

ALGORITMO COMPUTACIONAL PARA A AVALIAÇÃO DO CARCINOMA
HEPATOCELULAR EM IMAGENS DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA APÓS A
QUIMIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL

MATHEUS ALVAREZ

Resultados de tese
apresentados ao Instituto de Biociências,
Câmpus de Botucatu, UNESP, para
obtenção do grau de Doutor no Curso de
Doutorado no Programa de Pós-
Graduação em Biologia Geral e
Aplicada, Área de concentração Biologia
Celular Estrutural e Funcional.

BOTUCATU - SP

2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

ALGORITMO COMPUTACIONAL PARA A AVALIAÇÃO DE HEPATOCARCINOMAS
EM IMAGENS DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA APÓS A
QUIMIOEMBOLIZAÇÃO TRANSARTERIAL

MATHEUS ALVAREZ

Orientador: PROF^a. DR^a. DIANA RODRIGUES DE PINA

Resultados de tese apresentados ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para obtenção do grau de Doutor no Curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biologia Celular Estrutural e Funcional.

BOTUCATU - SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Alvarez, Matheus.

Algoritmo computacional para a avaliação do carcinoma hepatocelular em imagens de tomografia computadorizada após a quimioembolização transarterial / Matheus Alvarez. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu
Orientador: Diana Rodrigues de Pina
Coorientador: José Ricardo de Arruda Miranda
Capes: 20903006

1. Fígado - Câncer. 2. Wavelets (Matemática). 3. Processamento de Imagens. 4. Algoritmos de computador. 5. Quimioembolização Terapêutica. 6. Tomografia.

Palavras-chave: Câncer de Fígado; Carcinoma Hepatocelular; Processamento de Imagens; Resposta de Tumores Sólidos; Wavelets.

RESUMO

ALVAREZ, M. **Algoritmo computacional para a avaliação de hepatocarcinomas em imagens de tomografia computadorizada após a quimioembolização transarterial.** 2014. 57f. Resultados de teste (Doutorado) – Instituto de Biociência de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2014.

O carcinoma hepatocelular (CHC) é um tumor primário do fígado e envolve diferentes modalidades de tratamento de acordo com seu estadiamento. Depois de terapias locais, como a quimioembolização transarterial (do inglês, *Transarterial Chemoembolization*), a avaliação do tumor se baseia nos critérios mRECIST (do inglês, *Modified Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*), que envolvem a medição do diâmetro máximo da lesão viável. Esta pesquisa teve como objetivo o desenvolvimento de um algoritmo para a quantificação objetiva da eficiência da quimioembolização na redução de volume e diâmetro máximo do CHC. Foram utilizados 64 exames retrospectivos de Tomografia Computadorizada (TC) de 32 pacientes. Nesta pesquisa foram comparadas, em pacientes que receberam tratamento por quimioembolização, as medidas do diâmetro maior do CHC viável, estimadas por especialista da área de radiologia e pelo algoritmo desenvolvido neste estudo. O Volume Tumoral Total (VTT) dos CHC antes e após o processo de quimioembolização também foram estimados utilizando um algoritmo, desenvolvido com base em transformadas discretas de *wavelet* (DWT). Um fantoma virtual simulando as características do fígado normal e contrastado foi desenvolvido para o planejamento, desenvolvimento e validação do algoritmo de detecção. A comparação do diâmetro máximo do tumor, estimado por um especialista e pelo algoritmo revelou diferenças na ordem de 0,25 cm para os tumores de grandes dimensões (diâmetro > 5 centímetros), enquanto uma diferença menor que 0,1 cm foi encontrada para os tumores de pequenos diâmetros. Reduções de CHC na ordem de $51,5 \pm 70,0\%$ e $62,8 \pm 75,6\%$ após a quimioembolização foram encontradas no método do diâmetro e volume estimado, respectivamente, enquanto $57,8 \pm 64,1\%$ e $70,6 \pm 36,4\%$ foram encontrados pela segmentação do CHC para o maior diâmetro e volume, respectivamente. A maior diferença pode ser explicada pelo fato do algoritmo descontar áreas de necrose tumoral, visto que isso é difícil em alguns casos de CHC onde a necrose aparece difusa no tumor. A correlação de Pearson entre resposta e sobrevida analisada foi de 0,46 para volume segmentado e 0,17 para o diâmetro. Dessa forma, os resultados apresentados nesta pesquisa vêm colaborar com os métodos subjetivos de medição dos tumores apresentando maior confiabilidade na avaliação das áreas de realce do CHC. Essa

pesquisa traz contribuições originais para a comunidade científica com os algoritmos para quantificação objetiva de tumores no fígado, a serem utilizados com confiabilidade de modo a otimizar a relação risco-benefício para o paciente e custo-benefício para a instituição.

Palavras-chave: CHC, processamento de imagens, tumor de fígado.

ABSTRACT

ALVAREZ, M. **Computational algorithm to the evaluation of hepatocellular carcinoma in TC-images after transarterial chemoembolization.** 2014. 57f. Resultados de teste (Doutorado) – Instituto de Biociência de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2014.

Background

Hepatocellular carcinoma (HCC) is a primary liver tumor and involves different types of treatment according to tumor staging. After local therapies such as transarterial chemoembolization (TACE), the evaluation of the tumor is based on mRECIST criteria (Modified Response Evaluation Criteria In Solid Tumors), which involves the measurement of the maximum diameter of the viable lesion. This research aimed to develop an algorithm for objective quantification of the efficiency of chemoembolization in reducing volume and maximum diameter CHC. 64 retrospective examination of computed tomography (CT) of 32 patients were used. Measures of patients who were treated by chemoembolization were compared using the measures of larger diameter viable CHC, estimated by specialist radiology and the algorithm developed in this study. The Total Tumor Volume (TTV) of CHC before and after chemoembolization process were also estimated using an algorithm developed based on Discrete Wavelet Transform (DWT). A virtual phantom simulating the characteristics of normal liver and contrasted was developed for planning, development and validation of detection algorithm. The comparison of the maximum tumor diameter, estimated by an expert and the algorithm revealed differences in the order of 0.25 cm for large tumors (diameter > 5 cm), while less than 0.1 cm difference was found for tumors of small diameters. CHC reductions of $51.5\% \pm 70.0$ and $62.8 \pm 75.6\%$ were found after chemoembolization method in diameter and estimated volume, respectively, and $57.8\% \pm 64.1$ and $70.6 \pm 36.4\%$ They were found by targeting the CHC for the larger diameter and volume, respectively. The biggest difference can be explained by the fact that the algorithm does not count areas of tumor necrosis, whereas it is difficult for the radiologist in some cases where CHC necrosis appears diffuse in the tumor. The Pearson correlation between response and analyzed survival was 0.46 and 0.17 for segmented volume and diameter. Thus, the results presented in this research come collaborate with subjective measurement of tumors showing higher reliability

methods in the evaluation of the areas of enhancement of HCC. This research brings unique contributions to the scientific community with the algorithms for objective quantification of tumors in the liver, to be used in order to optimize the risk-benefit ratio for the patient and cost-effective for the institution.

Keywords: HCC, image processing, liver tumor.

AGRADECIMENTOS

À Victoria, minha filha querida, que veio trazer luz e sentido ao meu mundo. Sem você eu tenho certeza de que não terminaria nem a graduação.

À Luciana, minha cara metade, minha vida e minha companheira de cada dia. Obrigado por cada minuto junto a você, que ilumina o mais negro dos momentos com um sorriso lindo, um abraço carinhoso e um beijo quente. Nosso companheirismo me faz feliz cada dia mais. Eu te amo.

À minha Mãe que sempre trabalhou tanto, voltou a dar plantão para terminar de criar os três filhos e mesmo assim estava em casa para almoçar e assistir novela das nove. Amor materno com certeza é uma coisa que nunca me faltou, te amo.

Ao meu Pai e Erika por acreditarem em mim. Com vocês eu aprendi que depende só de nós construir um amanhã melhor que hoje, que sempre devemos buscar o algo mais interior e que ser feliz é a única coisa que importa na vida. Sempre vou mirar nas estrelas.

Aos meus irmãos, Renata e Vitor, por me aturarem e, de vez em quando, rirem das minhas piadas sem graça. Amo vocês. Ah, Rê, passa na MS depois?

À minha orientadora Diana Rodrigues de Pina pelos anos de companheirismo e aprendizado ímpares nos quais me formei como físico médico e como pessoa, com quem aprendi a andar e com quem tenho certeza de poder contar para todos os próximos anos que ainda estão por vir. Muito obrigado pela oportunidade e por cada aposta feita em mim, espero estar à altura de um dia retribuir tudo o que a senhora já fez por mim.

Ao meu orientador, amigo, companheiro e chefe para a vida inteira, José Ricardo de Arruda Miranda por ter acreditado naquele carçudo de havaianas que veio pedir estágio. Dessa aposta saiu uma verdadeira amizade para a vida inteira.

Ao meu professor, chefe e o médico com mais paciência nesse mundo Fernando Gomes Romeiro, obrigado pela paciência e experiência nas horas ruins e sabedoria, confiança e risadas em todas as outras.

À Consult, por tudo que ela representa na minha vida e na qual conto para fazer a diferença nesse mundo tão cheio de más notícias. Sua integridade, bom senso e honestidade será sempre um exemplo para todas as empresas.

À minha Vó, Maria Luiza Perilo, fundadora do Ensino Fundamental da cidade de São Paulo e integrante da primeira turma de polícia feminina de São Paulo sua garra, amor, paciência e vontade é um exemplo do qual nunca vou esquecer.

Ao meu Vô Dante e à minha Vó Nena, o suor de vocês foi o primeiro passo para que este trabalho fosse um dia realizado. Tentarei sempre estar à altura do sacrifício que vocês fizeram e fazem pela nossa família.

Aos meus amados Padrinhos, Tia Márcia e Tio Beto e primas Maysa e Bruna vocês fazem parte da melhor parte da minha vida. Muito obrigado por cada conselho, sorriso, almoço (risos) e carinho.

Ao meu tio Marcelo, Giovana, Davi, Deivid e Lelo, por mostrarem que um núcleo de família tão improvável pode ser tão feliz e bonito. Vocês são lindos.

A minha tia Magda, você sempre foi lembrada pelo seu carisma, inteligência e beleza. Seu amor pela vida continua sendo lembrado por todos e seu sorriso continua recepcionando todos que entram na casa da vó.

Ao meu Tio Rodrigo que apesar de ser uma mala sem alça é carinhoso, honesto e sempre disposto estender a mão para nos tirar do buraco. Obrigado.

Ao pessoal do Grupo de Pesquisa Biomag Lafar e agregados, Prof. José Roberto, Agostinho, Ana Júlia, Allan, Juliana, Thiago e esposa, Geléia, André Próspero, Deivid, Fernando, Marcos, Lemão, Privado, Uilian, Ana Luiza, Caio, Marcela, Maria Eugênia, Nadine, Luciana, Madilene, e qualquer outro que provavelmente eu esqueça, obrigado pelos momentos compartilhados, experiências trocadas e portas abertas.

À MS Medical, Prof Sérgio, Gustavo, Larissa, Juliana, Nilsinho, Cláudio, Dona Lúcia, Rodrigo e Elvis que sempre me socorreram nos apertos em que me meti e mantiveram um contato válido para a vida inteira. Muito obrigado.

Ao pessoal do Tomocentro, Centro da Mama, Multimagem, Vitalitá, CDI Unimed e IDI de Botucatu, muito obrigado pela confiança, carinho e companheirismo.

Ao XXT por manterem minha cota de risada diária.

Ao Grupo de Vigilância Sanitária de Botucatu, em especial ao Dr. Eduardo Kruppa, que está sempre aberto para as minhas dúvidas. A integridade e experiência de vocês é um exemplo que vou levar para a vida inteira.

Ao Professor Sérgio Barbosa Duarte pelas valorosas contribuições desde a época da graduação, você com certeza traz consigo uma dose de alegria e experiência que transforma o dia de todos a sua volta.

À UNESP pela oportunidade de realizar este trabalho e tornar possível toda essa conquista.

À CAPES pelo apoio financeiro.

LISTA DE FIGURAS

Fig 1. Aplicação do método de avaliação mRECIST em Carcinomas Hepatocelulares (CHCs). Medida do tumor alvo na fase arterial do exame tomográfico. (A) Medida do maior diâmetro de acordo com a metodologia RECIST, e (B) medida do maior diâmetro do tumor de acordo com o critério mRECIST para CHC.	4
Fig 2. Localização anatômica dos 8 segmentos do fígado (RUTKAUSKAS et al., 2006).....	7
Fig 3. Exemplo da quimioembolização transarterial (TACE) (STUART, 2003). Em (A) é mostrada a localização do tumor através da angiografia por subtração digital, nota-se que o tumor (localizado pela seta) se enche de contraste antes da liberação do quimioterápico/microesferas. Em (B), logo após da liberação das microesferas, os vasos que antes alimentavam o tumor são obstruídos e o tumor não é mais preenchido pelo contraste como em (A).....	14
Fig 4. Esquema de formação de imagem digital (GONZALEZ et al., 2004).....	16
Fig 5. Exemplo de decomposição da imagem utilizada na transformada de wavelet discreta (GONZALEZ e WOODS, 2002).	18
Fig 6. Exemplo de decomposição utilizando a transformada discreta de wavelet. Pode-se notar como a borda do paciente pode ser melhor visualizada nas decomposições menores (1) enquanto mais baixas frequências podem ser visualizadas em escalas maiores. A seta branca marca onde se encontra a maior energia relativa ao interior costela da imagem original (seta branca à esquerda) em relação à decomposição WT, que no caso seria a segunda decomposição nos detalhes diagonais (seta branca à direita).....	18
Fig 7. Duas projeções de um objeto que consiste em um par de cilindros (BUSHBERG, 2002; KAK e SLANEY, 2001).....	21
Fig 8. Um feixe paralelo de raios x se propagando através da seção transversal de um corpo humano (KAK et al., 2001).....	22
Fig 9. Distribuição da intensidade de pixel para tecido hepático. Em (a) observa-se a distribuição para intensidade de pixel da imagem de fígado normal, e em (b) a mesma distribuição no caso de um CHC contrastado. As distribuições gaussianas apresentaram valores de 55 ± 10 UH para tecidos normais e 90 ± 11 UH para tecidos contrastados do fígado. A superposição de (a) e (b) é representada pela curva (c). Em (d) observa-se o histograma real extraído da imagem.	28
Fig 10. Fluxograma do algoritmo otimizado.	30

Fig 11. Resultados dos passos do algoritmo de segmentação onde (A) é a delimitação dos pontos iniciais (sementes). (B) Resultado da filtragem wavelet para realce da área contrastada do fígado. (C) Resultado da da técnica de crescimento de região. (D) Resultado da operação de erosão seguida de dilatação. (E) Resultado da segmentado em verde localizado na imagem.30

Fig 12. Volumetria de CHC antes e após a quimioembolização. Em (A) pode-se observar um CHC de 26.5cm³ de volume contrastado antes da quimioembolização que, após o tratamento, apresentou 0.3cm³ de volume contrastado (observado em B).32

Fig 13. Curva de sobrevida mostrada por TOSO et al. (2008) com comparação da sobrevida de pacientes após transplante para diferentes estadiamentos do CHC.24

Fig 14. Resultados para o algoritmo utilizando fantoma virtual. Esferas de 10 cm, 8 cm, 6 cm, 4 cm, 2 cm e 0.5cm foram inseridas no fantoma utilizando a gaussiana de tecidos contrastados enquanto o fundo foi gerado com a gaussiana de tecidos do fígado. Em (A) está representado o fantoma. Em (B) um resultado utilizando as técnicas do algoritmo sem a pré filtragem com a transformada wavelet e (c) com a pré filtragem utilizando a tranformada wavelet.34

Fig 15. Resultados do algoritmo quando aplicados ao fantoma virtual, mostrados pelo gráfico de espalhamento do diâmetro de CHCs simulados na figura 2 e medidos pelo algoritmo. Uma concordância de 0.2 cm foi atingida. A linha central corresponde à média das diferenças enquanto as linhas superior e inferior correspondem aos limites de 2 desvios padrão.35

Fig 16. Exemplos da segmentação do CHC em quatro corte tomográficos. (A-D) corte tomográfico antes da segmentação. (E-H) corte tomográfico após a segmentação.36

Fig 17. Correlação entre o algoritmo e a medida do radiologista. Comparação entre o máximo diâmetro medido pelo radiologista comparados com os do algoritmo. O ajuste linear entre as medidas apresentou um R² de 0.97 enquanto o teste *t* apresentou um *p* de 0.13, indicando não haver diferença significativa entre as medidas.37

Fig 18. Comportamento do algoritmo para CHCs realçados. Gráficos de Blant-Altman (diferença entre as medidas *versus* média entre as medidas) são apresentados nessa figura. Em (A) estão mostrados os nódulos de 1.0cm a 3.0cm de diâmetro, em (B) os nódulos de 3.0 a 5.0cm de diâmetro e em (C) os nódulos de 5 a 14 cm de diâmetro, segundo o radiologista. Linhas centrais correspondem às médias das diferenças enquanto as linhas superiores e inferiores correspondem, respectivamente, aos limites de 2 desvios padrão.37

Fig 19. Curva de Sobrevida baseada na resposta utilizando o critério mRecist tradicional. A linha vermelha apresenta a sobrevida de pacientes com resposta completa à quimioembolização (sem sinal de tumor viável após a quimioembolização), a linha amarela apresenta a sobrevida de pacientes com resposta parcial (diminuição até 30% do diâmetro tumoral), a verde apresenta a sobrevida de pacientes com resposta estável (redução menor que 30% do diâmetro ou aumento de até 20%) e a linha azul os pacientes com resposta progressiva (aumento de mais de 20% no diâmetro)..... 39

Fig 20. Curva de Sobrevida baseada na resposta utilizando o critério mRecist aplicado à análise volumétrica do carcinoma hepatocelular. A linha vermelha apresenta a sobrevida de pacientes com resposta completa à quimioembolização (sem sinal de tumor viável após a quimioembolização), a linha amarela apresenta a sobrevida de pacientes com resposta parcial (diminuição até 30% do volume tumoral), a verde apresenta a sobrevida de pacientes com resposta estável (redução menor que 30% do volume ou aumento de até 20%) e a linha azul os pacientes com resposta progressiva (aumento de mais de 20% no volume). ... 39

Fig 21. Diferença entre o maior diâmetro medido entre os pacientes pré e pós quimioembolização com uma redução média \pm desvio de $57.8 \pm 64.1\%$ 40

Fig 22. Diferença entre a estimacão do TTV e o medido computacionalmente para os momentos pré e pós quimioembolização o volume médio pelo cálculo baseado no maior diâmetro apresentou redução média de $62.8 \pm 75.6\%$ enquanto pelo algoritmo a redução média foi de $70.6 \pm 36.4\%$ 41

Fig 23. Logaritmo do volume de CHC pós quimioembolização estimado pelo método do diâmetro e segmentado pelo algoritmo em 9 pacientes com CHC acima de 5 cm de diâmetro pós quimioembolização. O volume de 65.4 cm^3 foi obtido pela estimacão do volume pela equaçã de uma esfera como realizado em TOSO et.al enquanto o volume de 115 cm^3 denota o limiar proposto para VTT. 42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de avaliação RECIST e mRECIST	12
Tabela 2. Diferença entre a estimativa do algoritmo e do radiologista do máximo diâmetro do CHC.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

CHC – Carcinoma Hepatocelular

TH – Transplante Hepático

mRECIST – *modified Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*

TACE – *Transarterial Chemoembolization*

RECIST - *Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*

DWT – *Discrete Wavelet Transform*

TDW – Transformada Discreta de Wavelet

TC – Tomografia Computadorizada

UH – Unidades Hounsfield

MRA – Análise Multiresolução

BCLC – *Barcelona Clinic Liver Cancer*

VTT – Volume Tumoral Total.

EASL – *American Association for the Study of Liver Diseases*

AASLD – *European Association for the Study of the Liver*

SUMÁRIO

1	Introdução	2
2	Fundamentos Teóricos	7
2.1	Anatomia do Fígado	7
2.2	O Carcinoma Hepatocelular (CHC) e a Classificação de Barcelona	8
2.3	Avaliação da Resposta Tumoral.....	11
2.4	Quimioembolização Transarterial (TACE).....	13
2.5	Processamento de Imagens Digitais.....	15
2.6	A Transformada Discreta de Wavelet (TDW) Aplicada a Imagens	17
2.7	Princípios de aquisição de imagens de tomografia computadorizada (TC)	20
2.8	Medição do Volume Tumoral Total (VTT)	23
3	Material e Métodos	26
3.1	Amostra de dados TC	26
3.2	CrITÉrios de Inclusão e Exclusão	27
3.3	Construção do Fantoma Virtual para Otimização do Algoritmo de Segmentação	27
3.4	Descrição do Algoritmo Otimizado para Detecção de Áreas Hepáticas Contrastadas	28
3.5	Avaliação Estatística	31
3.6	Volumetria do CHC.....	31
4	Resultados	34
4.1	Segmentação do fantoma simulado.....	34
4.2	Segmentação de Imagens Reais	35
4.3	Comparação entre análise volumétrica e pelo diâmetro quando comparados com a sobrevida	38
4.4	Eficiência da quimioembolização no tamanho de tumor viável	40
5	Discussão	44
6	Conclusões	48
7	Referências Bibliográficas	50
8	Apêndices.....	2
8.1	Protocolo de Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa	2
8.2	Artigos publicados relevantes ao tema da tese.....	3

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Física Aplicada ao Radiodiagnóstico (LAFAR), devidamente aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) sob o processo: 485/2012. Os exames retrospectivos de tomografia computadorizada utilizados neste estudo foram de pacientes do Hospital das Clínicas de Botucatu (HCB-UNESP).

Este estudo envolve algumas etapas distribuídas detalhadamente, em capítulos, ao longo desta tese conforme descrito a seguir:

O capítulo 1 apresenta o levantamento bibliográfico historiando os principais assuntos envolvidos nesta tese com justificativas e relevância do tema. Ainda nesse capítulo é apresentado um subitem contendo os objetivos gerais e específico abordado nesta pesquisa.

O capítulo 2 apresenta os fundamentos teóricos, como subsídios para o leitor contendo fundamentos pertinentes ao tema da pesquisa, referenciados em toda a tese.

O capítulo 3 descreve os materiais e metodologia empregadas nesta pesquisa, como a descrição da metodologia utilizada para construção dos algoritmos quantificadores de diâmetro e volume do tumor no fígado antes e após o processo de quimioembolização, bem como o método subjetivo adotado pelo especialista da área de radiologia.

O capítulo 4 aborda os resultados obtidos proveniente dos métodos empregados nos problemas abordados nesta pesquisa.

O capítulo 5 é constituído pelas discussões dos resultados previamente apresentados no Cap. 4.

O capítulo 6 apresenta, por tópicos, as conclusões finais desta pesquisa

O capítulo 7 mostra a bibliografia utilizada para compor esta tese.

Apêndice - Protocolo de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) e artigos publicados pelos autores do trabalho durante a realização do mesmo.

Capítulo 1

Introdução

*“Em larga medida, só engana com eficiência a si mesmo
quem não pretende fazer isso”*

-Eduardo Giannetti em Auto-Engano.

1 Introdução

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o principal tumor de origem no fígado, sendo o tipo histológico encontrado em 80-90% dos casos de tumor primário do órgão (GOMAA et al., 2008; LAU e LAI, 2008). É o quinto tipo de neoplasia mais frequente, e o terceiro maior responsável pela mortalidade por câncer, com mortalidade maior encontram-se apenas o câncer de pulmão e de estômago (LAU e LAI, 2008). Em duas décadas a incidência do CHC nos Estados Unidos cresceu 80% e a expectativa é que a prevalência continue subindo devido ao aumento de doenças crônicas do fígado como as hepatites virais crônicas B e C, o consumo do álcool e a esteatose hepática (GOMAA et al., 2008).

O Transplante Hepático (TH) é o tratamento recomendado quando o paciente é considerado como tendo estadiamento precoce, com base nos diâmetros máximos do tumor e na ausência de tumores fora do fígado (LLOVET et al., 1999). Estudos anteriores apoiam a eficácia do TH em pacientes que preencham os critérios de Milão (tumor único com um diâmetro ≤ 50 milímetros ou até 3 nódulos com diâmetros ≤ 30 milímetros) adotados pela *United Network for Organ Sharing* (UNOS) (EL-SERAG, 2011; LAU, 2002). Os critérios de Barcelona mostram que o transplante de fígado só deve ser recomendado se o paciente tem CHC dentro desses critérios (LAU, 2002; MAZZAFERRO et al., 1996).

