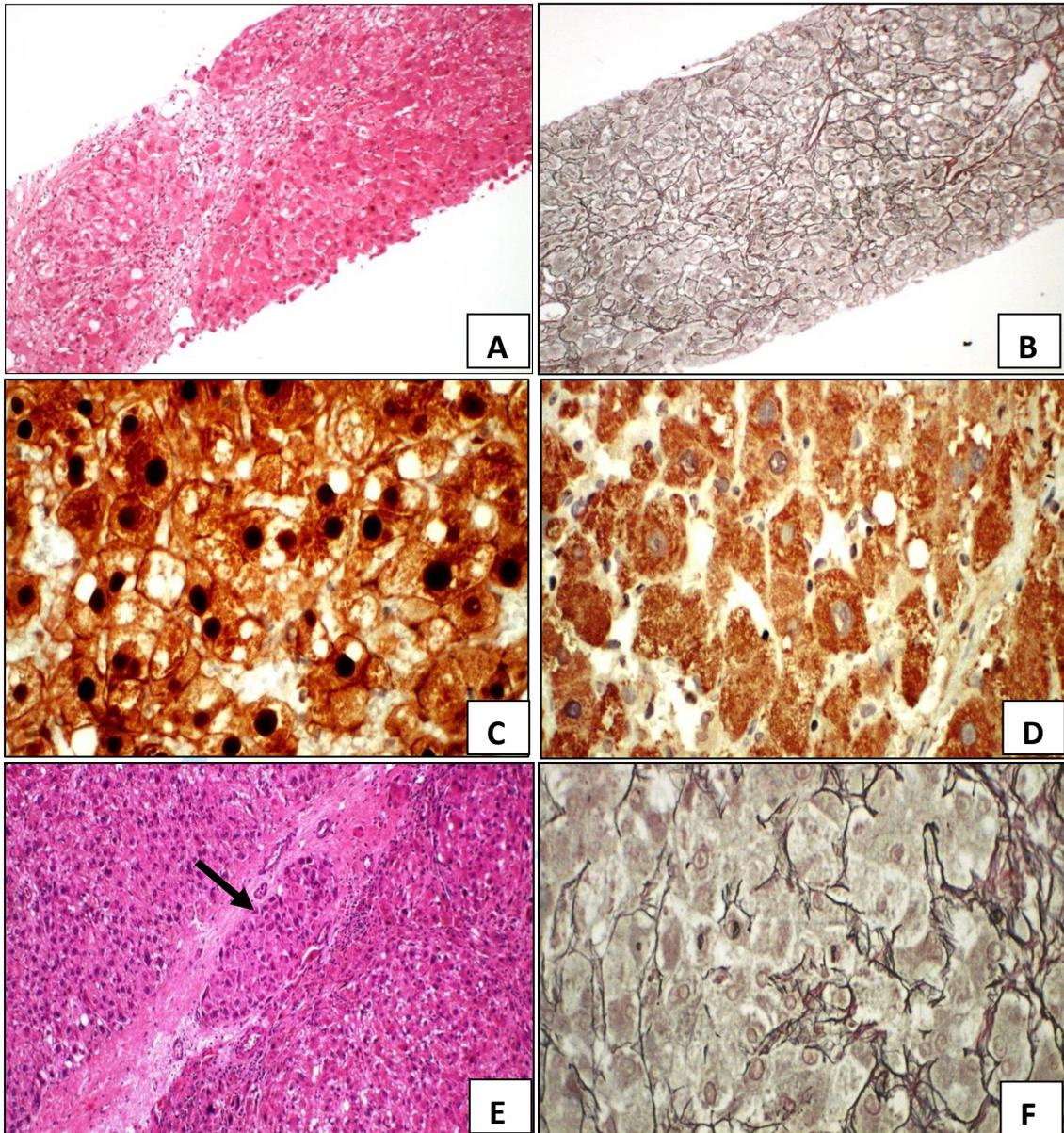
- O AH relacionado à ativação da beta-catenina com mutações no exon 7 ou 8: mutações no exon 7 (K335) ou 8 (N387) de CTTNB1 tipicamente demonstram fraca ativação da beta-catenina e não demonstraram estar associadas a alto risco para CHC. No entanto, essas mutações podem ser observadas no CHC (27%) e, portanto, a análise de uma grande série com dados de acompanhamento é necessária para se confirmar o baixo risco relatado de CHC com essas mutações. Positividade difusa da GS geralmente não é vista nestes AH, porém até 10% dos casos podem mostrar positividade heterogênea difusa. Mutações em exons 7/8 e exon 3 tendem a ser mutuamente exclusivas.
- AH “*sonic hedgehog*” (AH sh): este subgrupo corresponde a 4% dos AH e está significativamente associado à obesidade e risco para sangramento. Caracteriza-se pela ativação da via *hedgehog* devido a pequenas deleções somáticas de INHBE, levando à fusão de genes INHBE e GLI1. Superexpressão de 6 genes, incluindo PTGDS, HHIP, FRCLA, PTCH1, GPR97 e TNNC1, tem sido descrita neste subtipo. Positividade imuno-histoquímica a PTGDS foi demonstrada neste sub-tipo tumoral, enquanto o fígado não neoplásico é negativo.
- AH-argininasuccinato sintase 1 (ASS1) positivo: estes AH demonstram aumento da via biossintética da arginina, em particular a ASS1, e apresentam alto risco de sangramento. Não está claro se eles representam um novo subgrupo do AH sh, já que 65% de casos positivos para ASS1 no estudo corresponderam a AH sh. A positividade para ASS1 também pode ser vista no AH-I hemorrágico e, portanto, essa entidade ainda não está totalmente estabelecida.