Quando qualquer tipo de terapia local é usado a fim de reduzir o tamanho do tumor, os nódulos de CHC são reavaliados de acordo com os critérios mRECIST (do inglês *Modified Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*), que exigem que apenas lesões bem delineadas, arterialmente hipervascularizadas possam ser selecionados como tecido tumoral viável (LENCIONI e LLOVET, 2010). Usando exames com contraste intravenoso, como a Tomografia Computadorizada (TC), o tumor viável é medido na fase arterial, permitindo a separação visual entre o tumor vascularizado viável e o tecido necrótico (região sem células tumorais viáveis, com menor realce que o tecido do fígado) (LIN et al., 2010; SATO et al., 2013). O maior diâmetro do tumor viável deve ser cuidadosamente avaliado pela TC, uma vez que a decisão de qual tratamento será mais indicado para cada paciente é diretamente afetada

por essa medida (LENCIONI e LLOVET, 2010). Segundo os critérios, a medição do diâmetro do tumor viável não deve incluir áreas de necrose (LENCIONI e LLOVET, 2010). Porém os grandes nódulos e os tumores previamente submetidos a terapias locais são muitas vezes ocupados por áreas de necrose, tornando difícil calcular a área viável destes tumores (SATO et al., 2013), e conseqüentemente, provocando erros na quantificação pelo radiologista.

Para redução tumoral antes de um tratamento definitivo, muitos pacientes com CHC recebem terapias não-curativas, a fim de alcançar melhores índices de sobrevida. O procedimento mais utilizado nestes casos é a Quimioembolização Transarterial (do inglês, *Transarterial Chemoembolization*, TACE), apresentada com maiores detalhes na seção 2.C. Este tipo de tratamento é constituído por infusões de um agente quimioterapêutico através das artérias responsáveis pela nutrição e oxigenação do tumor (LIN et al., 2010). Assim que a infusão termina, o vaso é fechado com microesferas, a fim de isolar o agente quimioterapêutico no interior do tumor e destruir o máximo possível o tecido tumoral (LIN et al., 2010). Como resultado, o tratamento provoca uma redução da lesão inicial, o que pode ser visto como uma área de necrose no interior do tumor.

Devido à importância do tamanho do tumor na escolha do melhor tratamento para pacientes que apresentam CHC, o método de avaliação das lesões deve ser tão preciso e reprodutivo quanto possível (LENCIONI e LLOVET, 2010). Quando o diâmetro máximo do tumor ultrapassa os limites estabelecidos pelos critérios de inclusão na lista de transplante hepático (TH) e não há tumor localizado externamente ao fígado, a quimioembolização é uma das modalidades de tratamento utilizada para reduzir os tumores. Não obstante, a reavaliação através de exames contrastados após a quimioembolização pode ser difícil, visto que as lesões tendem a apresentar diversas áreas necróticas em seu interior, dificultando a medição tumoral. Uma vez que existem critérios rigorosos usados para indicar qual tratamento deve ser realizado para pacientes com carcinoma hepatocelular e os critérios utilizados baseiam-se no tamanho do tumor, uma avaliação não subjetiva é uma ferramenta importante a ser considerada.

A eficácia da quimioembolização pode ser medida pela diminuição da lesão alvo. Quando o tumor tem redução suficiente o paciente pode apresentar um estadiamento precoce da doença, permitindo-lhe receber tratamento curativo (MAZZAFERRO et al., 1996). No entanto, existem algumas dificuldades em se distinguir quais pacientes são melhores candidatos para tratamento curativo e quais ainda precisam receber outras sessões de quimioembolização ou outra terapia. Em pacientes que se mantenham sem metástases e com

boa função hepática, essa decisão é baseada principalmente na medida do diâmetro máximo do tumor.

O método de avaliação da resposta do tumor sofreu algumas mudanças. Em 2000 foi apresentado por Therasse et al. (2000) o método de *Response Criteria for Solid Tumors* (RECIST) o qual levava em conta o maior diâmetro do tumor e englobava tanto áreas de necrose quanto áreas de tumor viável na segmentação. Em 2010, Lencioni e Llovet (2010) apresentaram o *Modified Response Criteria for Solid Tumors* (mRECIST), em que é realizada a medida do maior diâmetro do tumor, porém não se leva em conta a área de necrose. A Fig 1 apresenta a maior diferença entre esses métodos. Ambos os métodos são medidas semi subjetivas e operadores dependentes, dado que a análise do maior diâmetro é dependente dos limites julgados pelo operador e frequentemente apresentam variações (ALVAREZ et al., 2014).

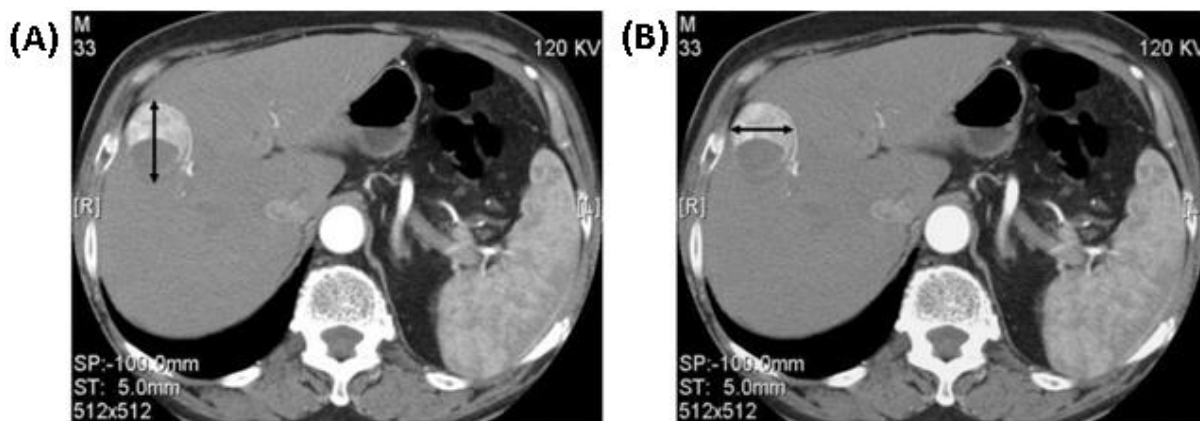


Fig 1. Aplicação do método de avaliação mRECIST em Carcinomas Hepatocelulares (CHCs). Medida do tumor alvo na fase arterial do exame tomográfico. (A) Medida do maior diâmetro de acordo com a metodologia RECIST, e (B) medida do maior diâmetro do tumor de acordo com o critério mRECIST para CHC.

A medida do Volume Tumoral Total (VTT) foi proposta pela primeira vez por TOSO et al. (2008) sendo amplamente estudada hoje em dia (GERMANI et al., 2011; GOMAA et al., 2008; TOSO et al., 2015; TOSO et al., 2008) onde o método do maior diâmetro é usado para estimar o volume tumoral do paciente.

Nesta pesquisa, foi desenvolvido um algoritmo que proporciona uma quantificação objetiva da eficiência da quimioembolização na redução de volume e diâmetro máximo do CHC. Foram comparados o diâmetro maior do CHC viável medido através de um algoritmo computadorizado e as medidas de um radiologista experiente em pacientes que receberam tratamento por quimioembolização. O volume do CHC antes e após quimioembolização também foi comparado com o método de estimação do VTT utilizando

um algoritmo baseado na transformada discreta de *wavelet* (DWT) visando uma análise reprodutível e não subjetiva do tumor.

1.1. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um algoritmo para analisar a eficiência da quimioembolização de maneira não subjetiva em 32 pacientes que realizaram o tratamento no Hospital das Clínicas de Botucatu (HCB– UNESP), com os seguintes objetivos específicos:

- Construção do algoritmo para avaliação do maior diâmetro do Hepatocarcinoma utilizando imagens de tomografia computadorizada (32 pacientes).
- Medida de diâmetro e volume do CHC antes e após a quimioembolização para todos os exames do banco de dados;

Capítulo 2

Fundamentos

Teóricos

“A invencibilidade repousa na defesa, a vulnerabilidade revela-se no ataque”

-Sun Tzu em A Arte da Guerra

2 Fundamentos Teóricos

2.1 Anatomia do Fígado

O fígado é um órgão anexo ao sistema digestivo situado no lado direito da cavidade abdominal, logo abaixo do diafragma (DUANE et al., 2014). É um órgão extremamente complexo e pode ser classificado como a maior glândula do corpo, pesando em média 2,3 kg (D'ONOFRIO et al., 2014).

C.Coinaud(1957) dividiu o fígado em 8 segmentos com funcionalidade independente. Na Fig 2 estão localizados cada um dos oito segmentos. Definidos como: segmento dorsal (I), setor lateral(II), porção medial do setor medial(III), porção lateral do setor medial (IV), porção inferior do setor anterior (V), porção inferior do setor posterior (VI), porção superior do setor posterior (VII), porção superior do setor anterior (VIII)(RUTKAUSKAS et al., 2006).

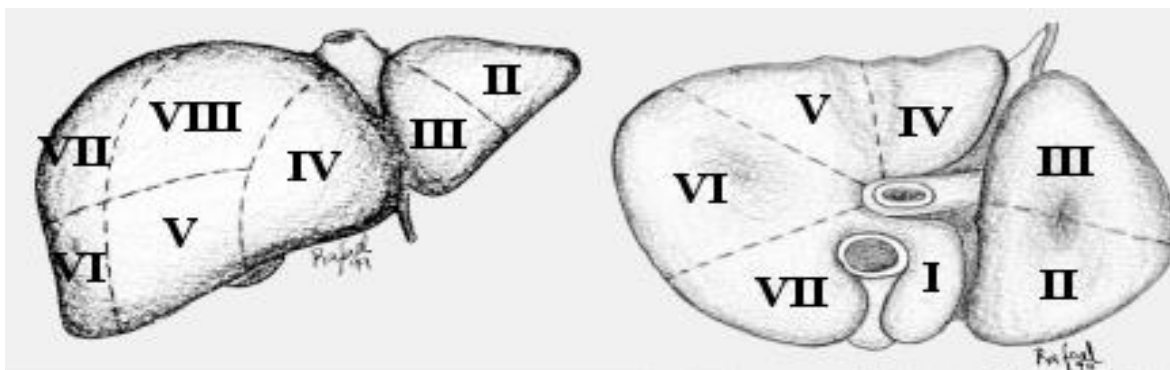


Fig 2. Localização anatômica dos 8 segmentos do fígado (RUTKAUSKAS et al., 2006).

Atualmente, a tomografia computadorizada (TC) com material de contraste intravenoso é o procedimento de escolha para visualizar o parênquima hepático e é presentemente a técnica mais acurada e facilmente disponível para identificar metástases

hepáticas (RUTKAUSKAS et al., 2006). Tanto as lesões grandes quanto as pequenas podem ser reconhecidas e suas localizações espaciais apontadas (RUTKAUSKAS et al., 2006). Todo o fígado pode ser avaliado em um único exame (RUTKAUSKAS et al., 2006). O restante do abdômen também é mostrado, de modo que sítios metastáticos extra-hepáticos nodais e outros também podem ser vistos (RUTKAUSKAS et al., 2006).

2.2 O Carcinoma Hepatocelular (CHC) e a Classificação de Barcelona

Em geral, o diagnóstico do CHC em pacientes cirróticos é baseado em exames de imagem não invasivos (EL-SERAG, 2011; LLOVET et al., 1999). Em pacientes com cirrose e CHC apresentando um diâmetro maior ou igual a 2 cm, o diagnóstico pode ser estabelecido com confiança através de exames de imagem sem necessitar de biópsia (EL-SERAG, 2011; LLOVET et al., 1999). Para isso, utilizam-se exames de tomografia computadorizada (TC) de quatro fases (sem contraste, fase arterial, venosa e tardia), em que são avaliadas áreas de hipervascularização arterial que são prontamente "lavadas" (se tornando menos intensas que o tecido hepático) na fase venosa ou tardia (LAU, 2002; LLOVET et al., 1999).

Mundialmente, os critérios mais utilizados para o estadiamento de pacientes com CHC são os Critérios de Barcelona (BRUIX et al., 2001), que fornecem a melhor estratificação de prognóstico para pacientes com CHC (GOMAA et al., 2014). Os critérios de Barcelona (*Barcelona-Clinic Liver Cancer-BCLC*) dividem os portadores de CHC em 5 estágios (0, A, B, C e D) de acordo com um prognóstico variável pré definido além de recomendar terapias de acordo com o estágio em que se encontra o paciente. Assim, ele provê informação em predição do diagnóstico e tratamento recomendado. A predição do diagnóstico é definida pelas variáveis ligadas ao estágio do tumor (tamanho, número, invasão vascular), função do fígado (Child-Pugh's) e estado geral (ECOG). Recomendação de tratamento incorpora variáveis dependente, as quais se mostraram influentes na terapêutica sugerida como, bilirrubina, hipertensão portal e presença de sintomas - ECOG.

Estágio Inicial (BCLC 0): CHC em estágios iniciais é definido como a presença de um tumor menor que 2cm de diâmetro sem invasão vascular em pacientes com bom estado geral e uma função do fígado preservada (Child-Pugh A). Nos dias de hoje, 5 a 10% dos pacientes no Oeste são diagnosticados nesse estágio enquanto no Japão a taxa gira em torno de 30% devido à implementação de programas de vigilância (KUDO e UESHIMA, 2010). A partir de estudos patológicos duas subclasses de tumores foram definidas: Vagamente nodular – com tamanho em torno de 12 mm sem invasividade local – e o distintamente nodular – com

tamanho médio de 16 mm, que pode mostrar invasividade local. Tipos vagamente nodulares são CHC muito bem diferenciados que contêm canais biliares e veia porta, têm aparência nodular e, por definição, mal definida, e não apresentam invasão de estruturas. Distintamente nodulares apresentam metástases locais ao redor do nódulo em 10% dos casos e a invasão portal microscópica em até 25% (LIN et al., 2012). Dessa forma, alguns tumores menores que 2 cm são propensos a disseminação local, mas os outros se comportam como carcinoma *in situ* e estes são definidos como estágio 0. Dados recentes têm mostrado uma sobrevida de 5 anos em 80-90% dos pacientes com ressecção e transplante de fígado e em 70 % com a ablação local (LIN et al., 2012; NATSUGOE et al., 1997).

CHC precoce (BCLC A) é definido em pacientes que apresentam tumores únicos maiores que 2.0 cm ou até três tumores de até 3.0cm de diâmetro. ECOG-0 e classe Child Pugh A ou B. A média de sobrevivência desses pacientes chega a 50-70% em 5 anos após a ressecção, transplante do fígado ou ablação local em candidatos selecionados (LLOVET et al., 2008)[102,160]. O resultado natural desses casos é mal definido, devido à escassez de dados notificados, mas estima-se que seja uma sobrevivência média de cerca de 36 meses. Uma melhoria na sobrevivência é universal ao aplicar as variáveis dependentes do tratamento na seleção dos candidatos (LIN et al., 2012).

O estágio do tumor é definido pelo tamanho do nódulo principal e multicentricidade (único de 2 a 5cm ou 3 nódulos de até 3 cm), cada uma destas categorias mostra resultados significativamente diferentes. Tumores individuais acima de 5 cm de diâmetro ainda são considerados para ressecção cirúrgica como primeira opção, visto que tumores grandes solitários tendem a permanecer únicos e sem envolvimento macrovascular – o que pode ser comum em CHC com alguma relação com HBV – reflete um comportamento biológico mais benigno(LIN et al., 2012).

As variáveis relacionadas à função hepática são relevantes para os candidatos a ressecção. Ausência de hipertensão portal relevante clinicamente e bilirrubina normal são importantes preditores de sobrevida em pacientes com tumores individuais submetidos a ressecção(LLOVET et al., 2008). Do mesmo modo, a classe Child - Pugh A é a variável de prognóstico mais forte em pacientes submetidos a ablação local, juntamente com o tamanho do tumor e a resposta ao tratamento (LIN et al., 2012). Visto que o transplante de fígado tem o potencial de curar tanto o tumor como a doença hepática subjacente, as variáveis mais relacionadas ao CHC foram claramente estabelecidas como fatores prognósticos (tumores

individuais de até 5 cm ou 3 nódulos de até 3 cm), definindo os chamados critérios de Milão (LIN et al., 2012).

CHC em estágio intermediário a avançado: O prognóstico do CHC é reconhecidamente falho para os casos onde a ressecção não é recomendada, com sobrevida média de menos de 1 ano. Análise de resultados heterogêneos em alguns estudos (sobrevivência dois anos 8-50 %) (CAMMA et al., 2008; LLOVET et al., 1999; LLOVET e BRUIX, 2003) leva à identificação de pelo menos três sub-grupos de pacientes com CHC irresectáveis: casos intermediários, avançados e em fase terminal, de acordo com a classificação BCLC.

CHC intermediários (BCLC B): Os pacientes não tratados em um estágio intermediário - classe BCLC B (tumores assintomáticos multinodulares sem um padrão invasivo) apresentam uma sobrevida média de 16 meses (LIN et al., 2012), ou 49% em 2 anos (LIN et al., 2012). De acordo com estudos anteriores a quimioembolização estende a sobrevida média para 19-20 meses (LIN et al., 2012). No entanto, essa previsão de resultados é heterogênea para pacientes da classe BCLC B, e tem sido pode variar cerca de 36-45 meses para as melhores respostas à quimioembolização contra 11 meses para o cenário de pacientes candidatos não tratados %) (CAMMA et al., 2008; LLOVET et al., 1999; LLOVET e BRUIX, 2003).

Uma análise recente dos pacientes de controle sugere que a presença de ascite - que contraindica a quimioembolização- é o pior fator prognóstico para esta classe (LIN et al., 2012).

CHC Avançado (BCLC C): Nesta subclassificação se encontram os pacientes com sintomáticos de CHC (tumores sintomáticos, ECOG 1-2), invasão macrovascular (segmentar ou invasão portal) ou disseminação extra-hepática (envolvimento de gânglios linfáticos ou metástases) carregam um prognóstico sombrio, com o tempo de sobrevida esperada de 6 meses, ou 25 % em 1 ano (LIN et al., 2012). No entanto, este resultado varia de acordo com o estado funcional do fígado e outras variáveis. Por exemplo, pacientes com função hepática preservada (Child- Pugh classe A) têm uma sobrevida mediana de 7 meses (LIN et al., 2012), enquanto que aqueles com insuficiência hepática grave (classe B de Child-Pugh) apresentam 5 meses de expectativa de vida mediana. Em 2006, não houve tratamento de primeira linha aprovado pela *Foods and Drugs Administrations* - FDA para pacientes com CHC avançado(LLOVET et al., 2008). Este cenário mudou com o advento de resultados mostrando benefícios de sobrevivência de pacientes que receberam o sorafenib – um multi

inibidor da tirosina quinase - em casos avançado(LLOVET et al., 2008). Os resultados do último Estudo Randomizado Controlado (ERC) representam um avanço na gestão do CHC, apresentando sobrevida média dos pacientes submetidos à sorafenib de 10,7 meses, variando de 14,7 meses em BCLC B e 9,5 meses em pacientes BCLC C (LLOVET et al., 2008).

CHC em estágio terminal (BCLC D): Pacientes com doença em fase terminal são caracterizados por apresentar com tumores que levam a um estado geral muito grave (ECOG 3-4), o que reflete uma deficiência relacionada com o tumor. A sua média de sobrevivência é de 3-4 meses ou de 11 % em um ano (LLOVET et al., 1999; LLOVET et al., 2008). Da mesma forma, os pacientes Child-Pugh C com tumores além do limiar de transplante também têm um prognóstico extremamente ruim.

O Transplante Hepático (TH) é o tratamento recomendado quando o paciente é considerado como tendo estadiamento precoce, com base nos diâmetros máximos do tumor e na ausência de tumores fora do fígado (LLOVET et al., 1999). Estudos anteriores apoiam a eficácia do TH em pacientes que preencham os critérios de Milão (tumor único com um diâmetro ≤ 50 milímetros ou até 3 nódulos com diâmetros ≤ 30 milímetros) adotados pela *United Network for Organ Sharing* (UNOS) (EL-SERAG, 2011; LAU, 2002). Os critérios de Barcelona mostram que o transplante de fígado, só deve ser recomendado se o paciente tem CHC dentro desses critérios (LAU, 2002; MAZZAFERRO et al., 1996).

Uma parte dos pacientes em cada estágio não preenche os critérios para a alocação do tratamento sugerido. Nesses casos, é aconselhador oferecer ao paciente a próxima opção mais adequada no mesmo estágio ou o próximo prognóstico. Por exemplo, em paciente BCLC A onde não é recomendado ablação local deve ser oferecido quimioembolização. Do mesmo modo, pacientes BCLC B que não respondem à quimioembolização – no mínimo à dois ciclos de tratamento – deve ser oferecido Sorafenib (LLOVET et al., 2008; RAOUL et al., 2011).

2.3 Avaliação da Resposta Tumoral

O principal parâmetro na pesquisa do câncer é a sobrevida global. No entanto, a resposta do tumor e o tempo de progressão têm sido considerados essenciais para uma avaliação indireta da eficácia do tratamento. Em oncologia, a resposta do tumor foi inicialmente medida de acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) (MILLER et al., 1981), e depois de acordo com o Critério de Avaliação de Resposta em Tumores Sólidos (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors - RECIST) (THERASSE et

al., 2000). Estes critérios foram inicialmente elaborados para a avaliação de agentes citotóxicos. Não é seu intuito, portanto, medir outra atividade antitumoral que não a redução do tumor. Como reconhecido na publicação RECIST original, avaliações baseadas somente em mudanças no tamanho do tumor podem levar a enganos quando aplicados juntamente com outros métodos anti-tumorais, como terapias moleculares, ou intervenções terapêuticas (THERASSE et al., 2000). Os critérios de EASL e AASLD adotaram uma versão modificada do critério da OMS na qual a avaliação da resposta ao tratamento é feita levando em conta a indução de áreas necróticas intra-tumorais na estimativa do tamanho do tumor e não apenas a redução geral do tamanho tumoral (BRUIX et al., 2001).

Resultados de estudos clínicos demonstraram que os critérios RECIST não medem extensão de necrose tumoral induzida por terapias de intervenção ou de novas drogas que de cunho molecular (FORNER et al., 2009). A formação de tumor viável precisa ser avaliada em exames de TC ou RM e tumor viável deve ser definido como a absorção de agente de contraste na fase arterial de estudos de imagem dinâmicos. Conseqüentemente, a alteração dos critérios RECIST foi proposta pela primeira vez por um painel de especialistas (LLOVET et al., 2008), e futuramente expandida (LENCIONI e LLOVET, 2010). Esta proposta é baseada na medida do maior diâmetro da lesão alvo com tumor viável, conforme descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Critérios de avaliação RECIST e mRECIST

Critério de Resposta da RECIST		mRECIST
lesão alvo.		
Resposta Completa (RC)	Desaparecimento de todas as lesões alvo.	Desaparecimento de qualquer realce arterial em todas as lesões alvo.
Resposta Parcial (RP)	No mínimo 30% de diminuição no maior diâmetro da lesão alvo.	No mínimo 30% de diminuição no maior diâmetro de tumor viável (realce na fase arterial), tomando como referência o maior diâmetro da lesão alvo.
Resposta Estável (RE)	Qualquer caso que não se classifica como RC ou RP.	Qualquer caso que não se qualifica como RC ou RP.
Resposta Progressiva (RP)	Um aumento de no mínimo	Um aumento de no mínimo

20% no diâmetro da lesão alvo, tomando como referência o menor diâmetro da lesão alvo medido desde o início do tratamento.	20% no diâmetro do tumor viável, tomando como referência o menor diâmetro da lesão alvo medido desde o início do tratamento.
--	--

2.4 Quimioembolização Transarterial (TACE)

A Quimioembolização Transarterial (ou, do inglês, TACE) é um procedimento minimamente invasivo indicado para pacientes com CHC intermediário (BCLC B) no qual o suprimento de sangue de um tumor é bloqueado (embolizado) e um quimioterápico é administrado diretamente no tumor (SATO et al., 2013). Neste método, um cateter é introduzido na artéria femoral, sob anestesia local (LLOVET et al., 1999). Esse cateter é então empurrado através da artéria, utilizando angiografia de subtração digital até o cateter estar localizado na artéria hepática (STUART, 2003). O cateter é então empurrado cuidadosamente pelos ramos da artéria hepática até o lobo onde o tumor está localizado (STUART, 2003). Injeta-se um meio de contraste, tipicamente ioxitalamato de meglumina e ioxitalamato de sódio, para avaliar os vasos que levam até o tumor (STUART, 2003). Normalmente, há um único ramo da artéria hepática que leva sangue até o hepatocarcinoma, que é uma lesão irrigada, usualmente, apenas por sangue arterial, ao contrário do restante do fígado que é irrigado por sangue arterial e venoso, com prevalência do segundo (STUART, 2003). O cateter é então introduzido, utilizando angiografia com subtração de imagens para sua visualização, até a arteríola responsável pela nutrição do tumor, o mais próximo possível do mesmo (STUART, 2003). Através do cateter, injeta-se uma droga quimioterápica, geralmente lipiodol associado à doxorubicina, mitocina ou cisplatina (STUART, 2003). O quimioterápico será distribuído especificamente na área irrigada por essa arteríola, permitindo atingir concentração intratumoral muito maior do que a utilizada na quimioterapia sistêmica (STUART, 2003). Após a injeção do quimioterápico, realiza-se a embolização (STUART, 2003). Através do cateter, são injetados normalmente microesferas, gelatina ou espuma, visando a obstrução da arteríola e, com isso, interromper a chegada de sangue para a área tumoral irrigada pelo vaso (STUART, 2003). Com a falta de sangue e o efeito tóxico do quimioterápico, ocorre necrose em toda a área que era irrigada pelo vaso cateterizado (STUART, 2003).

Na Fig 3 é apresentado um exemplo da quimioembolização transarterial (quimioembolização), em (A) é mostrada a localização do tumor através da angiografia por subtração digital, nota-se que o tumor (localizado pela seta) se enche de contraste antes da liberação do quimioterápico/microesferas (STUART, 2003). Em (B), logo após a liberação das microesferas, os vasos que antes alimentavam o tumor são obstruídos e o tumor não é mais preenchido pelo contraste como em (A).

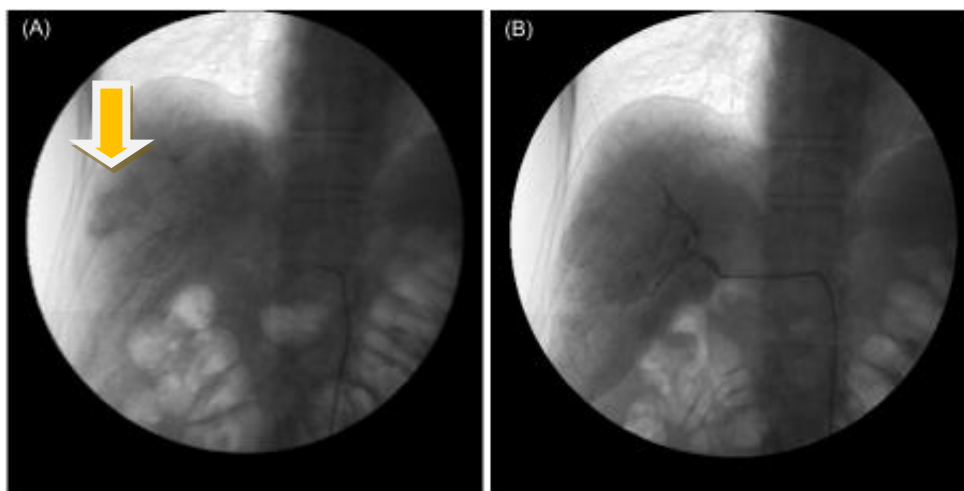


Fig 3. Exemplo da quimioembolização transarterial (TACE) (STUART, 2003). Em (A) é mostrada a localização do tumor através da angiografia por subtração digital, nota-se que o tumor (localizado pela seta) se enche de contraste antes da liberação do quimioterápico/microesferas. Em (B), logo após da liberação das microesferas, os vasos que antes alimentavam o tumor são obstruídos e o tumor não é mais preenchido pelo contraste como em (A).

Este tratamento se mostrou eficaz no aumento da sobrevida de pacientes portadores de CHC (LLOVET et al., 1999). O assunto já foi tema de alguns estudos randomizados controlados que produziram resultados contraditórios (BOLONDI et al., 2012; CILLO, 2013; LIN et al., 2012; SANTAMBROGIO et al., 2012; WANG et al., 2012; YANG et al., 2012; ZHAO et al., 2012) e, o resultado do tratamento está intimamente ligado à seleção criteriosa dos pacientes que serão submetidos ao procedimento, por exemplo, em um estudo que utilizou a eficácia em pacientes com cirrose, ausência de sintomas carcinogênicos e portadores de CHCs grandes ou multinodulares sem invasão vascular ou extra hepática foi observada sobrevida de 2 anos em 63% dos pacientes submetidos ao tratamento, contra 27% do grupo controle. Em outro estudo que incluiu o tratamento em pacientes com invasão portal, a taxa de sobrevida de 2 anos foi encontrada em apenas 31% dos pacientes mas nenhum aumento da sobrevida foi encontrado em pacientes que apresentaram invasão portal (LIN et al., 2012).

Como resultado destas investigações, a quimioembolização foi estabelecida como tratamento padrão em pacientes que apresentam carcinomas com as características fora dos critérios para tratamento curativo porém dentro dos critérios de Barcelona de tumor intermediário (LLOVET et al., 1999), i.e., CHC multinodular, função do fígado relativamente preservada, ausência de sintomas relacionados ao câncer e sem evidências de invasão vascular ou invasão extra-hepática.

2.5 Processamento de Imagens Digitais

Uma imagem consiste na projeção de uma cena em um plano, normalmente representada como uma matriz de valores de brilho (GONZALEZ et al., 2004). Sua aquisição é realizada a partir de um sensor, que consiste em um dispositivo que recebe um sinal ou estímulo (energia) e responde, geralmente, com um sinal elétrico (GONZALEZ et al., 2004).

Em linhas gerais, o problema pode ser proposto do seguinte modo: dado um sistema T , determinar sua função de transferência h , tal que a saída resultante y , proveniente de uma entrada arbitrária x , possa ser prevista de um único modo (GONZALEZ et al., 2004). Assim, em um sistema ideal, a informação relativa a uma fonte pontual no plano objeto deveria ser representada por um único ponto no plano da imagem (GONZALEZ et al., 2004). No entanto, sistemas reais apresentam resposta não pontual a esse estímulo, resultando numa degradação da imagem registrada, a qual necessita de processamento para análise e interpretação (GONZALEZ et al., 2004).

O processo de formação de imagens esquematizado na Fig 4 apresenta uma fonte de energia que excita o objeto do qual se pretende obter imagem (GONZALEZ et al., 2004). O sinal gerado que é gravado no plano da imagem e, processado, é apresentado na forma de uma imagem digital. Esta imagem pode apresentar ruído, deformações, artefatos, borrões, que são característicos de cada sistema (GONZALEZ et al., 2004).

Deste modo, após o registro de uma imagem digital é necessário processá-la a fim de melhorar sua qualidade ou facilitar análise e interpretação (GONZALEZ et al., 2004). Este tratamento requer técnicas de processamento de imagens digitais (PID) como deconvolução, regularização e filtros que possibilitem a solução de problemas clássicos do processamento de imagens como realce, restauração, remoção de ruídos e isolamento de regiões de interesse (GONZALEZ et al., 2004).

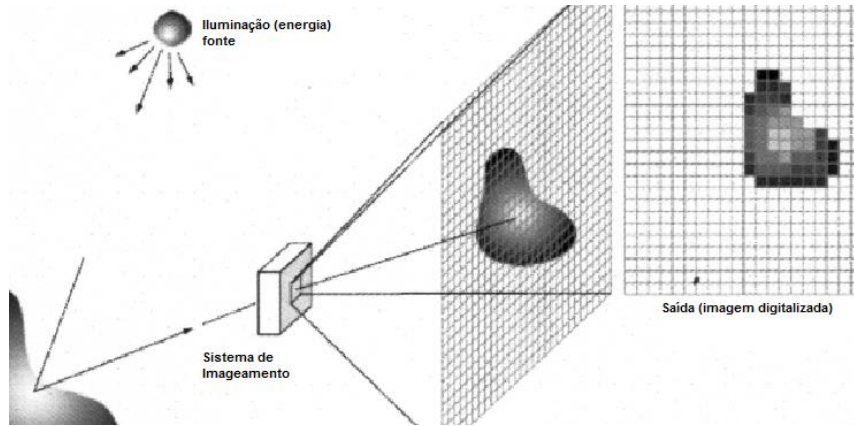


Fig 4. Esquema de formação de imagem digital (GONZALEZ et al., 2004).

Outra maneira de se representar o processo de formação de imagens é apresentado na equação 6, onde se considera que função de degradação $h(n,m)$ e o ruído aditivo $n(n,m)$ atuam na imagem de entrada $f(n,m)$ resultado da digitalização de $f(x,y)$ para produzir a imagem degradada $g(n,m)$ (GONZALEZ et al., 2004).

Esta relação pode ser descrita como uma convolução de $h(n,m)$ com $f(n,m)$ dada por (6):

$$g(n,m) = h(n,m) * f(n,m) + \eta(n,m) \quad (1)$$

onde (n,m) são as coordenadas do pixel, g é a imagem, f a imagem real ou imagem de entrada, h é a PSF (point-spread function) do sistema, η é o ruído aditivo do sistema e $*$ operador de convolução bidimensional (GONZALEZ et al., 2004).

A restauração é um processo que tenta reconstruir ou recuperar uma imagem que foi degradada, empregando-se algum conhecimento prévio do fenômeno de degradação. Assim, técnicas de restauração são orientadas para a modelagem de degradação e aplicação do processo inverso no sentido de recuperar a imagem original, ou seja, obter uma estimativa de $f(n,m)$ através de $g(n,m)$ (GONZALEZ et al., 2004).

Para garantir que o valor médio da imagem degradada seja mantido após a deconvolução, PSF é normalizada de modo que o somatório dos valores de cada pixel seja igual a um, ou seja (7):

$$\sum_{n=1}^N \sum_{m=1}^M h(n,m) = 1 \quad (2)$$

em que (n,m) são as coordenadas espaciais de uma imagem com $N \times M$ pixels (GONZALEZ et al., 2004).

2.6 A Transformada Discreta de Wavelet (TDW) Aplicada a Imagens

A análise via wavelets é baseada em duas funções, a função *wavelet*, $(\psi(x))$, que pode ser interpretada como um filtro passa-alta e a função escala, $\phi(x)$, que pode ser interpretada como um filtro passa-baixa. Mais detalhes na obtenção dessas funções podem ser encontrados em (BOVIK, 2005; GONZALEZ et al., 2004). Na transformada de wavelet discreta, a frequência central da decomposição é dilatada em versões de 2^n de sua versão original, gerando bandas de decomposição conforme o tamanho do filtro utilizado, i.e., para $n=0,1,2...n$ (ALVAREZ et al., 2012; BOVIK, 2009; GONZALEZ e WOODS, 2008; MALLAT, 2000).

Devido à propriedade da separabilidade, as transformadas unidimensionais podem ser facilmente estendidas para sua aplicação em funções bidimensionais, como as imagens (MALLAT, 2000). Como mostrado na seção anterior, imagens podem ser entendidas como matrizes cujas entradas denotam o nível de intensidade de cinza daquele ponto, gerando um elemento de imagem (do inglês, *picture element* e sua abreviação, *pixel*) (MALLAT, 2000). Assim, os filtros $\psi(x)$ e $\phi(x)$ são aplicados de maneira alternada nas linhas e colunas da imagem analisada gerando quatro imagens resultantes para cada nível de decomposição.

$$\phi(x, y) = \phi(x)\phi(y) \quad (3)$$

$$\psi^H(x, y) = \psi(x)\phi(y) \quad (4)$$

$$\psi^V(x, y) = \phi(y)\psi(x) \quad (5)$$

$$\psi^D(x, y) = \psi(x)\psi(y) \quad (6)$$

Assim, podemos melhor entender as equações de 3-6 da seguinte maneira: ao aplicarmos $\psi(x)$, em alguma dimensão, são obtidos os detalhes (alta frequência) desta dimensão no nível requerido (GONZALEZ e WOODS, 2002). Analogamente, ao aplicarmos $\phi(x)$ em alguma dimensão, são obtidos as aproximações (baixa frequência) desta dimensão no nível requerido. Então, ao aplicarmos $\psi(x)$ nas linhas e $\phi(x)$ nas colunas, como em 4, separamos os coeficientes da alta frequência horizontal da imagem, também chamados de detalhes horizontais da imagem e denotado por $\psi^H(x, y)$ (GONZALEZ e WOODS, 2002). Analogamente, ao aplicarmos $\psi(x)$ nas colunas e $\phi(x)$ nas linhas, como em 5, separamos os coeficientes da alta frequência vertical da imagem, também chamados de detalhes verticais e denotados por $\psi^V(x, y)$. Se aplicarmos $\psi(x)$ nas colunas e nas linhas, como em 6, separamos

os coeficientes da alta frequência diagonal da imagem, também chamados de detalhes diagonais e denotados por $\psi^D(x, y)$ (GONZALEZ e WOODS, 2002). Enfim, se aplicamos $\phi(x)$ nas linhas e nas colunas, obtemos uma imagem sem a respectiva alta frequência e pode ser utilizada como *input* da transformada para um segundo nível de decomposição (ao dilatarmos os filtros por um fator de 2^{j+1}) (GONZALEZ e WOODS, 2002).

Essas transformações são muito utilizadas para uma análise multiresolução de imagens e geralmente são exibidas no formato piramidal, como mostrado na Fig 5.

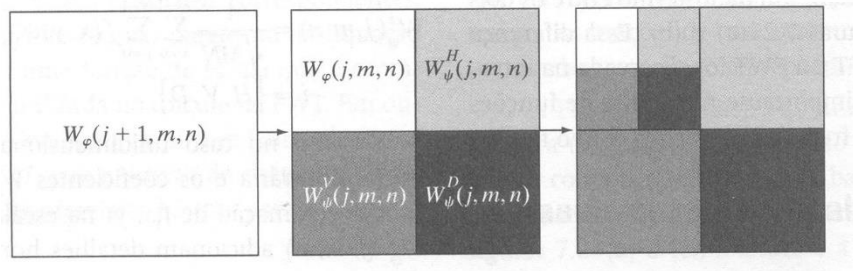


Fig 5. Exemplo de decomposição da imagem utilizada na transformada de wavelet discreta (GONZALEZ e WOODS, 2002).

A possibilidade da análise com resoluções variáveis da imagem possui várias aplicações práticas, como em mamografia. Um exemplo da análise multiresolução de uma tomografia está explicitada na Fig 6, na qual podemos notar como a borda do paciente pode ser melhor visualizada nas primeiras decomposições e a mudança da sua visualização nas decomposições de número maior (GONZALEZ e WOODS, 2002).

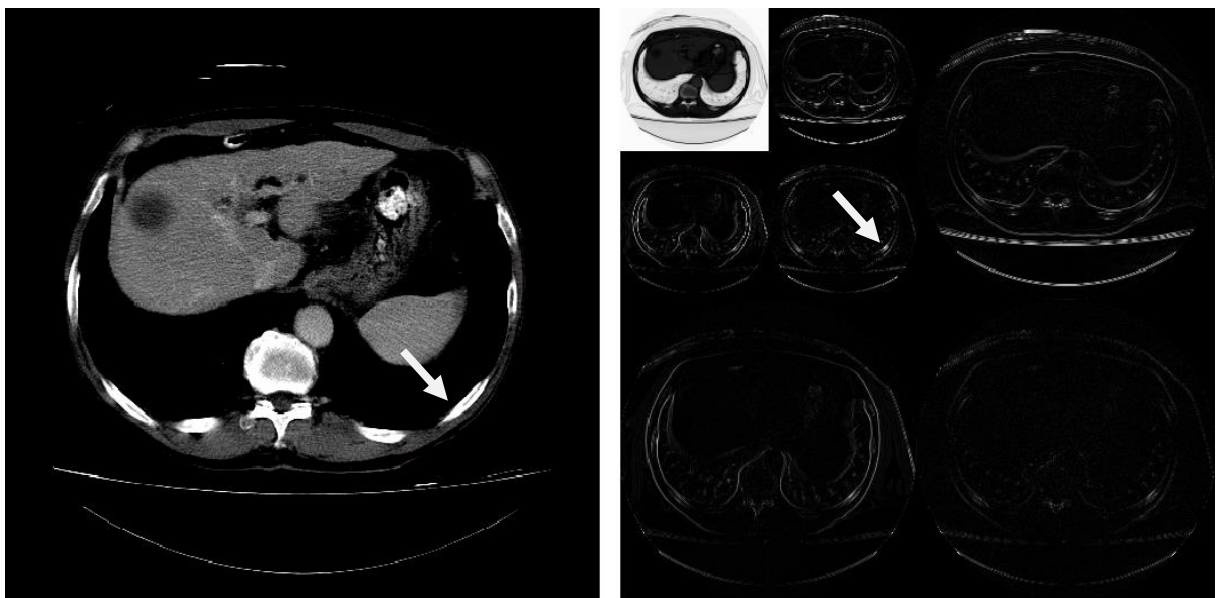


Fig 6. Exemplo de decomposição utilizando a transformada discreta de wavelet. Pode-se notar como a borda do paciente pode ser melhor visualizada nas decomposições menores (1) enquanto mais baixas frequências podem

ser visualizadas em escalas maiores. A seta branca marca onde se encontra a maior energia relativa ao interior costela da imagem original (seta branca à esquerda) em relação à decomposição WT, que no caso seria a segunda decomposição nos detalhes diagonais (seta branca à direita).

Neste estudo foi usado a capacidade da análise via multiresolução (MRA) de decompor uma imagem em faixas de frequências mais altas e resíduos (componentes de baixa frequência). A análise MRA proporciona o destaque das características de interesse na imagem (GONZALEZ e WOODS, 2002). Através da introdução de uma função ψ passa alta e uma função de escala φ passa baixa, um sinal $f(x)$ unidimensional (1D) pode ser decomposto por MRA como:

$$f(x) = \sum_k \sum_{j=1}^J d_j(k) \cdot \psi_{j,k}(x) + \sum_k C_J(k) \cdot \varphi_{J,k}(x) \quad (7)$$

em que o primeiro e segundo termo no lado direito da equação (7) representam os componentes de alta e baixa frequência do sinal, respectivamente (SHIDAHARA et al., 2012). Os coeficientes d_j e wavelets (k) são dados pelos produtos escalares do sinal original com os elementos $\psi_{j,k}$ da base na posição do pixel k (cobrindo a imagem de linha) e o nível de decomposição escolhido j . $C_J(k)$ são os coeficientes de escala, e $\varphi_{J,k}(x)$ são as respectivas funções de escala (MALLAT, 2000).

No caso de uma imagem $f(x, y)$, para $j = 1$, uma filtragem 1D passa baixa/alta é primeiramente aplicado à imagem original $f(x, y)$ ao longo da direção horizontal (0°), seguido por uma dizimação em que cada elemento ímpar é removido (SHIDAHARA et al., 2012). A filtragem 1D seguida da dizimação é então aplicada na direção vertical (90°). De acordo com a combinação (filtragem alto-alto, alto-baixo, baixo-alto e baixo-baixo), a saída consiste em quatro quadrantes (Q). O quadrante de menor resolução corresponde às sub-bandas para o coeficiente de escalonamento $C_1(k)$. Os outros três quadrantes com direções (0° , 90° , 45°) são as sub-bandas para os coeficientes *wavelet* $d_1(k, q)$. O processo é repetido para $j = 2$, utilizando $C_1(k)$ no lugar da imagem original (SHIDAHARA et al., 2012).

Os coeficientes $d_j(k, q)$ indicam os elementos de alta frequência da imagem decomposta na posição k e quadrante q dentro da banda de frequências j , onde j é geralmente referido como o nível de decomposição / resolução (ou simplesmente como o "nível"). Quando o nível j aumenta, a informação estrutural do objeto de imagem em $d_j(k, q)$ diminui (SHIDAHARA et al., 2012). Portanto, os coeficientes utilizados para a WT discreta podem ser escolhidos de acordo com o tamanho da estrutura que se deseja realçar na imagem. Alternativamente, as imagens podem ser reconstruídas para melhorar o desempenho do algoritmo via MRA (BOVIK, 2005; DAUBECHIES, 1993; GONZALEZ e WOODS, 2008).

Desse modo, nas mais altas escalas *wavelets* estão os elementos de mais alta frequência da imagem. Em $d_1(k, q)$ são encontrados na posição k os elementos de alta frequência sendo $q=1$, elementos da alta frequência na horizontal, $q=2$ elementos da alta frequência na diagonal e $q=3$ os elementos de alta frequência na vertical. A escolha da direção (horizontal, diagonal e vertical) se dá pela direção da aplicação das funções ψ e ϕ onde a direção da aplicação da função passa alta (ψ) sempre resultará em detalhes de alta frequência na imagem para a dada escala, portanto, caso apliquemos a função ψ tanto na diagonal quanto na vertical, teremos os detalhes na diagonal da imagem. Caso, no entanto, apliquemos a função ϕ tanto na horizontal como na vertical, teremos coeficientes representando uma nova imagem sem os detalhes contidos na escala de interesse. É importante lembrar sempre que para cada escala j os filtros ϕ e ψ são escalonados por um fator de 2^j , fazendo com que o tamanho dos filtros seja alterado e, conseqüentemente, sua resposta do domínio da frequência.

Assim, caso necessitemos realçar bandas de frequência de aspectos mais altos, devemos colocar pesos nas altas escalas durante a reconstrução WT. Esse tipo de manipulação abre uma porta interessante para vários aspectos da transformada, por exemplo, caso necessitemos realçar aspectos cuja entropia está mais relacionada com detalhes diagonais, aplicar pesos maiores em bandas de detalhes diagonais produz resultados melhores.

Fora essa ampla gama de adequações relacionadas ao filtro devemos levar em conta também qual a melhor *wavelet* (algumas vezes chamada de *wavelet mãe*) iremos utilizar. Todos esses aspectos fazem dessa poderosa ferramenta uma solução muito útil que pode ser utilizada de diversas formas na tentativa de evidenciar aspectos variados na imagem.

Ao olhar a decomposição mostrada na Fig 6 vemos que as margens da costela estão bastante evidentes na primeira escala. Caso não necessitemos olhar essas margens e sim o interior da costela marcada pela seta fica claro que devemos evidenciar a segunda decomposição durante os detalhes diagonais pois é nela que o conteúdo dessa costela está mais evidente.

2.7 Princípios de aquisição de imagens de tomografia computadorizada (TC)

O conceito de tomografia refere-se à criação de imagens de secção transversal de um objeto a partir de qualquer transmissão ou reflexão de dados recolhidos, iluminando o objeto de muitas direções diferentes (BUSHBERG, 2002). O impacto desta técnica na medicina diagnóstica tem sido revolucionário pois permitiu que os médicos visualizem órgãos

internos com precisão envolvendo baixo detrimento à segurança do paciente (BUSHBERG, 2002). A primeira aplicação médica utilizou raios X para formar imagens de tecidos com base no seu coeficiente de atenuação (BUSHBERG, 2002). Mais recentemente, no entanto, a imagiologia médica tem também sido realizada com sucesso utilizando radioisótopos, ultrasons e ressonância magnética; o parâmetro de imagem a ser visualizado difere em cada caso (BUSHBERG, 2002).

Fundamentalmente, a reconstrução tomográfica lida com reconstruir uma imagem através de suas projeções (RICHARD et al., 2012). No sentido estrito da palavra, uma projeção em um determinado ângulo é a integral da imagem na direção especificada por esse ângulo, conforme ilustrado na Fig 7 (BUSHBERG, 2002).

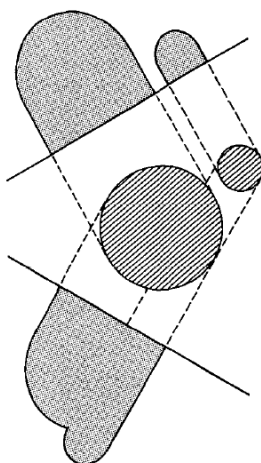


Fig 7. Duas projeções de um objeto que consiste em um par de cilindros (BUSHBERG, 2002; KAK e SLANEY, 2001).

Levando em conta o experimento mostrado na Fig 8, onde é mostrada a seção transversal de um corpo humano sendo atingido por um único feixe de raios X, consideramos μ sendo uma função no espaço (x,y) , e denotamos o coeficiente de atenuação como sendo $\mu(x,y)$ (KAK et al., 2001). Sendo N_{in} o número total de fótons incidente no objeto através do ponto A e N_d o número total de fótons passando pelo ponto B, quando a largura τ é pequena o suficiente, isto leva a uma relação similar ao caso unidimensional entre os número N_d e N_{in} mostrado na equação 8 (KAK et al., 2001; TER-POGOSSIAN, 1967).

$$N_d = N_{in} \exp \left[- \int_{\text{feixe}} \mu(x,y) ds \right] \quad (8)$$

onde ds é elemento de comprimento e a integração é feita na linha AB (KAK e SLANEY, 2001).

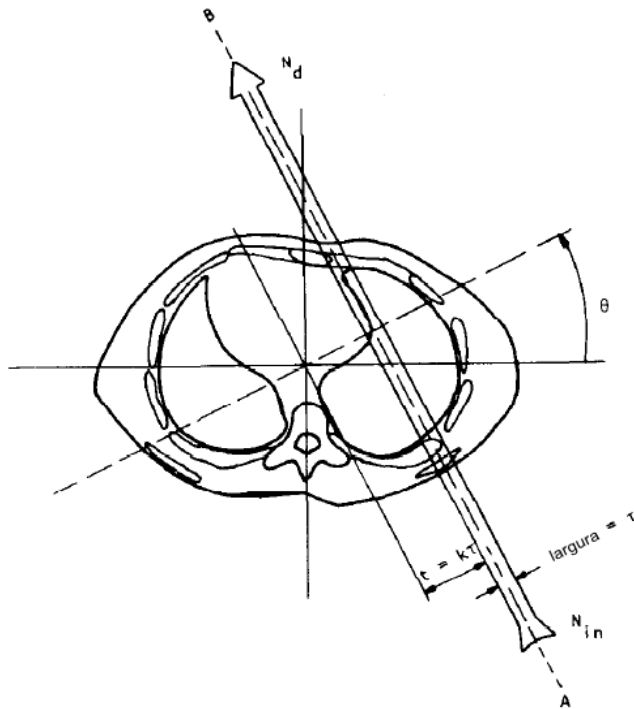


Fig 8. Um feixe paralelo de raios x se propagando através da seção transversal de um corpo humano (KAK et al., 2001).