## PROPOSTA MAIS RECENTE DE CLASSIFICAÇÃO DOS AH (CLASSIFICAÇÃO DE BORDEAUX, 2018)

Artigos bem recentes <sup>(9,11,12)</sup>, baseados em pesquisas moleculares mais específicas, têm confirmado a importância da utilização da imuno-histoquímica como um substituto útil para a classificação molecular dos AH, bem como sugerido a existência de formas mistas entre o AH inflamatório (AH-I) e o AH-B com mutação no exon 3 da CTTNB1 e entre o AH-I e o AH-B com mutações nos exons 7/8, indo de acordo com as sobreposições morfológicas observadas entre estes sub-tipos.



**Fig. 1.** Nova classifica o genótipo-fenotípica dos adenomas hepáticos: proposta por Nault et al. (Adaptado da referência #9)



**Fig. 2.** Caso ilustrativo de adenoma hepático beta-catenina ativado com transformação para carcinoma hepatocelular (CHC) – paciente de 35 anos, sexo masculino.

A a D - Biópsia percutânea: A- Hematoxilina & Eosina (HE) – 100x; B- Impregnação argêntica demonstrando riqueza de fibras reticulínicas – 100x; Positividade nuclear para B-catenina (C) e superexpressão citoplasmática para GS (D) – ambas 400x; E e F - CHC demonstrado na avaliação do espécime cirúrgico: E- HE com foco de infiltração estromal - 100x; F- áreas de diminuição de fibras reticulínicas – 400x.

**REFERÊNCIAS**

1. Szor DJ, Ursoline M, Herman P. **ABCD Arq Bras Cir Dig.** 2013; 26 (3): 219-222.
2. Dokmak S et al. **Gastroenterol.** 2009; 137: 1698-1705.
3. Branco F. <http://www.sbhepatologia.org.br/fasciculos/14.pdf> - 2009
4. Escanhoela CAF, Costa LBE. Patologia Diagnóstica de Tumores, 3ª Ed., 2017, p. 384. Campinas-SP: Novo Enfoc Impressão Digital.
5. Dhingra S & Fiel MI. **Arch Pathol Lab Med.** 2014; 138: 1090–1097.
6. Bioulac-Sage P et al. **Hepatology.** 2007; 46: 740-748.
7. Bioulac-Sage P et al. **Am J Surg Pathol.** 2012; 36(11): 1691–1699.
8. Kondo F et al. **Oncology.** 2014; 87(S1): 37–49.
9. Nault JC, Paradis V, Cherqui D et al. **J Hepatol.** 2017; 67(5):1074-1083.
10. Choi W-T & Kakar S. **Adv Anat Pathol.** 2018; 25(4): 254-262.
11. Miller GC et al. **Pathology.** 2018; 50(6): 593-599.
12. Bioulac-Sage P et al. **Clin Res Hepatol Gastroenterol.** 2018 (In press).