Ao extrapolarmos a equação 1 para um feixe policromático, como é o caso dos raios x utilizados em TC, deve-se inserir uma variável dependente da energia. Reescrevendo a equação 9 temos (KAK et al., 2001):

$$N_d = \int S_{in}(E) \exp\left[-\int_{\text{feixe}} \mu(x, y, E) ds\right] dE \quad (9)$$

onde $S_{in}(E)$ representa a densidade do número de fótons (também chamado de densidade espectral energética dos fótons incidentes) (KAK e SLANEY, 2001). $S_{in}(E)dE$ é o número total de fótons incidentes na faixa de energia E e $E+dE$ (KAK e SLANEY, 2001). Essa equação incorpora o fato que o coeficiente de atenuação linear em (x,y) é também uma função da energia (KAK e SLANEY, 2001). Utilizando a equação 10, se formos medir o espectro de energia dos fótons deixando o ponto B, este seria dado pela equação 10 (KAK et al., 2001).

$$S_{exit}(E) = S_{in}(E) \exp\left[-\int_{\text{feixe}} \mu(x, y, E) ds\right] \quad (10)$$

Como descrito no trabalho de McCullough (1975) uma boa aproximação é a de que o coeficiente de atenuação linear, μ_{medido} , no ponto da seção transversal está relacionado ao atual coeficiente de atenuação, $\mu(E)$, no ponto pela equação 11:

$$\mu_{medido} \approx \frac{\int \mu(E)S_{exit}(E)dE}{\int S_{exit}(E)dE} \quad (11)$$

A relação entre o coeficiente de atenuação linear a sua Unidade Hounsfield - HU apresentado na imagem tomográfica - correspondente é dada pela equação 12.

$$UH = \frac{\mu - \mu_{\text{água}}}{\mu_{\text{água}}} \times 1000 \quad (12)$$

onde $\mu_{\text{água}}$ é o coeficiente de atenuação da água e os valores de ambos $\mu_{\text{água}}$ e μ são obtidas na energia efetiva do scanner. O valor de $UH=0$ corresponde à água, e o valor de $UH=-1000$ corresponde à um $\mu=0$, o qual é assumido a ser o coeficiente de atenuação do ar (KAK et al., 2001). Claramente, um scanner plenamente calibrado irá atribuir um valor de 0 à água e -1000 ao ar.

2.8 Medição do Volume Tumoral Total (VTT)

O estudo do volume tumoral é uma abordagem relativamente nova realizado indiretamente por TOSO et al. (2008) se baseando no volume estimado por uma esfera resultante da somatória dos volumes tumorais.

TOSO et al. (2008) recentemente demonstrou em um estudo envolvendo três centros e 288 pacientes que o Volume Total de Tumor (VTT) é o critério morfológico mais preciso para selecionar pacientes antes do transplante. Aqueles com um VTT maior que 115cm^3 demonstraram uma sobrevida de 79% em 5 anos, sem restrição de números de tumores.

Com a preservação do alinhamento entre as imagens, pode-se, neste estudo estudar a volumetria tanto do fígado quanto do tumor utilizando exames tomográficos convencionais e independentes do equipamento.

Os critérios de Milão incluem pacientes com até um tumor medindo até 5cm de diâmetro ou até três tumores, nenhum maior que 3 cm (MAZZAFERRO et al., 1996). O critério de UCSF inclui pacientes com um tumor de até 6.5 cm de diâmetro ou até três tumores, nenhum maior que 4.5cm, com um diâmetro cumulativo até 8 cm (ZHAO et al., 2012).

O VTT foi calculado como a soma dos volumes de cada tumor sendo volume definido como $\frac{4}{3}\pi r^3$ sendo r igual ao raio resultante do maior diâmetro de cada tumor(TOSO

et al., 2008). Segue na figura 12 a sobrevida de pacientes após o transplante levando em conta pacientes dentro dos critérios de Milão, pacientes fora dos critérios de Milão porém dentro da UCSF, pacientes fora dos critérios da ICSF porém com volume tumoral total menor que 115 cm³ e pacientes com volume tumoral maior que 115 cm³.

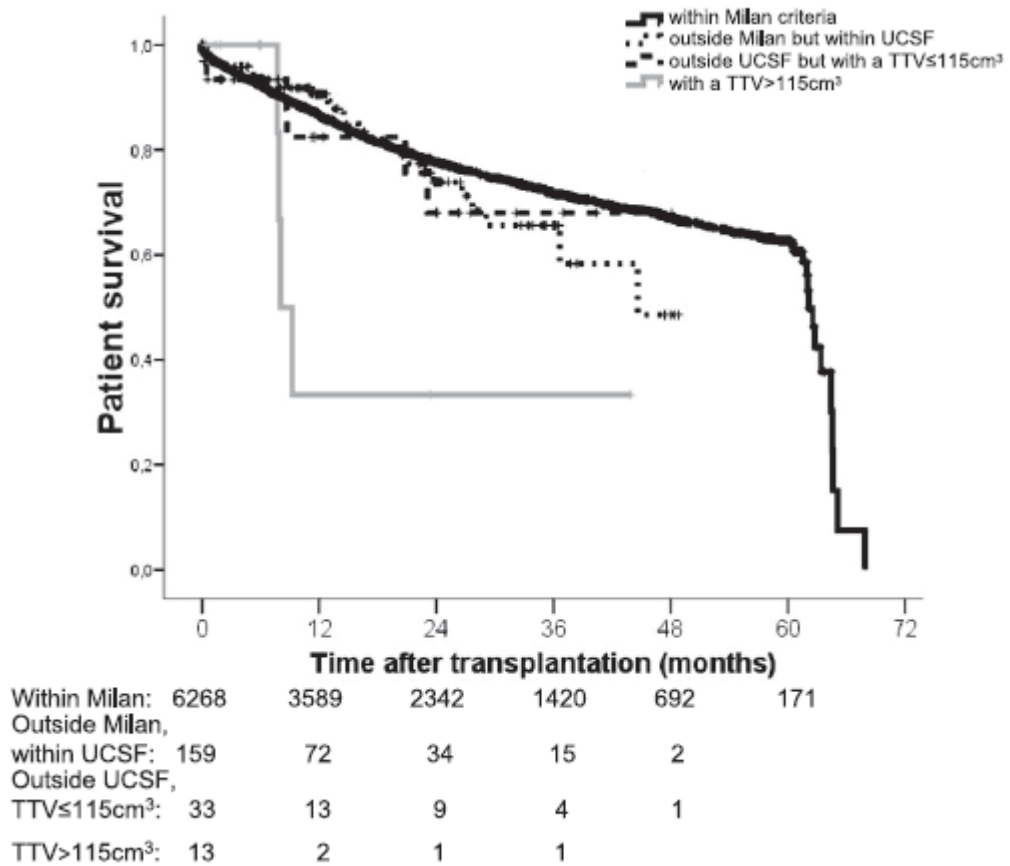


Fig 9. Curva de sobrevida mostrada por TOSO et al. (2008) com comparação da sobrevida de pacientes após transplante para diferentes estadiamentos do CHC.

Capítulo 3

Material e Métodos

*“Havia uma jovem senhora de Wight
Que viajou bem mais rápido que a luz.*

Partiu certo dia,

De uma maneira relativa,

E chegou na noite anterior.”

- Stephen Hawking (Uma Nova História do Tempo)

3 Material e Métodos

3.1 Amostra de dados TC

A execução desta pesquisa esta devidamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) desta instituição sob o protocolo número 485/2012 – Anexo 1.

Os dados de TC para este estudo foram constituídos de 64 exames trifásicos provenientes de 32 pacientes do Hospital das Clínicas de Botucatu que realizaram os exames de TC pré e pós TACE em períodos de até 1 mês após a quimioembolização.

Foram selecionados 96 pacientes adultos com exames retrospectivos de tomografia computadorizada de abdômen. Foram incluídos apenas pacientes que realizaram exames com o protocolo abdômen trifásico (n=41). Foram desconsiderados os casos de CHC que não apresentaram sua forma padrão na fase contrastada arterial (n=6) e pacientes que receberam lipiodol durante a quimioembolização (n=3). Estes pacientes foram excluídos porque o lipiodol impede a visualização da evolução tumoral na TC pós-quimioembolização. Ao final, 32 pacientes foram selecionados para este estudo, totalizando 64 exames tomográficos trifásicos.

O paciente passou por TACE convencional envolvendo a injeção na artéria hepática nutridora do CHC de doxorrubicina enquanto a embolização foi realizada por microesferas por possuírem superfície lisa e hidrofílica, com maior capacidade de deformabilidade, o que permite penetração mais distal e uniforme em pequenos vasos.

Os exames tomográficos foram realizados tomógrafos helicoidal de um dois e 16 canais, respectivamente, SCT 7000TS (Shimadzu Corp, Quioto, Japão). O protocolo de abdômen trifásico é composto por uma fase pré-contraste e três fases contrastadas (arterial, portal e tardia). A aquisição das imagens é realizada durante períodos de apneia com os seguintes parâmetros: pitch 1.0; espessura de corte 1.0 mm; 120 kV; 160 mA e matriz de 512 x 512. O pixel variou de 0.73 a 0.89 mm, com valor médio de 0.8 mm.

As imagens tomográficas foram avaliadas por um radiologista com 5 anos de experiência em laudos de exames de TC de abdômen. De forma randômica, o radiologista

avaliou as imagens quanto ao diâmetro do CHC. O diâmetro das lesões variou de 0.4 a 18.0 cm (média 3.9 ± 4.1 cm), com valor central de 2.9 cm

Os exames foram obtidos utilizando 120 kVp e 160 mA. As fases do exame foram divididas em fase sem contraste, fase com contraste arterial, fase com contraste venoso e fase de equilíbrio. Todos os cortes tomográficos analisados tinham formato 512×512 pixels. O tamanho do pixel variou 0,73-0,89 mm, com valor médio de pixel 0,80 milímetros. A espessura do corte e o incremento utilizados foram fixados em 1,0 cm e *pitch* de 1,0.

A avaliação subjetiva do maior diâmetro do CHC foi avaliada por um radiologista com mais de cinco anos de experiência e variou de 0,4 a 18,0 centímetros, com valor central de 2,9 cm e média \pm desvio padrão de $3,9 \pm 4,1$ cm.

3.2 Critérios de Inclusão e Exclusão

Foram incluídos pacientes com diagnóstico confirmado de cirrose e CHC (por exames de imagem e/ou biópsia) submetidos à tomografia com contraste intravenoso em 4 fases na Faculdade de Medicina de Botucatu, que tiveram todos os seguintes critérios de inclusão:

- (i) maior de 18 anos de idade;
- (ii) diagnóstico confirmado de cirrose;
- (iii) CHC superior a um centímetro de diâmetro;
- (iv) pelo menos uma lesão na fase de contraste arterial, com clareamento rápido (*washout* precoce) do contraste durante a fase venosa;
- (v) tratamento através de quimioembolização transarterial sem uso de lipiodol.
- (vi) não terem sido realizados qualquer outro tipo de terapia.
- (vii) intervalo de até dois meses entre quimioembolização e exames trifásicos de CT de pré e pós procedimento.

3.3 Construção do Fantoma Virtual para Otimização do Algoritmo de Segmentação

Para o desenvolvimento do fantoma virtual, a intensidade de pixel (em unidades Hounsfield, UH) de cada estrutura presente nos cortes tomográficos foi estudada usando a plataforma MatLab®. Os níveis de intensidade de cinza dos pixels em regiões contendo realce e tecidos normais do fígado foram analisados, sendo ajustada uma distribuição gaussiana de acordo com a distribuição da intensidade de pixels em cada tipo de tecido. Assim, a média e desvio padrão medidos nos tecidos foi utilizada para o ajuste, tal como mostrado na Fig 10.

Nessa figura, a curva para o tecido normal do fígado é ilustrada na parte (a), a distribuição do tecidos do fígado contrastado, na parte (b), a sobreposição das distribuições (a) e (b) é representada pela curva (c), e (d) é o histograma real extraído a partir da imagem.

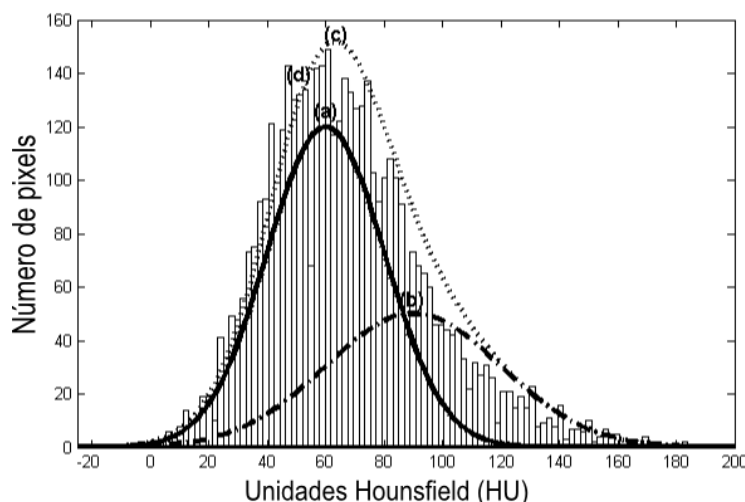


Fig 10. Distribuição da intensidade de pixel para tecido hepático. Em (a) observa-se a distribuição para intensidade de pixel da imagem de fígado normal, e em (b) a mesma distribuição no caso de um CHC contrastado. As distribuições gaussianas apresentaram valores de 55 ± 10 UH para tecidos normais e 90 ± 11 UH para tecidos contrastados do fígado. A superposição de (a) e (b) é representada pela curva (c). Em (d) observa-se o histograma real extraído da imagem.

Um fantoma virtual baseado no histograma do fígado realçado foi desenvolvido visando a otimização do algoritmo. O fantoma foi usado para otimizar a detecção de CHC realçado, observando as diferenças a partir de tecido de fígado normal. Ao construir o fantoma, a distribuição normal representante do tecido de fígado não realçado foi usado para preencher o fundo de uma imagem de tamanho 256×512 . As intensidades de pixel para esse ambiente foram simuladas de acordo com a distribuição representada pela curva (a) na Fig 10.

Um conjunto de lesões típicas de CHC foi simulado com diâmetro máximo variando de 5mm a 100mm incrustadas ao fundo. As áreas circulares foram formadas por pixels com intensidade gerada pela curva normal (b) da Fig 10. Vários algoritmos e filtros *wavelets* para segmentar e quantificar as estruturas de imagem foram usados até serem encontrados os melhores resultados. Entre as *wavelets* extensamente testadas podemos citar as pertencentes às famílias: daubechies, biortogonais, Haar, Symlets, Coiflets, Meyer, Morlet, Gaussiana, Chapéu Mexicano e Gaussianas Complexas.

3.4 Descrição do Algoritmo Otimizado para Detecção de Áreas Hepáticas Contrastadas

O algoritmo lê a imagem DICOM da fatia de interesse, na qual o operador faz uma segmentação manual do tecido hepático. Para esta etapa, um processo não automático é usado pois o conjunto de imagens analisadas foi previamente segmentada. Existem vários algoritmos semi automáticos disponíveis que podem segmentar automaticamente o tecido do fígado, com bons resultados (BAE et al., 1993). Porém, o CHC é altamente relacionado com outras doenças hepáticas (hepatites, trombozes venosas, cirrose), que podem deformar a estrutura do fígado. Sendo assim, a segmentação manual do tecido hepático evita a quantificação de estruturas indesejadas.

As bandas de frequências discretas WT foram estimadas em 1D usando a equação (13)(MARKWARDT, 2006):

$$\xi_s(\psi) = \frac{\xi_0(\psi)}{2^s p} \quad (13)$$

onde $\xi_s(\psi)$ é o centro de frequência espacial (mm^{-1}) na escala s , p é a densidade de pixel, e $\xi_0(\psi)$ é a pseudo-frequência (mm^{-1}) da *wavelet* no seu nível de base ($\psi_{o,o}$). Neste estudo, a *wavelet* mãe daubechies 10 ($\xi_0(\psi) \cong 0,693$)(DAUBECHIES, 1993; DAUBECHIES et al., 2009) foi utilizada em todos os procedimentos. Essa *wavelet* ortogonal assimétrica tem muitas aplicações na área de processamento de imagem e apresenta melhores resultados qualitativos do que ondas de outras famílias (ALZUBI et al., 2011; CHEN e TSENG, 2007; DANDAPAT et al., 2004; GUIHONG et al., 2001; HOU et al., 2002; KORFIATIS et al., 2007). As bandas de frequências escolhidas para reconstruir as imagens da região de interesse foram determinadas considerando-se o tamanho do CHC. Coeficientes de aproximação acima do nível 2 ($\cong 0,22$ milímetros) foram usados para reconstruir todas as imagens, uma vez que tais coeficientes removem flutuações de pequeno porte (mas não os tumores até 1,0 cm) da imagem.

A saída do passo anterior foi binarizada com um limiar de $M_{\text{NORMAL}} + \text{STD}_{\text{NORMAL}}$, como indicado na equação (14),

$$B_{\text{saída}}^1(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } I(x, y) > M_{\text{NORMAL}} + \text{STD}_{\text{NORMAL}} \\ 0 & \text{senão} \end{cases} \quad (14)$$

onde $I(x, y)$ é a imagem de entrada. Depois da binarização, filtros de erosão (15) e dilatação (16) foram aplicados na imagem:

$$B_{\text{saída}}^2(x, y) = \begin{cases} 0 & \text{if } B_{\text{saída}}^1(x+i-2, y+j-2) = 1 \text{ para todo } i, j = 1,2,3 \\ 1 & \text{senão} \end{cases} \quad (15)$$

$$B_{\text{saída}}^3(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } B_{\text{saída}}^2(x+i-2, y+j-2) = 1 \text{ para todo } i, j = 1,2,3 \\ 0 & \text{senão} \end{cases} \quad (16)$$

Nestas equações, I e J são rótulos arbitrários para os vizinhos do pixel que está sendo analisado. Os filtros de erosão e dilatação (quando aplicado sequencialmente em uma imagem) têm a propriedade de suavizar os objetos na imagem binária e remoção de objetos de pequeno porte produzidas pela binarização(BOVIK, 2005; GONZALEZ et al., 2004). Na Fig 11 é mostrado detalhadamente os processos envolvidos na segmentação da imagem, onde, ao final da segmentação, o operador pode escolher a realização de ajustes manuais, visto que algumas regiões podem ser confundidas com nódulos pelo algoritmo. Os resultados gerados por cada passagem do algoritmo na imagem de interesse são mostrados na Fig 11.

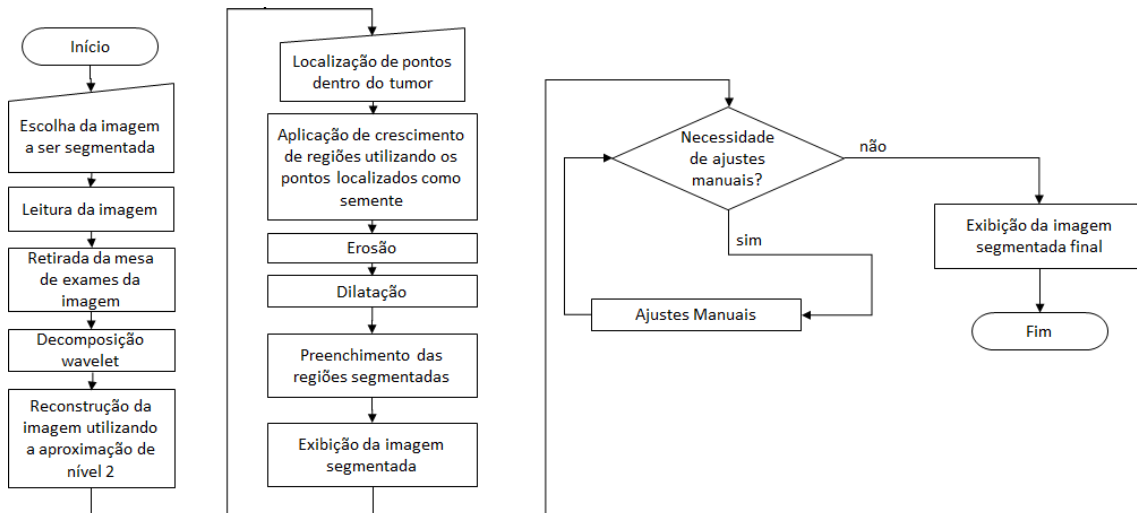


Fig 11. Fluxograma do algoritmo otimizado.

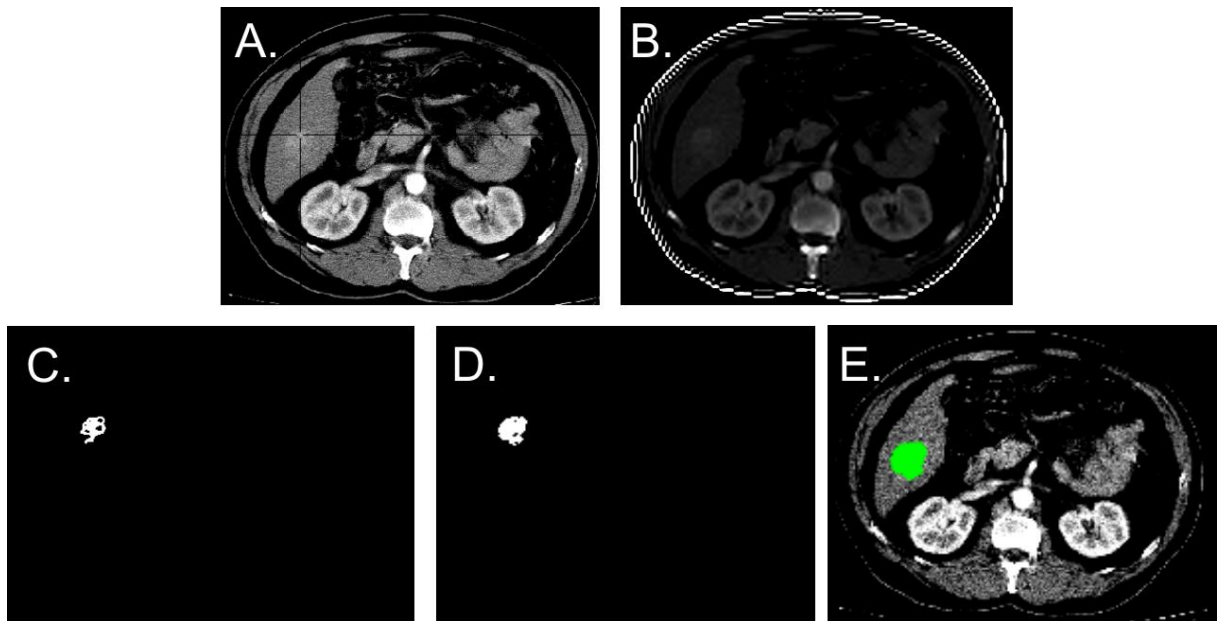


Fig 12. Resultados dos passos do algoritmo de segmentação onde (A) é a delimitação dos pontos iniciais (sementes). (B) Resultado da filtragem wavelet para realce da área contrastada do fígado. (C) Resultado da da técnica de crescimento de região. (D) Resultado da operação de erosão seguida de dilatação. (E) Resultado da segmentado em verde localizado na imagem.

3.5 Avaliação Estatística

Foram utilizados três grupos equivalentes ao diâmetro medido pelo radiologista: (i) O G1, para os quais nódulos igual ou inferior a três centímetros de diâmetro CHC; (ii) O G2 com nódulos entre 3 e 5 cm de diâmetro e CHC (iii) O G3, onde os diâmetros de CHC estavam acima 5cm. O radiologista demarcou as imagens e avaliou a medida do diâmetro máximo da lesão. Esses critérios de separação foram baseados nos limites estipulados pelos critérios de Barcelona (BCLC), em que as lesões multinodulares maiores que 3,0 cm ou lesões únicas superiores a 5,0 centímetros são consideradas intermediárias e não podem ser submetidas a transplante de fígado antes da redução do tumor (LLOVET et al., 1999). Dependência entre radiologista e algoritmo foi avaliada pelo R-quadrado produzido por um ajuste linear das medidas computadorizadas contra as medidas do radiologista. O teste *t* de Student foi aplicado para concluir se há diferença estatística entre os grupos de medidas e gráficos Bland- Altman foram utilizados para avaliar a dispersão e limites de concordância das medidas (BLAND e ALTMAN, 1986). O algoritmo e sua validação em medidas planares de CHC foram publicados no periódico *Radiation Oncology* sob o título *Wavelet-based algorithm to the evaluation of contrasted hepatocellular carcinoma in CT-images after transarterial chemoembolization* e está explícito no Apêndice II desta tese.

3.6 Volumetria do CHC

Após a segmentação axial do CHC, o volume pode ser obtido com o alinhamento das imagens sob o mesmo eixo usado durante a realização do exame.

Na Figura abaixo são apresentados exemplo de CHC de 26.5 cm³ antes da quimioembolização que após o tratamento apresentou 0.3 cm³ de área contrastada correspondendo unicamente à irrigação do tumor dos vasos no local do tumor.

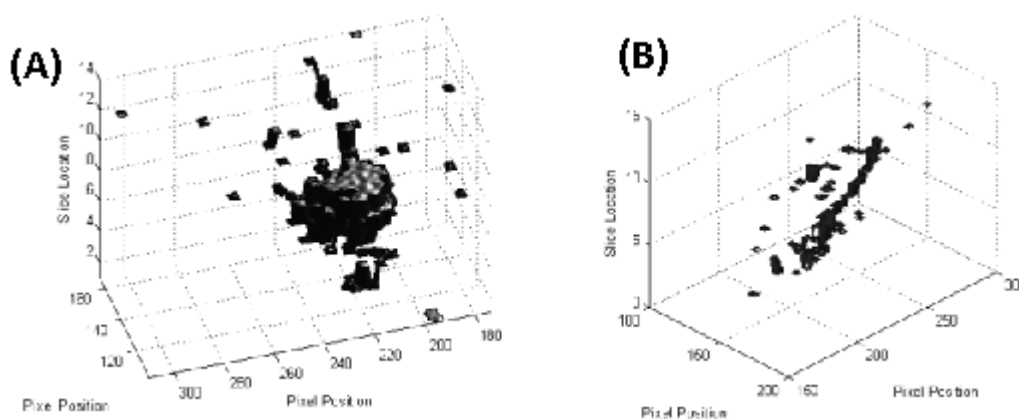


Fig 13. Volumetria de CHC antes e após a quimioembolização. Em (A) pode-se observar um CHC de 26.5cm³ de volume contrastado antes da quimioembolização que, após o tratamento, apresentou 0.3cm³ de volume contrastado (observado em B).

O VTT foi estimado usando a soma dos volumes de cada tumor sendo volume definido como $\frac{4}{3}\pi r^3$ sendo r igual ao raio resultante do maior diâmetro de cada tumor(TOSO et al., 2008).

Capítulo 4

Resultados

“Até começar a parecer ordem, o caos não é perigoso.”

-5º Grande Axioma de Max Gunther

4 Resultados

4.1 Segmentação do fantoma simulado

A Fig 14 apresenta o desempenho do algoritmo, em Fig 14 (A) está representado o fantoma; em Fig 14 (B) um resultado utilizando as técnicas do algoritmo sem a pré filtragem com a transformada wavelet e Fig 14 (C) com a pré filtragem utilizando a transformada wavelet. Esta análise explicita o teste realizado em áreas contrastadas de raio simulado equivalente a 6cm, 5cm, 4cm, 3cm, 2cm e 1cm.

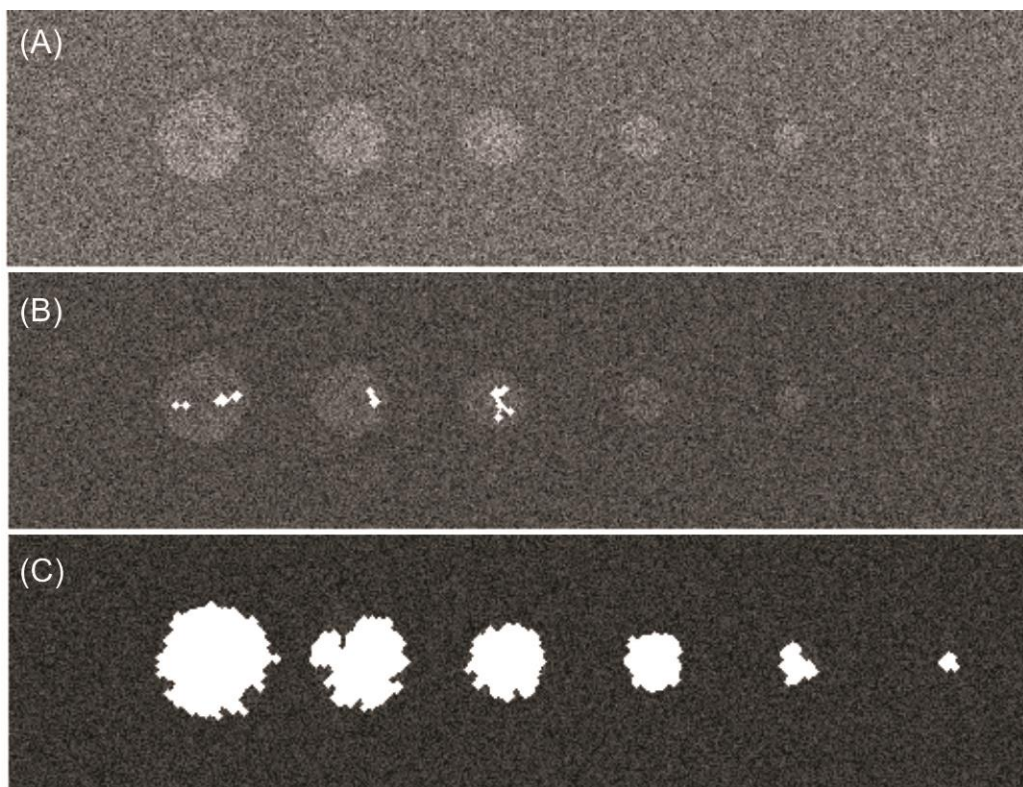


Fig 14. Resultados para o algoritmo utilizando fantoma virtual. Esferas de 10 cm, 8 cm, 6 cm, 4 cm, 2 cm e 0.5cm foram inseridas no fantoma utilizando a gaussiana de tecidos contrastados enquanto o fundo foi gerado com a gaussiana de tecidos do fígado. Em (A) está representado o fantoma. Em (B) um resultado utilizando as técnicas do algoritmo sem a pré filtragem com a transformada wavelet e (c) com a pré filtragem utilizando a transformada wavelet.

Ao calcular a eficácia do algoritmo, os diâmetros dos círculos simulados no fígado foram comparados com o diâmetro medido pelo algoritmo. Os círculos de diâmetros máximos que variaram de 0,5 centímetros a 14,0 centímetros, em passos de 0,5 centímetros e 10 iterações cada tamanho, foram gerados e utilizados como entrada para o algoritmo. Esta comparação é apresentada na Fig 15 como um gráfico de dispersão. Os limites de concordância (LdC) aferidos foram -0,32 cm e 0,31 cm e o R quadrado foi 0,99 para o ajuste linear.

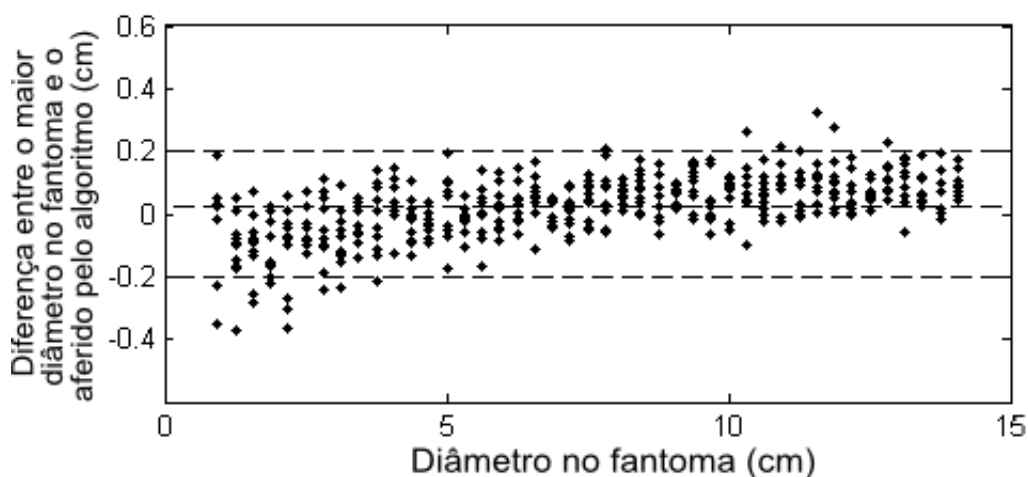


Fig 15. Resultados do algoritmo quando aplicados ao fantoma virtual, mostrados pelo gráfico de espalhamento do diâmetro de CHCs simulados na figura 2 e medidos pelo algoritmo. Uma concordância de 0,2 cm foi atingida. A linha central corresponde à média das diferenças enquanto as linhas superior e inferior correspondem aos limites de 2 desvios padrão.

4.2 Segmentação de Imagens Reais

O algoritmo otimizado foi utilizado para detectar CHC no fígado em exames reais de TC. A Fig 16 mostra alguns exemplos do desempenho do algoritmo para destacar a região do CHC. O algoritmo localiza e dimensiona a lesão em todas as imagens com alta precisão. Segundo o radiologista, a demarcação pelo algoritmo esteve de acordo com a região de delimitação do tumor para todo o conjunto de dados. Na Fig 16, as imagens superiores (A-D) apresentam cortes tomográficos antes da segmentação do tumor enquanto na parte abaixo (E-F) demonstram cortes tomográficos após a segmentação do tumor.

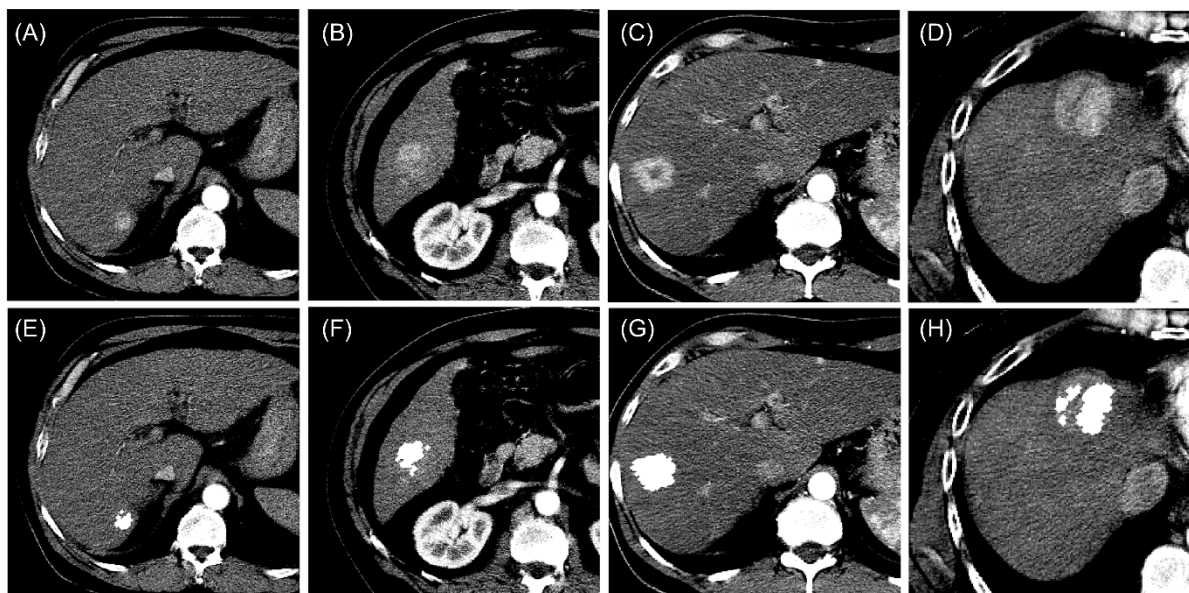


Fig 16. Exemplos da segmentação do CHC em quatro corte tomográficos. (A-D) corte tomográfico antes da segmentação. (E-H) corte tomográfico após a segmentação.

A validação dos resultados do algoritmo foi realizada por comparação de diâmetros medidos utilizando o algoritmo e as avaliações do radiologista. Os dados foram divididos em três grupos de acordo com os diâmetros máximos calculados pelo radiologista, como indicado na sessão de avaliação estatística. A Fig 17 compara os resultados obtidos a partir das medidas de algoritmo calculado com os resultados avaliados pelo radiologista, mostrando a diferença entre algoritmo e radiologista. O valor do parâmetro R em torno de 0,97, foi obtido para todos os grupos. Observou-se a dependência linear esperada entre as medidas do radiologista e do algoritmo. O teste *t* de Student não apontou diferenças estatísticas entre qualquer grupo ($p > 0,05$). A Fig 18 mostra gráficos Bland-Altman para os três grupos. Como esperado, os limites de concordância aumentaram com o tamanho do tumor.

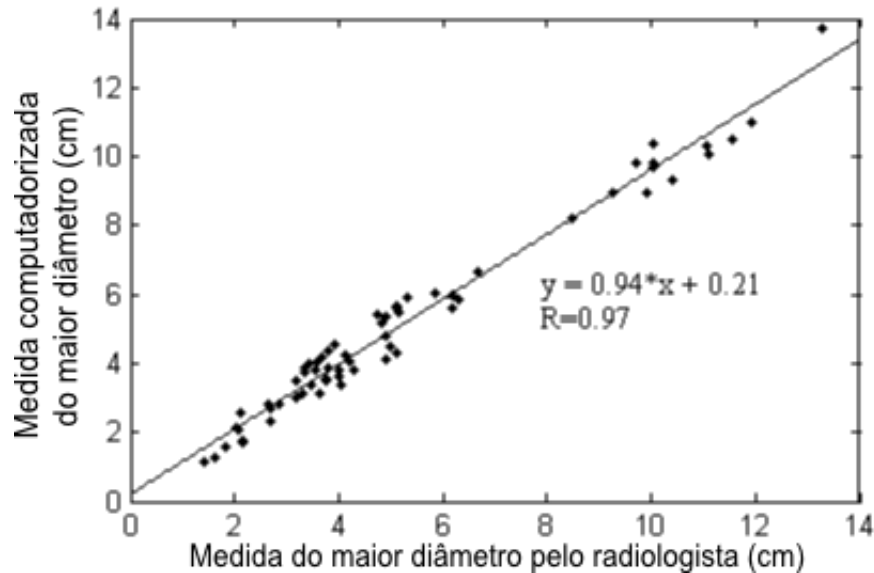


Fig 17. Correlação entre o algoritmo e a medida do radiologista. Comparação entre o máximo diâmetro medido pelo radiologista comparados com os do algoritmo. O ajuste linear entre as medidas apresentou um R^2 de 0.97 enquanto o teste t apresentou um p de 0.13, indicando não haver diferença significativa entre as medidas.

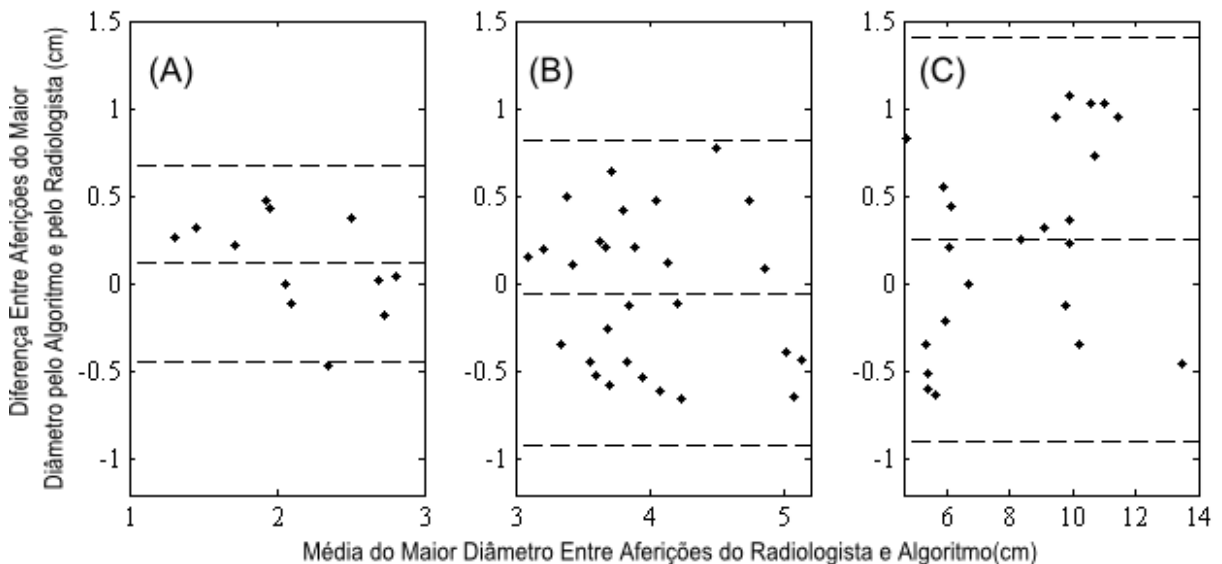


Fig 18. Comportamento do algoritmo para CHCs realçados. Gráficos de Blant-Altman (diferença entre as medidas *versus* média entre as medidas) são apresentados nessa figura. Em (A) estão mostrados os nódulos de 1.0cm a 3.0cm de diâmetro, em (B) os nódulos de 3.0 a 5.0cm de diâmetro e em (C) os nódulos de 5 a 14 cm de diâmetro, segundo o radiologista. Linhas centrais correspondem às médias das diferenças enquanto as linhas superiores e inferiores correspondem, respectivamente, aos limites de 2 desvios padrão.

A Tabela 1 apresenta a média e as diferenças obtidas pelo radiologista e o algoritmo. O algoritmo apresentou menor erro no grupo de diâmetro $3 \text{ cm} < d \leq 5 \text{ cm}$. CHCs maiores apresentaram maior conteúdo necrótico em seu interior, o que tornou sua estimativa de diâmetro máximo mais difícil pelo radiologista. Um ajuste linear foi realizado para cada

grupo e o valor de R^2 está explícito na tabela, este valor variou entre 0,61 e 0,96 e foi maior para o grupo de tumores acima de 5 cm. O teste t apresentou valores de p maiores que 0,05 para todos os grupos, mostrando que as diferenças medidas entre a avaliação do radiologista e do algoritmo não foram estatisticamente significativas, apesar de ter sido muito próximo de 0,05 para CHCs maiores que 5,0 cm, que apresentam, em sua maioria, grandes áreas de necrose dentro do tumor.

Tabela 2. Diferença entre a estimativa do algoritmo e do radiologista do máximo diâmetro do CHC.

Grupo	Número de Imagens	$\bar{M} \pm 2 \times SD$ (cm)			R^a	p^b
		Radiologista	Algoritmo	Diferença entre Radiologista e Algoritmo		
$d \leq 3\text{cm}$	12	2.2 ± 0.5	2.1 ± 0.6	0.12 ± 0.58	0.78	0.17
$3\text{cm} < d \leq 5\text{cm}$	28	4.0 ± 0.6	4.0 ± 0.7	-0.05 ± 0.86	0.61	0.54
$d > 6\text{cm}$	23	8.4 ± 2.7	8.2 ± 2.4	0.25 ± 1.14	0.96	0.05

^a Coeficientes de correlação R quadrado entre os dados e o ajuste linear.

^b valores p baseados no test t .

4.3 Comparação entre análise volumétrica e pelo diâmetro quando comparados com a sobrevida

Uma análise de sobrevida da influência do Sorafenib em pacientes com tumor intermediário após a aplicação da quimioembolização foi publicada pelos autores no periódico *Journal of Cancer Therapy* sob o título *Sorafenib after Arterial Chemoembolization in Child-Pugh A and B Cirrhotic Patients with Intermediate Hepatocellular Carcinoma: A Retrospective Analysis* e aqui se encontra descrita no Apêndice II. Na Fig 19 e Fig 20 são apresentadas as curvas de sobrevida baseadas na resposta utilizando o critério mRecist tradicional e a análise volumétrica, respectivamente. Nessas figuras a linha vermelha apresenta a sobrevida de pacientes com resposta completa à quimioembolização (sem sinal de tumor viável após a quimioembolização), a linha amarela apresenta a sobrevida de pacientes com resposta parcial (diminuição até 30% do tumor), a verde apresenta a sobrevida de pacientes com resposta estável (redução menor que 30% ou aumento de até 20%) e a linha azul os pacientes com resposta progressiva (aumento de mais de 20% do tumor). Os gráficos apontam que há uma melhor diferenciação da resposta do tumor pelo volume do que pela medida do diâmetro propriamente dita. Além disso, a correlação de Pearson entre resposta e sobrevida analisada foi de 0.46 para volume segmentado e 0.17 para o diâmetro medido

indicando que há também uma correlação entre volume real do tumor que ainda é pouco explorada pela literatura.

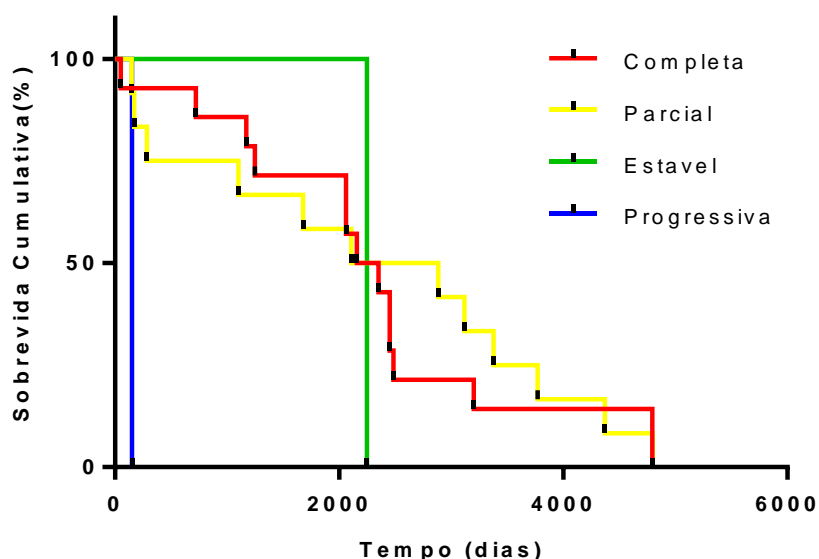


Fig 19. Curva de Sobrevida baseada na resposta utilizando o critério mRecist tradicional. A linha vermelha apresenta a sobrevida de pacientes com resposta completa à quimioembolização (sem sinal de tumor viável após a quimioembolização), a linha amarela apresenta a sobrevida de pacientes com resposta parcial (diminuição até 30% do diâmetro tumoral), a verde apresenta a sobrevida de pacientes com resposta estável (redução menor que 30% do diâmetro ou aumento de até 20%) e a linha azul os pacientes com resposta progressiva (aumento de mais de 20% no diâmetro).

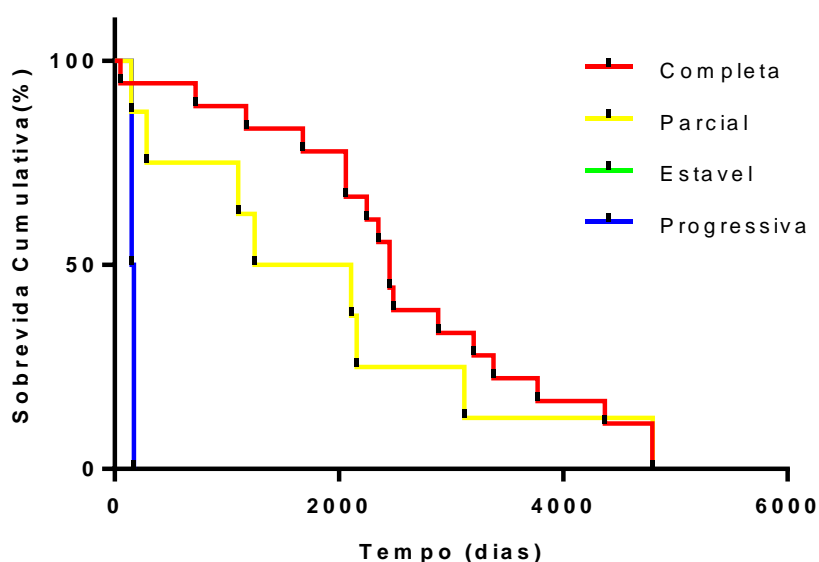


Fig 20. Curva de Sobrevida baseada na resposta utilizando o critério mRecist aplicado à análise volumétrica do carcinoma hepatocelular. A linha vermelha apresenta a sobrevida de pacientes com resposta completa à quimioembolização (sem sinal de tumor viável após a quimioembolização), a linha amarela apresenta a sobrevida de pacientes com resposta parcial (diminuição até 30% do volume tumoral), a verde apresenta a sobrevida de pacientes com resposta estável (redução menor que 30% do volume ou aumento de até 20%) e a linha azul os pacientes com resposta progressiva (aumento de mais de 20% no volume).

4.4 Eficiência da quimioembolização no tamanho de tumor viável

A Fig 21 compara o maior diâmetro de CHC da amostra pré e pós quimioembolização com diâmetro médio de 48.5 ± 41.3 mm (pré-quimioembolização) e 28.0 ± 26.5 mm (pós-quimioembolização) resultando numa redução média de $57.8 \pm 64.1\%$. Os resultados volumétricos dos pacientes presente na Fig 21 deram origem à Fig 22, onde o volume de CHC segmentado é comparado com o volume de CHC calculado pelo maior diâmetro. O volume médio de CHC segmentado (primeira e terceira coluna) pelo algoritmo foi de: 201 ± 818 cm³ (pré quimioembolização) e 24.0 ± 4.0 cm³ (pós quimioembolização) com uma redução média de 70.6 ± 36.4 % e o volume médio pelo cálculo baseado no maior diâmetro (segunda e quarta coluna) foi de: 235 ± 611 cm³ (pré quimioembolização) e 48.5 ± 9.1 cm³ (pós quimioembolização) com uma redução média de 62.8 ± 75.6 %.

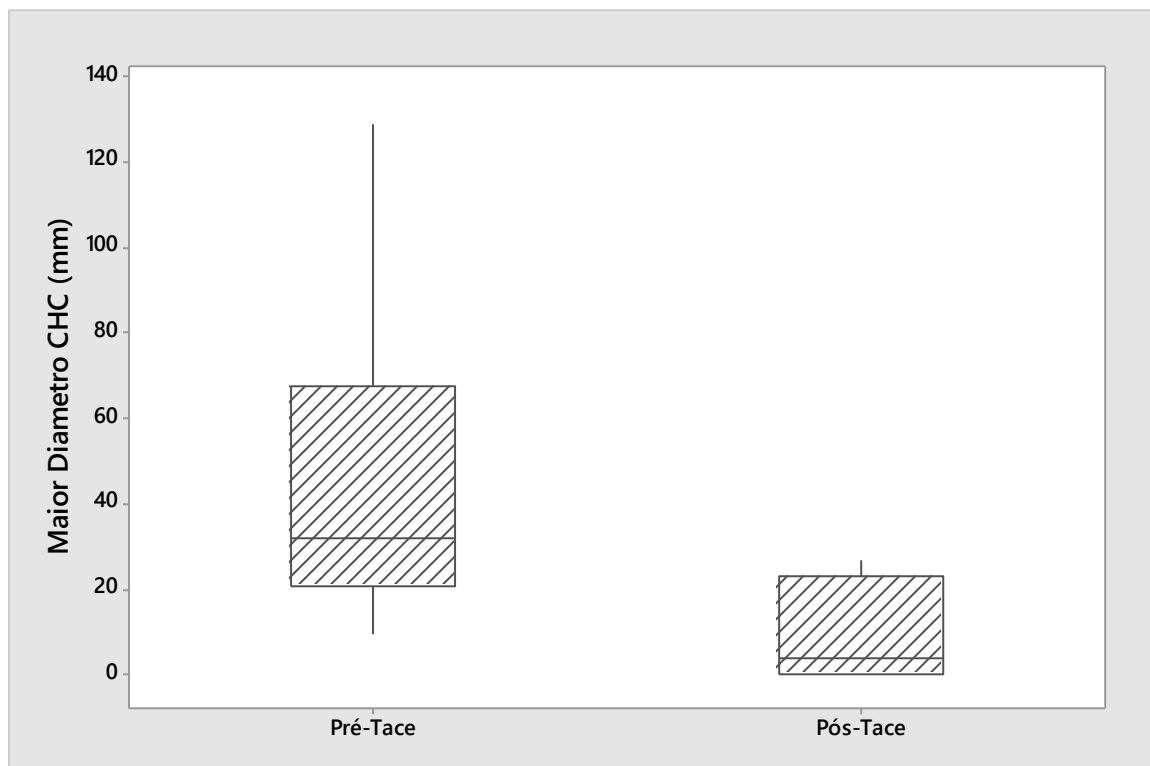


Fig 21. Diferença entre o maior diâmetro medido entre os pacientes pré e pós quimioembolização com uma redução média \pm desvio de $57.8 \pm 64.1\%$.

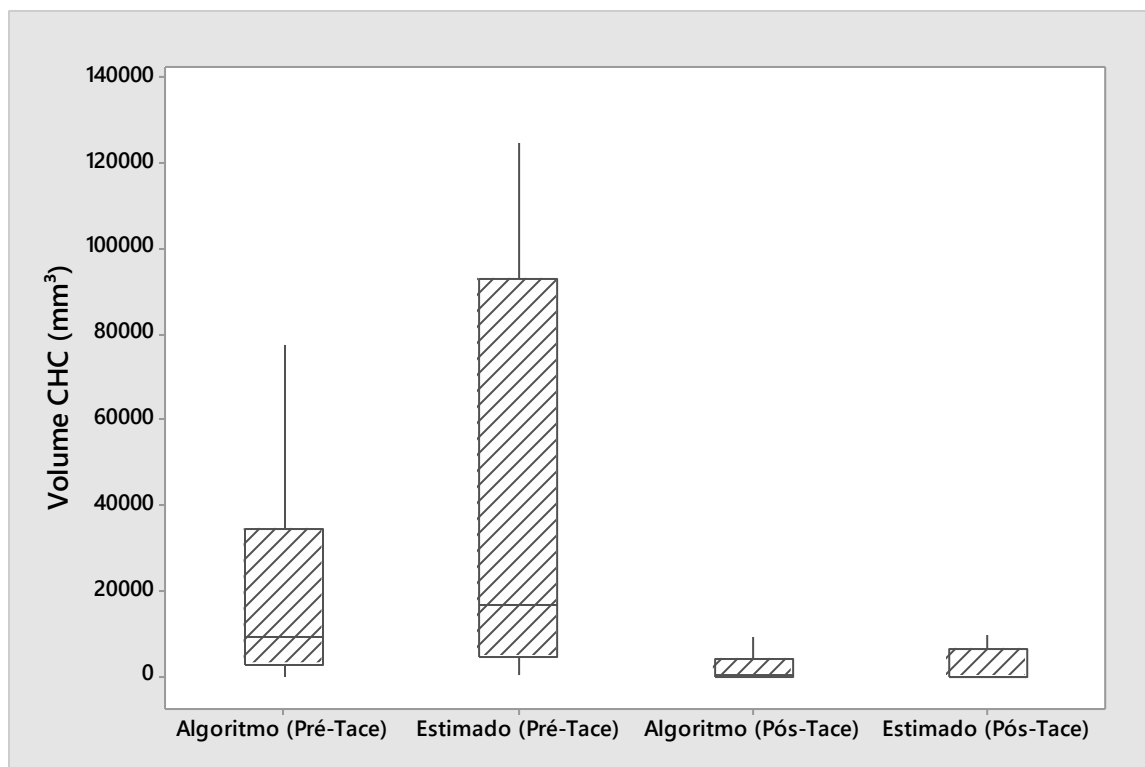


Fig 22. Diferença entre a estimação do TTV e o medido computacionalmente para os momentos pré e pós quimioembolização o volume médio pelo cálculo baseado no maior diâmetro apresentou redução média de $62.8 \pm 75.6\%$ enquanto pelo algoritmo a redução média foi de $70.6 \pm 36.4\%$.

Na análise volumétrica, pode-se perceber uma clara diminuição do volume quando analisado pelo algoritmo do que quando estimado pelo maior diâmetro tumoral. Isso se deve ao fato de não ser contabilizado as áreas necróticas e de menores diâmetros pelo algoritmo enquanto a análise pelo maior diâmetro tende a super estimar o tamanho real do tumor. A correlação de Pearson entre os volumes estimados e segmentados foi de 0.58 na análise pré-quimioembolização e de 0.48 na análise pós-quimioembolização, o que evidencia que a aproximação do tumor por uma ‘esfera’ realizada pelo método de avaliação perde um pouco a sua eficácia após o tratamento. Isto pode ser atribuído às áreas de necrose incluídas durante o tratamento do tumor.

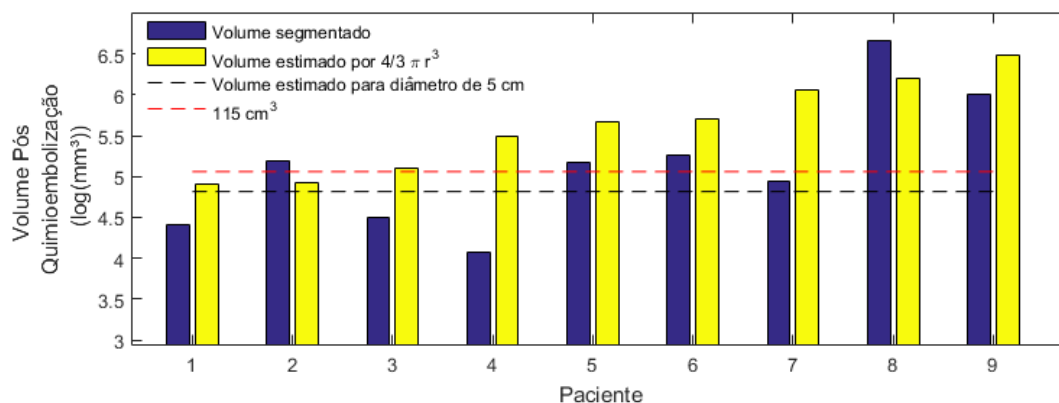


Fig 23. Logaritmo do volume de CHC pós quimioembolização estimado pelo método do diâmetro e segmentado pelo algoritmo em 9 pacientes com CHC acima de 5 cm de diâmetro pós quimioembolização. O volume de 65.4 cm³ foi obtido pela estimação do volume pela equação de uma esfera como realizado em TOSO et.al enquanto o volume de 115 cm³ denota o limiar proposto para VTT.

Pelo fato do algoritmo desconsiderar partes de tumor necrosadas e a dimensão longitudinal do tumor, pouco observada na prática clínica, o volume dos tumores medidos pelos métodos apresentaram uma clara diferença. Três pacientes com diâmetro medido acima de 5 cm e conseqüente volume acima de 65.4 cm³ (volume resultante da esfera com diâmetro de 5 cm) apresentaram volume tumoral segmentado abaixo do limiar dos 65.4 cm³. Dois CHCs apresentaram um volume maior do que o estimado devido às suas pequenas dimensões axiais se comparado com a extensão longitudinal do tumor. Na Fig 23 encontram-se denotados os logaritmos do volume dos 9 pacientes com tumor acima de 5 cm³ após a quimioembolização, os limites de 115 cm³, proposto por Toso et. al, e 65.4 cm³, volume resultante da esfera de 5 cm de diâmetro também encontram-se explícitos pelas linhas tracejadas vermelha e preta, respectivamente.

Capítulo 5

Discussão

“Só se pode confiar num palpite que possa ser explicado”

-7o Grande Axioma de Max Gunther

5 Discussão

Na avaliação do fantoma simulado, a Fig 14 deixa explícito o ganho proporcionado pela filtragem *wavelet* na detecção das massas tumorais, enquanto a Fig 15 apresenta os limites de concordância entre a avaliação do maior diâmetro pelo algoritmo e o simulado. Assim, é de se esperar que o algoritmo produza resultados entre -0.2 e 0.2 cm para tumores de até 15 cm de diâmetro sendo que para tumores abaixo de 5 cm de diâmetro há uma tendência em superestimar o tamanho do tumor em até 0,2 cm, enquanto esta tendência se inverte para tumores acima de 10 cm de diâmetro, onde o algoritmo apresentou uma tendência em subestimar o tamanho do tumor em até 0,2 cm. Este erro representa cerca de 2% do diâmetro do tumor e é menor que a concordância encontrada em estudos entre radiologistas, o que pode ser considerado um erro aceitável.

Já na Fig 16, quando o algoritmo foi aplicado em imagens tomográficas reais, este detectou as bordas apresentadas pelo CHC de maneira eficiente, o que viabiliza em primeira instância sua utilização na segmentação de CHCs reais, mostrando eficiência do processamento de imagem implementado.

Ao testar minuciosamente o algoritmo, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as análises computadorizadas e pelo radiologista. Foi encontrada, porém, um aumento na divergência entre os valores de maior diâmetro medido a medida que o diâmetro do tumor aumenta. Esta tendência pode ser associada à presença de necrose causada pela quimioembolização, levando o radiologista a superestimar essas lesões visto que a necrose não deve ser contabilizada durante a avaliação da resposta do hepatocarcinoma.

Muitos tumores de CHC são lesões não circulares, podendo apenas ser aproximadamente considerados como uma elipse, como descrito por Jensen et al. (JENSEN et al., 2008). Com base nestes resultados, os pacientes com tumores de formatos diferentes podem ser imprecisamente avaliados se apenas o diâmetro máximo for usado para classificar

a doença de acordo com os critérios mRECIST. Portanto, a avaliação do CHC pode ser melhorada se a área total do tumor viável for analisada, especialmente para tumores submetidos a procedimentos de quimioembolização, que muitas vezes têm áreas de necrose em seu interior. Este tipo de avaliação após quimioembolização poderia levar a uma comparação mais detalhada entre a resposta local e os objetivos (*endpoints*) clínicos, mas isso ainda precisa ser reavaliado em estudos futuros.

Atualmente, o novo conceito de tecido viável do tumor tem sido usado para melhorar a avaliação das lesões por CHC, especialmente após procedimentos de quimioembolização. Alguns estudos mostraram que os critérios mRECIST e EASL (European Association for the Study of the Liver) são adequados para avaliar estes tumores, sendo agora considerados mais adequados. Esses critérios estão mais estreitamente correlacionados com parâmetros clínicos (JUNG et al., 2013) e são mais simples de serem aplicados. No entanto, eles podem levar a variações nas avaliações obtidas a partir de diferentes radiologistas, pela dificuldade de calcular a área de tumor viável quando existem áreas de realce arterial em meio a áreas de necrose tumoral.

A análise da área do tumor viável é muito importante após a quimioembolização, discriminando as lesões que realmente regredem após o procedimento. A quimioembolização muitas vezes leva a formação de lesões necróticas na área central dos tumores, difíceis de serem medidas utilizando apenas os critérios que levam em conta apenas o diâmetro máximo (JUNG et al., 2013). Por exemplo, um tumor de 5 cm com necrose de 1 cm na área central é diferente de um tumor do mesmo tamanho com necrose central de 4 cm, mas ambas têm o mesmo diâmetro máximo de acordo com os critérios previamente usados, que levam em conta a medida mais extensa de tecido de tumor viável e não a medida da área necrótica. Por outro lado, a análise da região do tumor viável pode mostrar a diferença nesses dois tumores depois de um procedimento de quimioembolização, porque calcula a área de tumor viável em cada lesão.

Portanto, pode-se afirmar que uma única dimensão não é suficiente para determinar a área viável de um tumor, sendo necessários melhores métodos de avaliação para evitar erros de interpretação sobre cada nódulo encontrado no exame contrastado. Neste estudo, apresentamos um novo método para medir nódulos CHC com realce arterial nos exames de TC do fígado. O método foi capaz de distinguir o tecido hepático normal ao redor do tumor, usando ondas de base para determinar com precisão os limites tumorais. Este tratamento das imagens teve papel importante na caracterização das lesões, medindo adequadamente o tamanho dos nódulos de CHC.

Vários trabalhos defendem a tese dos critérios de Milão serem muito restritivos e encontraram uma sobrevida satisfatória em pacientes fora dos critérios de Milão (DUFFY et al., 2007; ITO et al., 2007; MAZZAFERRO et al., 1996; YAO et al., 2001). O que torna o trabalho apresentado nesta tese mais interessante do ponto de vista prático é a possibilidade de medida do volume sem a subjetividade intrínseca na metodologia atual. Um estudo envolvendo mais centros e uma quantidade maior de indivíduos deve ser conduzido de modo a verificar a eficácia do volume como preditor de sobrevida.

A necessidade de mais centro envolvidos é imprescindível visto que uma grande quantidade de indivíduos tratados no HC-FMB teve o início do tratamento em outro local enquanto outros foram deslocados para outros centros durante o tratamento o que contribuiu para que apenas um terço dos pacientes convidados a participar do estudo puderam de fato entrar na estatística.

Na Fig 23 fica claro o desacordo entre a estimação realizada pelo VTT e o volume de tumor viável detectado no exame. Doravante, é de suma importância verificar se a não contabilização do volume necrótico do tumor realmente influi na sobrevida apresentada dado que apesar dos critérios mRECIST insistirem na sua não contabilização essa regra se torna inviável em alguns tumores com intensa necrose. Neste ponto, especificamente, o algoritmo apresentado neste trabalho pode ajudar com medidas significativamente mais reprodutíveis do que as atualmente realizadas.

Capítulo 6

Conclusões

“Viver é melhor que sonhar”

-Elis Regina

6 Conclusões

Nesta pesquisa foi apresentado um algoritmo computacional capaz de segmentar e medir o diâmetro máximo e volume de CHC. Além disso, o método computadorizado produziu resultados concordantes com o radiologista.

- O algoritmo foi capaz de medir o diâmetro e volume de tumores de pequeno e grande porte com grande precisão. A concordância entre algoritmo e radiologista diminuiu gradualmente para as lesões de grandes dimensões (diâmetro > 5 cm) devido à presença de áreas de necrose no tumor, mas ainda assim com uma precisão suficiente para aplicação dos critérios BCLC, utilizados para determinar o melhor tipo de tratamento.
- A medida produzida pelo algoritmo é importante principalmente em pacientes com tumores limítrofes, funcionando como uma segunda opinião para o radiologista. Além disso, a principal vantagem do algoritmo é justamente medir as áreas de tumor ainda viável após procedimentos que causam necrose tumoral, como a quimioembolização.

O algoritmo apresentado em nosso estudo pode ser muito útil para analisar a área de tumor viável, de forma independente de medidas subjetivas, mostrando-se factível para auxiliar na decisão do prognóstico de cada paciente.

Capítulo 7

Referências

Bibliográficas

7 Referências Bibliográficas

- ALVAREZ, M. et al. Wavelet-based algorithm to the evaluation of contrasted hepatocellular carcinoma in ct-images after transarterial chemoembolization. **Radiat Oncol**, v. 9, p. 166, 2014.
- ALVAREZ, M. et al. Application of wavelets to the evaluation of phantom images for mammography quality control. **Phys Med Biol**, v. 57, p. 7177-90, 2012.
- ALZUBI, S.; ISLAM, N.; ABBOD, M. Multiresolution analysis using wavelet, ridgelet, and curvelet transforms for medical image segmentation. **Int J Biomed Imaging**, v. 2011, p. 136034, 2011.
- BAE, K. T. et al. Automatic segmentation of liver structure in ct images. **Med Phys**, v. 20, p. 71-8, 1993.
- BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. **Lancet**, v. 1, p. 307-10, 1986.
- BOLONDI, L. et al. Heterogeneity of patients with intermediate (bclc b) hepatocellular carcinoma: Proposal for a subclassification to facilitate treatment decisions. **Semin Liver Dis**, v. 32, p. 348-59, 2012.
- BOVIK, A. C. **Handbook of image and video processing**. Amsterdam ; Boston, MA: Elsevier Academic Press, 2005.
- BOVIK, A. C. **The essential guide to video processing**. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier, 2009.
- BRUIX, J. et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the barcelona-2000 easl conference. European association for the study of the liver. **J Hepatol**, v. 35, p. 421-30, 2001.
- BUSHBERG, J. T. **The essential physics of medical imaging**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2002.
- CAMMA, C. et al. Survival of patients with hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A comparison of bclc, clip and grech staging systems. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 28, p. 62-75, 2008.
- CHEN, Y. T.; TSENG, D. C. Wavelet-based medical image compression with adaptive prediction. **Comput Med Imaging Graph**, v. 31, p. 1-8, 2007.
- CILLO, U. Liver resection is a therapeutic option for highly selected bclc c patients in the context of an expert multidisciplinary setting. **Dig Liver Dis**, v. p. 2013.
- D'AVOLA, D. et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma in relation to treatment across bclc stages. **Ann Surg Oncol**, v. 18, p. 1964-71, 2011.
- D'ONOFRIO, M. et al. Liver volumetry: Is imaging reliable? Personal experience and review of the literature. **World J Radiol**, v. 6, p. 62-71, 2014.
- DANDAPAT, S. et al. Wavelet transform domain data embedding in a medical image. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc**, v. 2, p. 1541-4, 2004.
- DAUBECHIES, I. Ondelettes. **Science**, v. 262, p. 1589-91, 1993.
- DAUBECHIES, I. et al. Independent component analysis for brain fmri does not select for independence. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 106, p. 10415-22, 2009.
- DUANE, F. K. et al. Impact of delineation uncertainties on dose to organs at risk in ct-guided intracavitary brachytherapy. **Brachytherapy**, v. 13, p. 210-8, 2014.
- DUFFY, J. P. et al. Liver transplantation criteria for hepatocellular carcinoma should be expanded: A 22-year experience with 467 patients at ucla. **Ann Surg**, v. 246, p. 502-9; discussion 509-11, 2007.

- EL-SERAG, H. B. Hepatocellular carcinoma. **N Engl J Med**, v. 365, p. 1118-27, 2011.
- FORNER, A. et al. Evaluation of tumor response after locoregional therapies in hepatocellular carcinoma: Are response evaluation criteria in solid tumors reliable? **Cancer**, v. 115, p. 616-23, 2009.
- FORNER, A. et al. Current strategy for staging and treatment: The bclc update and future prospects. **Semin Liver Dis**, v. 30, p. 61-74, 2010.
- GERMANI, G. et al. Which matters most: Number of tumors, size of the largest tumor, or total tumor volume? **Liver Transpl**, v. 17 Suppl 2, p. S58-66, 2011.
- GOMAA, A. I.; HASHIM, M. S.; WAKED, I. Comparing staging systems for predicting prognosis and survival in patients with hepatocellular carcinoma in egypt. **PLoS One**, v. 9, p. e90929, 2014.
- GOMAA, A. I. et al. Hepatocellular carcinoma: Epidemiology, risk factors and pathogenesis. **World J Gastroenterol**, v. 14, p. 4300-8, 2008.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall, 2002.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. Upper Saddle River, NJ: Pearson/Prentice Hall, 2008.
- GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E.; EDDINS, S. L. **Digital image processing using matlab**. Upper Saddle River, N. J.: Pearson Prentice Hall, 2004.
- GUIHONG, Q.; DALI, Z.; PINGFAN, Y. Medical image fusion by wavelet transform modulus maxima. **Opt Express**, v. 9, p. 184-90, 2001.
- HOU, W.; WU, X.; PENG, C. [an algorithm of a wavelet-based medical image quantization]. **Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi**, v. 19, p. 657-9, 675, 2002.
- ITO, T. et al. Expansion of selection criteria for patients with hepatocellular carcinoma in living donor liver transplantation. **Liver Transpl**, v. 13, p. 1637-44, 2007.
- JENSEN, M. M. et al. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microct is more accurate and reproducible than determined by 18f-fdg-micropet or external caliper. **BMC Med Imaging**, v. 8, p. 16, 2008.
- JUNG, E. S. et al. Comparison of the methods for tumor response assessment in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization. **J Hepatol**, v. 58, p. 1181-7, 2013.
- KAK, A. C.; SLANEY, M. **Principles of computerized tomographic imaging**. Philadelphia: Society for Industrial and Applied Mathematics, 2001.
- KIM, B. K. et al. Applicability of bclc stage for prognostic stratification in comparison with other staging systems: Single centre experience from long-term clinical outcomes of 1717 treatment-naive patients with hepatocellular carcinoma. **Liver Int**, v. 32, p. 1120-7, 2012.
- KIM, S. E. et al. Applicability of the bclc staging system to patients with hepatocellular carcinoma in korea: Analysis at a single center with a liver transplant center. **Korean J Hepatol**, v. 17, p. 113-9, 2011.
- KORFIATIS, P. et al. Combining 2d wavelet edge highlighting and 3d thresholding for lung segmentation in thin-slice ct. **Br J Radiol**, v. 80, p. 996-1004, 2007.
- KUDO, M.; UESHIMA, K. Positioning of a molecular-targeted agent, sorafenib, in the treatment algorithm for hepatocellular carcinoma and implication of many complete remission cases in japan. **Oncology**, v. 78 Suppl 1, p. 154-66, 2010.
- LAU, W. Y. Management of hepatocellular carcinoma. **J R Coll Surg Edinb**, v. 47, p. 389-99, 2002.
- LAU, W. Y.; LAI, E. C. Hepatocellular carcinoma: Current management and recent advances. **Hepatobiliary Pancreat Dis Int**, v. 7, p. 237-57, 2008.

- LENCIONI, R.; LLOVET, J. M. Modified recist (mrecist) assessment for hepatocellular carcinoma. **Semin Liver Dis**, v. 30, p. 52-60, 2010.
- LIN, C. T. et al. Comparing hepatic resection and transarterial chemoembolization for barcelona clinic liver cancer (bclc) stage b hepatocellular carcinoma: Change for treatment of choice? **World J Surg**, v. 34, p. 2155-61, 2010.
- LIN, Z. Z. et al. Factors impacting prognosis prediction in bclc stage c and child-pugh class a hepatocellular carcinoma patients in prospective clinical trials of systemic therapy. **Oncologist**, v. 17, p. 970-7, 2012.
- LIVRAGHI, T. et al. Is it time to reconsider the bclc/aasld therapeutic flow-chart? **J Surg Oncol**, v. 102, p. 868-76, 2010.
- LLOVET, J. M.; BRU, C.; BRUIX, J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: The bclc staging classification. **Semin Liver Dis**, v. 19, p. 329-38, 1999.
- LLOVET, J. M.; BRUIX, J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. **Hepatology**, v. 37, p. 429-42, 2003.
- LLOVET, J. M. et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. **N Engl J Med**, v. 359, p. 378-90, 2008.
- MALLAT, S. Applied mathematics meets signal processing. **Challenges for the 21st Century**, v. p. 138-161, 2000.
- MAZZAFERRO, V. et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. **N Engl J Med**, v. 334, p. 693-9, 1996.
- MCCULLOUGH, E. C. Photon attenuation in computed tomography. **Med Phys**, v. 2, p. 307-20, 1975.
- MILLER, A. B. et al. Reporting results of cancer treatment. **Cancer**, v. 47, p. 207-14, 1981.
- NATSUGOE, S. et al. Synchronous and metachronous carcinomas of the esophagus and head and neck. **Dis Esophagus**, v. 10, p. 134-8, 1997.
- PECK-RADOSAVLJEVIC, M.; STAUBER, R. E. Bclc--now also an internationally acclaimed prognostic system? **Liver Int**, v. 32, p. 1037-8, 2012.
- RADU, P. et al. Treatment of hepatocellular carcinoma in a tertiary romanian center. Deviations from bclc recommendations and influence on survival rate. **J Gastrointestin Liver Dis**, v. 22, p. 291-7, 2013.
- RAOUL, J. L. et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: Available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. **Cancer Treat Rev**, v. 37, p. 212-20, 2011.
- RICHARD, S. et al. Towards task-based assessment of ct performance: System and object mtf across different reconstruction algorithms. **Med Phys**, v. 39, p. 4115-22, 2012.
- RUTKAUSKAS, S. et al. Clinical and anatomical basis for the classification of the structural parts of liver. **Medicina (Kaunas)**, v. 42, p. 98-106, 2006.
- SANTAMBROGIO, R. et al. Hepatic resection for "bclc stage a" hepatocellular carcinoma. The prognostic role of alpha-fetoprotein. **Ann Surg Oncol**, v. 19, p. 426-34, 2012.
- SATO, Y. et al. Tumor response evaluation criteria for hcc (hepatocellular carcinoma) treated using tace (transcatheter arterial chemoembolization): Recist (response evaluation criteria in solid tumors) version 1.1 and mrecist (modified recist): Jivrosg-0602. **Ups J Med Sci**, v. 118, p. 16-22, 2013.
- SHIDAHARA, M. et al. Wavelet-based resolution recovery using an anatomical prior provides quantitative recovery for human population phantom pet [(1)(1)c]raclopride data. **Phys Med Biol**, v. 57, p. 3107-22, 2012.
- STUART, K. Chemoembolization in the management of liver tumors. **Oncologist**, v. 8, p. 425-37, 2003.

- TER-POGOSSIAN, M. M. **The physical aspects of diagnostic radiology**. New York,: Hoeber Medical Division, 1967.
- THERASSE, P. et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European organization for research and treatment of cancer, national cancer institute of the united states, national cancer institute of canada. **J Natl Cancer Inst**, v. 92, p. 205-16, 2000.
- TOSO, C. et al. Reassessing selection criteria prior to liver transplantation for hepatocellular carcinoma utilizing the scientific registry of transplant recipients database. **Hepatology**, v. 49, p. 832-8, 2009.
- TOSO, C. et al. Total tumor volume and alpha-fetoprotein for selection of transplant candidates with hepatocellular carcinoma: A prospective validation. **Hepatology**, v. 62, p. 158-65, 2015.
- TOSO, C. et al. Total tumor volume predicts risk of recurrence following liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. **Liver Transpl**, v. 14, p. 1107-15, 2008.
- WANG, J. H. et al. Survival comparison between surgical resection and radiofrequency ablation for patients in bclc very early/early stage hepatocellular carcinoma. **J Hepatol**, v. 56, p. 412-8, 2012.
- YANG, T. et al. Surgical resection for advanced hepatocellular carcinoma according to barcelona clinic liver cancer (bclc) staging. **J Cancer Res Clin Oncol**, v. 138, p. 1121-9, 2012.
- YAO, F. Y. et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. **Hepatology**, v. 33, p. 1394-403, 2001.
- ZHAO, W. C. et al. Patients with multiple hepatocellular carcinomas within the ucsf criteria have outcomes after curative resection similar to patients within the bclc early-stage criteria. **World J Surg**, v. 36, p. 1811-23, 2012.

Apêndices

8 Apêndices

8.1 Protocolo de Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa



Universidade Estadual Paulista
Faculdade de Medicina de Botucatu

Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu – S.P.
CEP: 18.618-970
Fone/Fax: (0xx14) 3811-6143
e-mail secretaria: capellup@fmb.unesp.br
e-mail coordenadoria: tsarden@fmb.unesp.br



Registrado no Ministério da Saúde
em 30 de abril de 1997

Botucatu, 01 de outubro de 2.012

OF. 485/2012

Ilustríssimo Senhor
Prof. Dr. Fernando Gomes Romeiro
Departamento de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de Botucatu

Prezado Prof. Fernando,

De ordem do Senhor Coordenador, informo que o Projeto de Pesquisa (Protocolo CEP 4371-2012) "Quimioembolização arterial associada ou não ao sorafenib no carcinoma hepatocelular em pacientes com cirrose hepática: análise retrospectiva", a ser conduzido por Fábio da Silva Yamashiro, orientado por Vossa Senhoria, co-orientado por Giovanni Faria Silva, com a colaboração de Carlos Antônio Caramori, Denise Moroto, Erika Hissae Sasaki Abe, Fabio Cardoso de Carvalho, Francielen Furieri Rigo, Guareide Carelli, Leticia de Campos Franzoni, Virgilio de Araújo Oliveira, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião de 01/10/2012.

Situação do Projeto: APROVADO. Os pesquisadores deverão apresentar ao CEP ao final da execução do Projeto o "Relatório Final de Atividades".

Atenciosamente,


Alberto Santos Capelluppi
Secretário do CEP

8.2 Artigos publicados relevantes ao tema da tese

RESEARCH

Open Access

Wavelet-based algorithm to the evaluation of contrasted hepatocellular carcinoma in CT-images after transarterial chemoembolization

Matheus Alvarez^{1*}, Diana Rodrigues de Pina², Fernando Gomes Romeiro³, Sérgio Barbosa Duarte⁴ and José Ricardo de Arruda Miranda¹

Abstract

Background: Hepatocellular carcinoma is a primary tumor of the liver and involves different treatment modalities according to the tumor stage. After local therapies, the tumor evaluation is based on the mRECIST criteria, which involves the measurement of the maximum diameter of the viable lesion. This paper describes a computed methodology to measure through the contrasted area of the lesions the maximum diameter of the tumor by a computational algorithm.

Methods: 63 computed tomography (CT) slices from 23 patients were assessed. Non-contrasted liver and HCC typical nodules were evaluated, and a virtual phantom was developed for this purpose. Optimization of the algorithm detection and quantification was made using the virtual phantom. After that, we compared the algorithm findings of maximum diameter of the target lesions against radiologist measures.

Results: Computed results of the maximum diameter are in good agreement with the results obtained by radiologist evaluation, indicating that the algorithm was able to detect properly the tumor limits. A comparison of the estimated maximum diameter by radiologist versus the algorithm revealed differences on the order of 0.25 cm for large-sized tumors (diameter > 5 cm), whereas agreement lesser than 1.0 cm was found for small-sized tumors.

Conclusions: Differences between algorithm and radiologist measures were accurate for small-sized tumors with a trend to a small decrease for tumors greater than 5 cm. Therefore, traditional methods for measuring lesion diameter should be complemented non-subjective measurement methods, which would allow a more correct evaluation of the contrast-enhanced areas of HCC according to the mRECIST criteria.

Background

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer in men and the seventh most common in women [1]. Its incidence is highest in regions where hepatitis B virus is endemic [1]. In the United States, deaths caused by hepatitis C virus (HCV)-related HCC are rapidly rising. In the past two decades, the incidence of HCC in the United States has tripled, but the 5-year survival rate has remained below 12% [2]. The greatest proportional increase in cases of HCC has been seen

among Hispanics and whites between 45 and 60 years old [2].

In general, HCC diagnosis is based on noninvasive imaging tests [3,4]. In patients with cirrhosis and a focal hepatic lesion ≥ 2 cm, the diagnosis may be confidently established on the basis of typical imaging features showing areas of arterial enhancement and regions promptly "washed out" (fainter than the liver tissue) in the venous or delayed phase of four-phase multidetector computed tomography (CT) exam (where the four phases are unenhanced, arterial, venous, and delayed) [3,5].

Orthotopic liver transplantation (OLT) is the recommended treatment when the tumor is within specific criteria, that based on the tumor maximum diameters and the absence of tumor spread outside the liver [3]. Previous studies support the effectiveness of OLT in

* Correspondence: matheus@ibb.unesp.br

¹Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Física e Biofísica, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior S/N, Botucatu, 18618-000 São Paulo, Brazil

Full list of author information is available at the end of the article

patients meeting the Milan criteria adopted by the United Network for Organ Sharing (UNOS) [4,5]. The Milan criteria states that orthotopic liver transplantation is recommended only if the patient have a solitary HCC nodule with a diameter ≤ 5 cm or no more than 3 nodules with diameters ≤ 3 cm [5,6].

When any kind of local therapy is used in order to reduce the tumor size, the HCC nodules are evaluated according to the mRECIST criteria, which require that only well-delineated, arterially enhanced lesions could be selected as viable tumor tissue [7]. Using Computed Tomography (CT) images, the viable tumor is measured in the arterial phase, with highest distinction between the viable vascularized tumor nodule and necrotic tissue (non enhanced region) [8-11]. The longest diameter of the viable tumor should be carefully assessed on the CT examination, since it can change the decision of which treatment will be further indicated to each patient [7]. The measurement of the viable tumor diameter should not include any major intervening areas of necrosis [7]. However, large nodules and/or tumors previously submitted to local therapies are often filled by necrotic areas, making difficult to calculate the viable area of these tumors [8].

Before a curative treatment, many patients with HCC receive non-curative therapies in order to achieve the best survival rates, and one of the most used of them is the transarterial chemoembolization (TACE). This kind of treatment consists of infusions of a chemotherapeutic agent through the vessel that is the responsible by the tumor nutrition [9]. As soon the infusion is finished, the vessel is closed in order to isolate the chemotherapeutic agent within the tumor [9]. As a result, it causes a local destruction of the initial lesion, which can be seen as a necrotic area within the tumor.

The TACE efficacy can be measured by the decrease of the target lesion, and when the tumor has enough reduction. The patients can be considered at low disease stage, allowing them to receive OLT as a curative treatment [6]. However, there are some difficult to distinguish between patients which are good candidates to OLT and those still needing to receive other sessions of TACE or another therapy, taking only into account a single measure of the maximum tumor diameter. Other criterion, as the WHO criterion is based on the sum of bidimensional perpendicular products. Another one is the RECIST criterion which is based on the unidimensional quantity, the sum of the longest found diameters. Both criteria were designed for the evaluation of cytotoxic agents and not for local therapies. TACE induces tumor necrosis with or without changes in tumor size [12]. Because of this, the WHO and RECIST criteria have been considered as suboptimal methods for tumor response assessment in HCC patients undergoing TACE. As a

result, the European Association for the Study of the Liver (EASL) and the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) have proposed new methods, including the concept of viable enhancing lesion modifying WHO (EASL) and RECIST (mRECIST) criteria, respectively [8]. The EASL and mRECIST criteria resulted in a higher objective response rate and provided more reliable prognostic information, including survival, than conventional WHO and RECIST criteria. So, the measurements of the viable areas of HCC nodules are now the best way to access the TACE efficiency [9].

In this work, we measured the maximum diameter of the viable HCC by a computed algorithm in patient after TACE. For this purpose, an algorithm based on the discrete wavelet transform (DWT) was developed to quantify the enhanced areas of the liver on CT images using a non subjective way.

Methods

CT data sample

The CT data for this study comprises 23 enhanced high-resolution abdomen CT exams offered by the Clinical Hospital of Botucatu Medical School. Ethical approval was granted by Research Ethical Commission of this institute under the protocol number 485/2012. Written informed consent was obtained from the patient for the publication of this report and any accompanying images. These exams included CT scans performed after transarterial chemoembolization of 23 patients who had not been treated by another kind of therapy. The hospital radiologist selected 63 slices which contains at least one contrasted part of a typical HCC lesion. There were selected the slices that had the highest amount of tumoral contrast-enhanced tissue. Each CT image measured 512×512 pixels, the pixel size ranged from 0.73 to 0.89 mm, with mean pixel value 0.80 mm. The HCC maximum contrasted diameter size evaluated by an expert radiologist, with more than three years of experience, varies from 1.4 cm to 13.3 cm, central value of 4.7 cm and mean \pm standard deviation of 5.3 ± 3.0 cm.

Patients

We included patients undergoing 4-phases tomography at Botucatu Medical School, who have all of the following conditions: (i) more than 18 years old; (ii) undoubted diagnosis of cirrhotic liver and HCC superior to 1 cm of diameter; (iii) at least one contrast-enhanced lesion at the arterial phase; (iv) rapid washout of the lesion during the venous phase; (v) without previous lipiodol use in HCC lesions treated through transarterial chemoembolization.

Highlighting structures using wavelets

Multiscale contrast enhancement was used to highlight the tumor inside the liver. Similar to Fourier analysis,

the WT corresponds to a decomposition of the functional representation of the digital image. Whereas Fourier transformation represents the signal in the frequency domain, the WT provides a spatio-frequency decomposition of the signal [10,11].

This section describes image decomposition by multi-resolution analysis (MRA), which has the ability to separate the decomposition into higher frequency bands and residuals (low-frequency components). This method offers multiresolution properties and highlights the characteristics of interest in the image. By introducing a high band-pass function ψ and a low-pass scaling function φ , a one-dimensional (1D) signal $f(x)$ can be decomposed by MRA as:

$$f(x) = \sum_k \sum_{j=1}^J d_j(k) \cdot \psi_{j,k}(x) + \sum_k C_j(k) \cdot \varphi_{j,k}(x) \quad (1)$$

where the first and second terms on the right-hand side of equation (1) represent the decomposed high- and low-frequency components of the image, respectively [13]. The wavelet coefficients $d_j(k)$ are given by the scalar products of the original image with the $\psi_{j,k}$ basis elements in the pixel position k (covering the row image) and the chosen decomposition level j . $C_j(k)$ are the scaling coefficients, and $\varphi_{j,k}(x)$ are the respective scaling functions [12].

In the case of an image $f(x, y)$, for $j = 1$, 1D high-/low-pass filtering is first applied to the original image $f(x, y)$ along the horizontal direction (0°), followed by a decimation in which every odd-numbered element is removed. The 1D filtering and decimation are then applied in the vertical direction (90°). According to the combination (high-high, high-low, low-high, and low-low filtering), the output consists of four quadrants (q). The lowest-resolution quadrant corresponds to the sub-bands for the scaling coefficient $C_1(k)$. The other three quadrants with directionalities $\{0^\circ, 90^\circ, 45^\circ\}$ are the sub-bands for the wavelet coefficients $d_1(k, q)$. The process is repeated for $j = 2$ by using $C_1(k)$ in place of the original image [13].

The coefficients $d_j(k, q)$ indicate the high-frequency elements of the decomposed image at position k and quadrant q within the frequency band j , where j is usually referred to as the decomposition/ resolution level (or simply as the "level"). As the level j increases, the structural information of the image object in $d_j(k, q)$ decreases [13]. Therefore, the wavelet coefficients used for the discrete WT may be chosen according to the size of the structure that one wants to highlight in the image. Alternatively, the images may be reconstructed to improve algorithm performance via MRA [14-16].

Algorithm optimization method

Pixel intensities (in Hounsfield units, HU) of each slice were studied using MatLab® platform. The gray intensity levels of the pixels in regions containing enhanced and normal liver tissues were analyzed. The pixel intensity distribution in each type of tissue was fitted by Gaussians and the mean and SD determined in the slices was determined, as shown in Figure 1. The curve for normal liver tissue is depicted in part (a), contrasted liver tissue distributions in part (b), the superposition of (a) and (b) distribution is represented by the curve (c), and (d) is actual histogram extracted from the image.

A virtual phantom was developed for the algorithm optimization. The phantom was used to optimize the detection of HCC and remarking the differences from normal liver tissue as shown in the phantom image of Figure 2(A).

When constructing the phantom, the Gaussian distribution representing the normal tissue was used to fill a 256×512 -pixel field image as a background. The pixels intensities for this environment were simulated according to the distribution represented by curve-(a) in Figure 1. A set of HCC lesions were simulated by circles with maximum diameter from 5 mm to 100 mm incrustated to that background. The circle areas were filled with pixels with intensity pseudorandomly generated by the Gaussian curve (b) in Figure 1. Several algorithms and wavelets filters for segmenting and quantifying the image structures were used until to get the best results. The final algorithm and filter configuration are described in next section.

When calculating the efficiency of the algorithm, the diameters of the created circles in the liver were compared with the diameter measured by the algorithm. Circles of maximum diameters varying from 0.5 cm to 14.0 cm, in steps of 0.5 cm and 10 iterations each size were generated and used as input to the algorithm. This comparison is shown as a scatter plot located at Figure 3. Bland-Altman Limits of Agreement (LoA) encountered were in the range of -0.32 cm and 0.31 cm and an R squared equals to 0.99 for a linear fit, which is an acceptable limit of agreement.

Optimized algorithm description

The algorithm reads the DICOM image of the slice of interest, and the operator makes a manual segmentation of the liver tissue. For this step, a non automatic process is used, because the set of analyzed CT were previously segmented in the routine service. In fact, there are several algorithms available that can semi automatically segment the liver tissue with good results [17]. Of note, HCC is highly related to other liver diseases (i.e., hepatitis, venous thrombosis, cirrhosis) that may deform the liver structure. Being so, we remark that manual segmentation of the liver tissue avoids the quantification of unwanted structures.

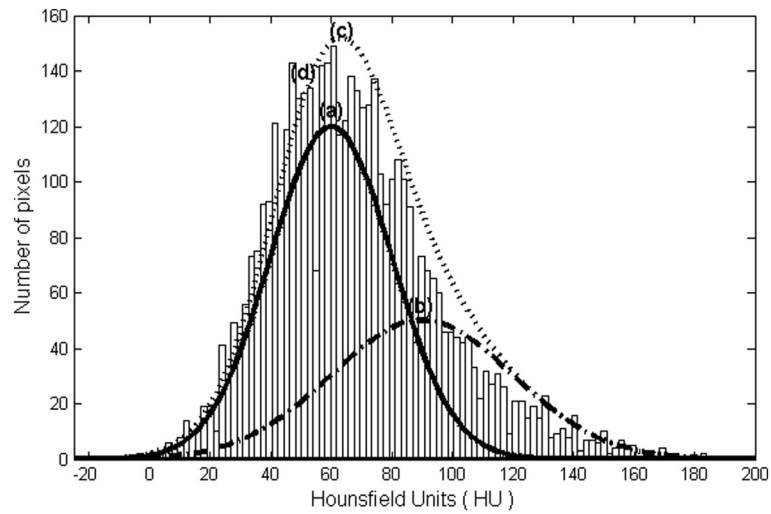


Figure 1 Distributions of pixel intensity for liver tissues. Distributions of pixel intensity for a real image containing normal curve-(a) and contrasted liver tissue curve-(b). the Gaussian distributions present mean value and dispersions 55 ± 10 HU for normal tissue and 90 ± 11 HU for contrasted liver tissue. The superposition of (a) and (b) distribution is represented by the curve (c), and (d) is actual histogram extracted from the image.

The discrete WT frequency bands were estimated in 1D by using equation (2) [18]:

$$\xi_s(\psi) = \frac{\xi_0(\psi)}{2^s p} \quad (2)$$

where $\xi_s(\psi)$ is the center spatial frequency (mm^{-1}) in the scale s , p is the pixel pitch, and $\xi_0(\psi)$ is the

pseudo-frequency (mm^{-1}) of the wavelet in its basic level ($\psi_{0,o}$). In this study, Daubechies 10 ($\xi_0(\psi) \cong 0.693$) [16,19] was used as the mother wavelet in all of the procedures. This asymmetric, orthogonal wavelet has many image-processing applications and shows better qualitative results than wavelets from other families [20-27]. The frequency bands chosen to reconstruct the ROI images were determined by considering the size of

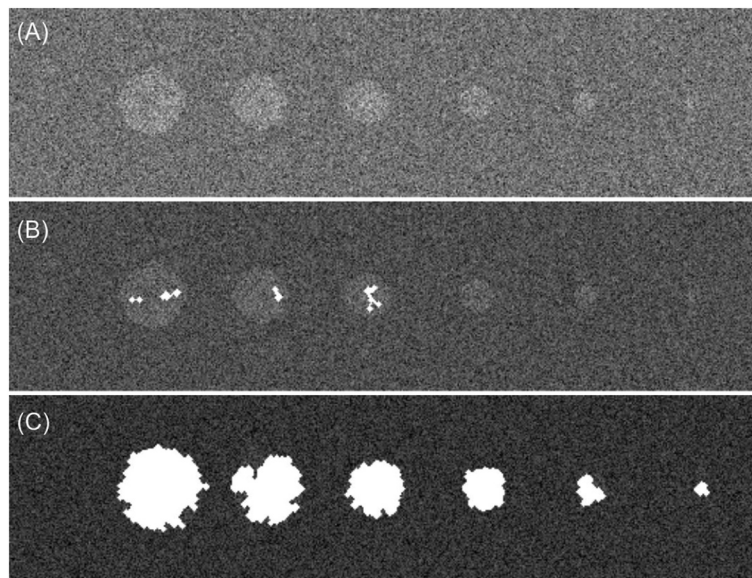


Figure 2 Virtual phantom and algorithm results. Virtual phantom constituted by simulated liver tissue and encrusted carcinomas (circles with diameters of 10 cm, 8 cm, 6 cm, 4 cm, 2 cm and 0.5 cm) in part (A). This phantom was used to optimize the algorithm performance. In (B) an illustrative example of the algorithm performance without wavelet filtering and in (C) an illustration of the algorithm performance to highlight the HCC simulated area.

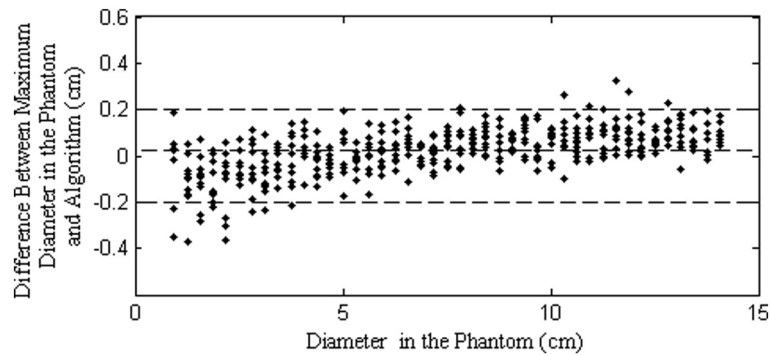


Figure 3 Algorithm results when applied to the phantom. Scatter plot of differences between algorithm measure of maximum diameter of the masses of the phantom (Figure 2), an agreement of ± 0.2 cm is clearly shown. The central line corresponds to the mean value of deviations. The upper and lower lines depict the limits of 2 SDs.

the HCC lesion. Approximation coefficients above level 2 ($\cong 0.22$ mm) were used to reconstruct all of the images, because such coefficients remove small-sized fluctuations (but not small-sized tumors) from the image.

The output of the previous step was binarized with a threshold of $M_{\text{NORMAL}} + \text{STD}_{\text{NORMAL}}$, as stated in equation (3),

$$B_{\text{output}}^1(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } I(x, y) > M_{\text{NORMAL}} \\ 0 & \text{else} \end{cases} \quad (3)$$

where $I(x, y)$ is the input image. After binarization, erosion (4) and dilation (5) filters were applied in the image $B_{\text{output}}^1(x, y)$:

$$B_{\text{output}}^2(x, y) = \begin{cases} 0 & \text{if } B_{\text{output}}^1(x+i-2, y+j-2) = 1 \text{ for all } i, j = 1, 2, 3 \\ 1 & \text{else} \end{cases} \quad (4)$$

$$B_{\text{output}}^3(x, y) = \begin{cases} 1 & \text{if } B_{\text{output}}^2(x+i-2, y+j-2) = 1 \text{ for all } i, j = 1, 2, 3 \\ 0 & \text{else} \end{cases} \quad (5)$$

In these equations, i and j are arbitrary labels for the neighbors of the pixel being analyzed. Erosion and dilation filters (when applied sequentially in an image) have the property of smoothing the objects in the binary image and removing small-sized objects produced by binarization [15,28].

Statistical assessment

Three equivalent groups to the measured diameter by the radiologist were used: (i) The G1, for which nodules equal or less than 3 cm in HCC diameter; (ii) The G2 with nodules between 3 and 5 cm in HCC diameter and (iii) The G3, where HCC diameters were above 5 cm. A group of three experienced radiologists, with more than 5 years of experience each, scored the images together agreeing with each other in the measure of the maximum diameter of the lesion. The separation

criteria were based on the limits stipulated by Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging, in which multinodular lesions greater than 3.0 cm or unique lesions greater than 5.0 cm are intermediate HCC and cannot be submitted to liver transplantation before tumor reduction [3]. Dependency was evaluated by the R-square produced by a linear fitting of computed against radiologist measures. T-student test was applied to conclude if there is statistical difference between the groups of measures and Bland-Altman plots were also used to assess the dispersion and limits of agreement between measures [29].

Results and discussion

The optimized algorithm was used to detect HCC in the liver of actual CT images. Figure 4 shows some examples of the algorithm performance for highlighting the HCC region. The algorithm located and dimensioned the lesion in all images with high precision. The radiologist opinion was in quite good agreement with the delimitation region of the tumor for all the data set.

Validation of the algorithm results was carried out by comparing measured diameters using the algorithm with the radiologist evaluations. Data were divided in three groups according to the maximum diameters calculated by the radiologist, as stated in the statistical assessment session. Figure 5 compares the results obtained from the algorithm computed measures with the results evaluated by the radiologist, showing the difference between the algorithm and the physician's opinions. The value of R-parameter around 0.97 was obtained for all groups. The expected linear dependency between the radiologist measures and the algorithm was observed. The T-student test did not find statistical differences between any group ($p > 0.05$). Figure 6 compares Bland-Altman LoA for the three groups. It is clear that LoA tends to increase with the size of the tumor.

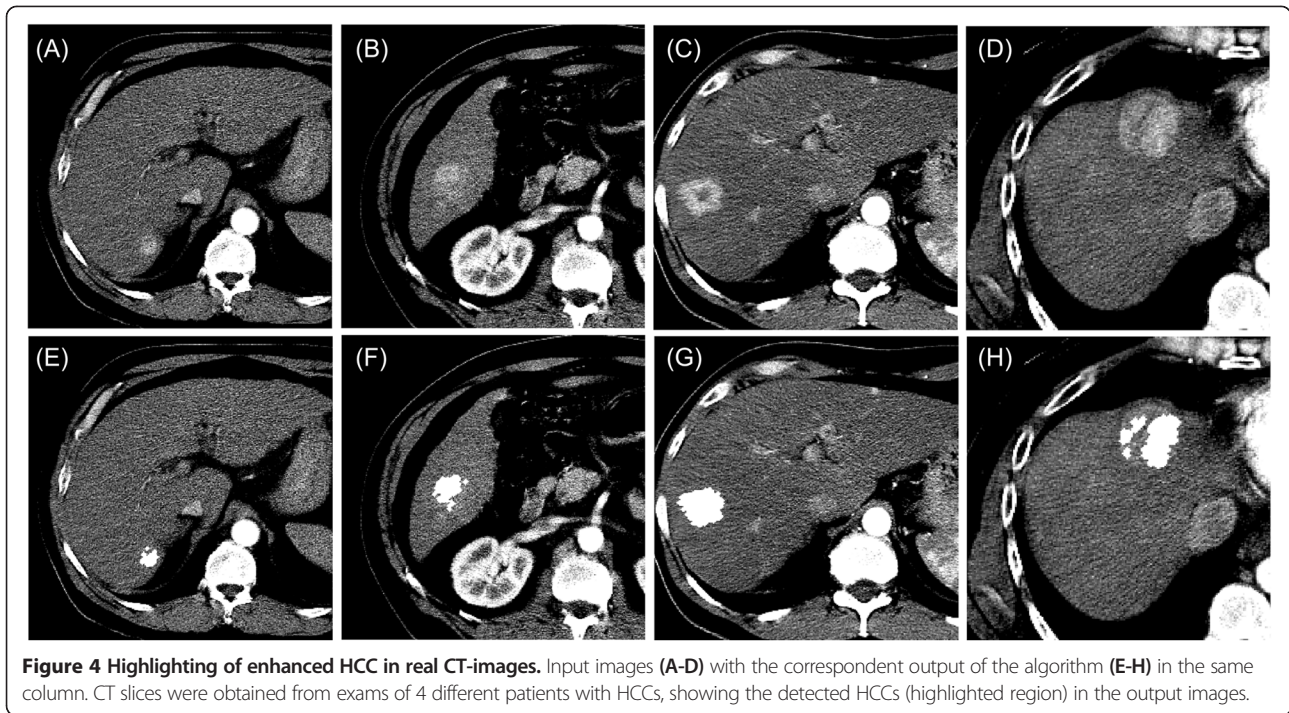
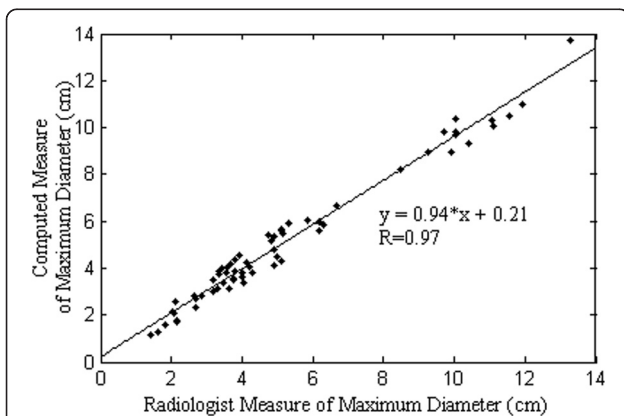


Table 1 shows mean and differences obtained by the radiologist and the algorithm. The algorithm measurements presented minimum errors in the group of $3\text{ cm} < d \leq 5\text{ cm}$ diameter. Larger HCCs presented greater necrotic parts inside the tumors, which makes its maximum diameter estimation more difficult by radiologist.

Of interest, the algorithm was able to measure area and volume of the tumors evaluated. This can be an important tool contributing to a better assessment of the tumor in the clinical routine.

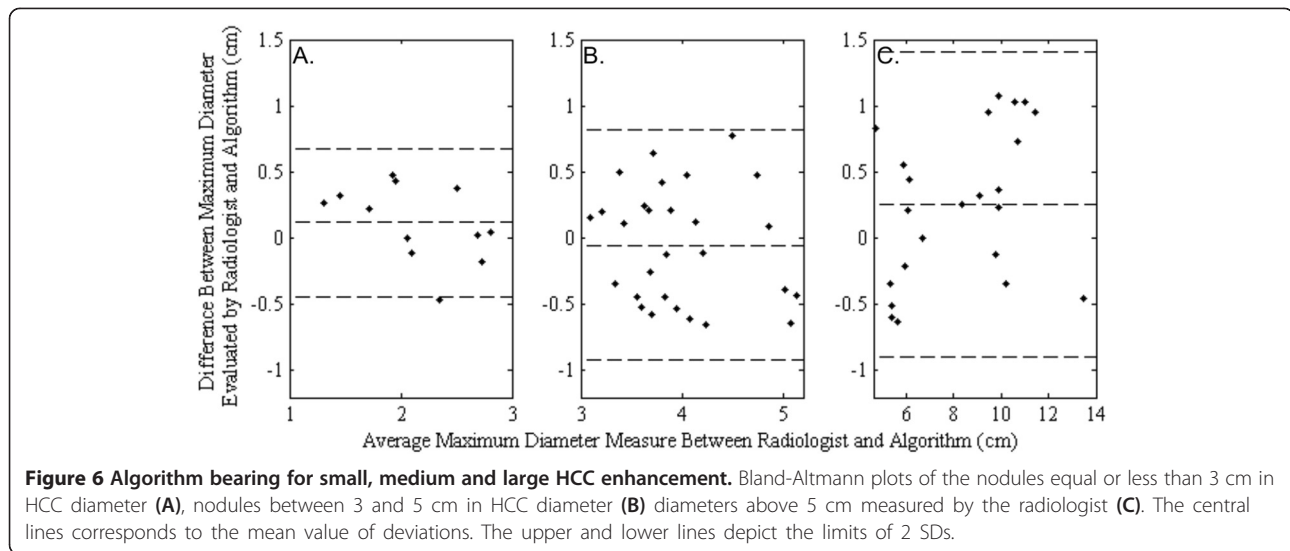


Conclusions

Due to the relevance of the tumor size to choose the best treatment for each patient with HCC lesions in the liver, the maximum diameter of the HCC lesions should be considered as a measurement that requires other re- sistent complementary measurement methods. When the tumor maximum diameter is close to the limits established for the OLT inclusion criteria and there was not tumor spread outside the liver, TACE is one of the most treatment modality used to reduce HCC lesions, but the evaluation of contrast-enhanced exams after TACE procedures can be difficult because the lesions tend to be many necrotic areas within the tumor tissue. Since there are strict criteria used to indicate which treatment must be performed to patients with HCC and the most used criteria are based on the tumor size, a non-subjective evaluation is an important tool to be considered in this case.

Currently, the new concept of tumor viable tissue is coming to improve the assessment of HCC lesions, especially after TACE procedures. Some studies showed that mRECIST and EASL criteria are suitable to evaluate these tumors, being now considered more adequate than the previous WHO and RECIST. They are more closely correlated to clinical endpoints [30] and are easier to use. However, they can lead to variations in the evaluations obtained from different radiologists, whom are not able to calculate the viable tumor area.

The analysis of the viable tumor area can be very important after TACE, discriminating the lesions that really respond after the procedure. TACE often lead to coagulative



necrotic lesions in the central area of HCC tumors, and it can be difficult to be measured using only the current criteria [30]. For instance, a tumor of 5 cm with a necrotic area of 1 cm in the central area is different of a tumor of the same size with a central necrotic area of 4 cm, but both have the same maximum diameter according to the current criteria, that take into account the longest measure of viable tumor tissue and not the necrotic area. On the other hand, the analysis of the viable tumor area can show the difference in these two tumors after a TACE procedure because it calculates the area of viable tumor in each lesion. Additionally, it can be used to compare the efficacy of TACE procedures using different chemotherapeutic agents or of each hemodynamic service.

Therefore, a single dimension does not take into account the viable area of a given tumor, and better evaluation methods are needed to avoid misinterpretations about each nodule found at the contrast-enhanced exam. In this study, we have presented a novel method to measure contrast-enhanced HCC nodules in liver CT exams. Our method was able to distinguish the normal liver tissue from the cancer, by using wavelets base to determine accurately the tumors' limits. This image treatment plays an important role in the lesions characterization, properly measuring the size of HCC nodules. The algorithm was

able to measure small-sized tumors with great accuracy. The precision is gradually decreasing for large-sized lesions (diameter > 5 cm), but still with enough precision to apply the used treatment criteria.

Our results confirm the findings of previous studies, suggesting that the maximum diameter should not be used alone to represent the tumor size. Many HCC tumors are noncircular lesions and may be only approximated by an ellipse, as described by Jensen et al. [31]. Based on these findings, patients with different tumors' shapes can be mis-evaluated if only the maximum diameter would be used to classify the disease according to the mRECIST criteria. Therefore, the HCC tumors evaluation can be improved if the total viable tumor area could be analyzed, especially for tumors submitted to TACE procedures, which often have coagulative necrotic areas inside of them. This kind of evaluation of the local response after TACE could lead to a more detailed comparison between the local response and the clinical end points, but it needs to be evaluated in further studies. The trend to major difference for lesions >5 cm may be associated with necrosis caused by TACE, leading radiologists to overestimate lesions. For the moment, the algorithm presented in our study can be very useful to analyze the viable tumor area without subjective measurements and assist in the final decision clinic.

Table 1 Difference between radiologist and algorithm estimation of maximum contrasted diameter of HCC

Group	Images	$\bar{M} \pm 2 \times SD$ (cm)			R ^a	p ^b
		Radiologist	Algorithm	Algorithm and radiologist difference		
d ≤ 3 cm	12	2.2 ± 0.5	2.1 ± 0.6	0.12 ± 0.58	0.78	0.17
3 cm < d ≤ 5 cm	28	4.0 ± 0.6	4.0 ± 0.7	-0.05 ± 0.86	0.61	0.54
d > 6 cm	23	8.4 ± 2.7	8.2 ± 2.4	0.25 ± 1.14	0.96	0.05

^aR-Squared correlation coefficients between data and linear fit.

^bp values based on t-test.

Difference between radiologist and algorithm estimation of maximum contrasted diameter of HCC.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

MA carried out the algorithm development and testing, image processing steps, statistical analysis and drafted the manuscript. DRP helped in the design of the study and helped to draft the manuscript. FGR gave the physicians point of view, participated in the design of the study and helped to draft the manuscript. SBD participated in the statistical analysis and helped to draft the manuscript. JRAM conceived the study, participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors would like to thank HC-FMB support that helped in a substantial way the realization of this work. The authors are also grateful to the Brazilian agencies CAPES, CNPQ and FAPESP for their financial support.

Author details

¹Instituto de Biociências de Botucatu, Departamento de Física e Biofísica, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior S/N, Botucatu, 18618-000 São Paulo, Brazil. ²Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior S/N, Botucatu, 18618-000 São Paulo, Brazil. ³Faculdade de Medicina de Botucatu, Departamento de Clínica Médica, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Junior S/N, Botucatu, 18618-000 São Paulo, Brazil. ⁴Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas- CBPF/MCT, Rio de Janeiro, 22290-180 Rio de Janeiro, Brazil.

Received: 4 July 2013 Accepted: 12 July 2014

Published: 26 July 2014

References

1. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM: *GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, version 1.0. International Agency for Research on Cancer CancerBase no. 5*. Lyon, France: IARC Press; 2001.
2. El-Serag HB, Davila JA: **Surveillance for hepatocellular carcinoma: in whom and how?** *Ther Adv Gastroenterol* 2011, **4**:5-10.
3. Llovet JM, Bru C, Bruix J: **Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification.** *Semin Liver Dis* 1999, **19**:329-338.
4. El-Serag HB: **Hepatocellular carcinoma.** *N Engl J Med* 2011, **365**:1118-1127.
5. Lau WY: **Management of hepatocellular carcinoma.** *J R Coll Surg Edinb* 2002, **47**:389-399.
6. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L: **Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis.** *N Engl J Med* 1996, **334**:693-699.
7. Lencioni R, Llovet JM: **Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma.** *Semin Liver Dis* 2010, **30**:52-60.
8. Sato Y, Watanabe H, Sone M, Onaya H, Sakamoto N, Osuga K, Takahashi M, Arai Y: **Tumor response evaluation criteria for HCC (hepatocellular carcinoma) treated using TACE (transcatheter arterial chemoembolization): RECIST (response evaluation criteria in solid tumors) version 1.1 and mRECIST (modified RECIST): JIVROSG-0602.** *Ups J Med Sci* 2013, **118**:16-22.
9. Lin CT, Hsu KF, Chen TW, Yu JC, Chan DC, Yu CY, Hsieh TY, Fan HL, Kuo SM, Chung KP, Hsieh CB: **Comparing hepatic resection and transarterial chemoembolization for Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) stage B hepatocellular carcinoma: change for treatment of choice?** *World J Surg* 2010, **34**:2155-2161.
10. Mallat S (Ed): *A wavelet Tour of Signal Processing*. New York: Academic Press; 1999.
11. Alvarez M, Pina DR, Miranda JR, Duarte SB: **Application of wavelets to the evaluation of phantom images for mammography quality control.** *Phys Med Biol* 2012, **57**:7177-7190.
12. Mallat S: **Applied Mathematics meets Signal Processing.** In *Challenges for the 21st Century*. 2000:138-161.
13. Shidahara M, Tsoumpas C, McGinness CJ, Kato T, Tamura H, Hammers A, Watabe H, Turkheimer FE: **Wavelet-based resolution recovery using an anatomical prior provides quantitative recovery for human population phantom PET [(1)(1)C]raclopride data.** *Phys Med Biol* 2012, **57**:3107-3122.
14. Gonzalez RC, Woods RE: *Digital Image Processing*. 2nd edition. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall; 2002.
15. Bovik AC: *Handbook of Image and Video Processing*. 1st edition. San Diego, CA: Elsevier Academic Press; 2005.
16. Daubechies I: **Ondelettes.** *Science* 1993, **262**:1589-1591.
17. Bae KT, Giger ML, Chen CT, Kahn CE Jr: **Automatic segmentation of liver structure in CT images.** *Med Phys* 1993, **20**:71-78.
18. Markwardt K: **Wavelet Analysis and Frequency Band Decompositions.** In 2006. (Editor ed.^eds.). City.
19. Daubechies I, Roussos E, Takerkart S, Benharrosh M, Golden C, D'Ardenne K, Richter W, Cohen JD, Haxby J: **Independent component analysis for brain fMRI does not select for independence.** *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, **106**:10415-10422.
20. Alzubi S, Islam N, Abbod M: **Multiresolution analysis using wavelet, ridgelet, and curvelet transforms for medical image segmentation.** *Int J Biomed Imag* 2011, **2011**:136034.
21. Chen YT, Tseng DC: **Wavelet-based medical image compression with adaptive prediction.** *Comput Med Imaging Graph* 2007, **31**:1-8.
22. Dandapat S, Xu J, Chutatape O, Krishnan SM: **Wavelet transform domain data embedding in a medical image.** *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2004, **2**:1541-1544.
23. Guihong Q, Dali Z, Pingfan Y: **Medical image fusion by wavelet transform modulus maxima.** *Opt Express* 2001, **9**:184-190.
24. Hou W, Wu X, Peng C: **An algorithm of a wavelet-based medical image quantization.** *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* 2002, **19**:657-659. 675.
25. Landin CJ, Reyes MM, Martin AS, Rosas RM, Ramirez JL, Ponomaryov V, Soto MD: **Medical image processing using novel wavelet filters based on atomic functions: optimal medical image compression.** *Adv Exp Med Biol* 2011, **696**:497-504.
26. Liu H, Chen Z, Chen X, Chen Y: **Multiresolution medical image segmentation based on wavelet transform.** *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2005, **4**:3418-3421.
27. Korfiatis P, Skiadopoulos S, Sakellaropoulos P, Kalogeropoulou C, Costaridou L: **Combining 2D wavelet edge highlighting and 3D thresholding for lung segmentation in thin-slice CT.** *Br J Radiol* 2007, **80**:996-1004.
28. Gonzalez RC, Woods RE, Eddins SL: *Digital Image Processing using MATLAB*. Upper Saddle River, N. J: Pearson Prentice Hall; 2004.
29. Bland JM, Altman DG: **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement.** *Lancet* 1986, **1**:307-310.
30. Jung ES, Kim JH, Yoon EL, Lee HJ, Lee SJ, Suh SJ, Lee BJ, Seo YS, Yim HJ, Seo TS, Lee CH, Yeon JE, Park JJ, Kim JS, Bak YT, Byun KS: **Comparison of the methods for tumor response assessment in patients with hepatocellular carcinoma undergoing transarterial chemoembolization.** *J Hepatol* 2013, **58**:1181-1187.
31. Jensen MM, Jorgensen JT, Binderup T, Kjaer A: **Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by 18F-FDG-microPET or external caliper.** *BMC Med Imaging* 2008, **8**:16.

doi:10.1186/1748-717X-9-166

Cite this article as: Alvarez et al.: Wavelet-based algorithm to the evaluation of contrasted hepatocellular carcinoma in CT-images after transarterial chemoembolization. *Radiation Oncology* 2014 **9**:166.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Sorafenib after Arterial Chemoembolization in Child-Pugh A and B Cirrhotic Patients with Intermediate Hepatocellular Carcinoma: A Retrospective Analysis

Fernando Gomes Romeiro^{1*}, Luciana Yumi Odani Sigahi², Matheus Alvarez³,
Fabio da Silva Yamashiro¹, Fábio Cardoso de Carvalho¹, Leonardo Pelafsky⁴,
Talles Bazeia Lima¹, Leticia de Campos Franzoni¹, José Ricardo de Arruda Miranda³,
Giovanni Faria Silva¹

¹Gastroenterology Division, Department of Internal Medicine, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP—Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brazil

²Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP—Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brazil

³Department of Physics and Biophysics, Instituto de Biociências de Botucatu, UNESP—Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brazil

⁴Gastroenterology Division, Department of Surgery and Orthopedics, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP—Univ Estadual Paulista, São Paulo, Brazil

Email: *fgromeiro@mb.unesp.br, luciana.sigahi@gmail.com, matheus@ibb.unesp.br,
fsyamashiro@fmb.unesp.br, fabioccarvalho@hotmail.com, lpelafsky@yahoo.com.br,
tallesbazeialima@gmail.com, leticiafranzoni@hotmail.com, jmiranda@ibb.unesp.br, giovanni@fmb.unesp.br

Received 9 February 2015; accepted 18 March 2015; published 19 March 2015

Copyright © 2015 by authors and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Introduction: Hepatocellular carcinoma (HCC) is a leading cause of mortality among cirrhotic patients, and current guidelines recommend single-treatment modalities according to patient and liver disease classifications. New studies have shown promising results from combining locoregional and systemic treatments, but most of them were limited to Child-Pugh A patients due to toxicity concerns. **Aim:** The objective of this study was to analyze survival rates of Child-Pugh A and B patients with intermediate HCC tumors treated with transarterial chemoembolization (TACE) followed by full-dose sorafenib usage. **Material and methods:** a retrospective analysis of 37 cirrhotic patients (Child-Pugh A and B rates = 23/14) treated with TACE and TACE followed by sorafenib usage (17 and 20 patients, respectively). **Results:** The mean survival was 379 days in the combined treatment group and 151 days in the single-treatment group ($p = 0.007$). There were no differences in survival according to the Child-Pugh classification. **Conclusions:** sorafenib after TACE can be an option for selected cirrhotic patients with intermediate HCC tumors if this com-

*Corresponding author.

combined approach is cautiously performed on an individualized schedule. Our results suggest that the Child-Pugh classification should not be a limitation to this combined treatment.

Keywords

Hepatocellular Carcinoma, Cirrhosis, Arterial Chemoembolization, Sorafenib

1. Introduction

As the main histological tumor type originates in the liver, hepatocellular carcinoma (HCC) is found in 80% - 90% of primary tumors of the organ [1] [2]. It is the fifth most common cancer worldwide and the third most common cause of cancer mortality after lung and stomach cancers [1] [3]. In the last two decades, the incidence of HCC in the USA increased 80% and the prevalence has been expected to rise due to the proliferation of chronic liver diseases such as chronic viral hepatitis B and C, alcohol abuse and hepatic steatosis [1]. Although the disease affects young people, the HCC prevalence is associated with age, which constitutes another reason to expect a high prevalence given the increasingly older worldwide population.

To choose the best treatment for each patient, it is essential to consider that most of them also have liver cirrhosis. Thus, the more aggressive treatments may also raise the risk of cirrhosis decompensation and death. On the other hand, the less aggressive treatments are still far from being able to provide a cure or tumor downstaging. Consequently, specific algorithms integrate the cirrhosis severity, the patient's functional status and the tumor characteristics.

Currently, the criteria to indicate the patient's allocation according to the best treatment options are the Barcelona Clinic Liver Cancer Staging Classification (BCLC), Cancer of the Liver Italian Program (CLIP), Japan Integrated Staging (JIS) and Okuda criteria. They combine the patient's functional capacity, tumor size, systemic and local tumor invasion, and hepatic function. The most widely used model is the BCLC [4], which provides the best stratification of prognosis for patients with HCC [5].

Nowadays there is consistent evidence on the efficacy of sorafenib, a multikinase inhibitor that targets angiogenesis in HCC, not only for prolonging the survival of patients but in some cases for allowing complete disease remission [6] [7]. Transarterial chemoembolization (TACE) and sorafenib are the current treatments for BCLC intermediate- and advanced-stage HCC, respectively. For these patients the initial locoregional treatment can be followed by systemic therapy; therefore, the recommendations according to the BCLC classification shall not be regarded as insurmountable barriers because sometimes the successive and/or more aggressive treatments allow increasing survival rates [8].

TACE procedures can cause hypoxia not limited to the tumor tissue but also in the surrounding liver parenchyma. Thus, the ischemic injury after TACE can induce the upregulation of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF), leading to angiogenesis in the surrounding tumor. Based on this information, some studies started to combine sorafenib and TACE. Initial results seem encouraging, although there is a large heterogeneity of patients included in this type of combined treatment. One of the first randomized studies showed a longer time for the disease progression in patients with intermediate tumor stage [9]. Many other studies have been conducted worldwide, but when they are critically analyzed the authors have no doubts that more studies are needed to provide more reliable data about the indications of treatment combining TACE and sorafenib [10]-[12].

In this study we analyzed the survival of cirrhotic patients with intermediate tumor stage (BCLC staging B) treated by chemoembolization alone or followed by sorafenib. In both groups, patients had been treated in the University Hospital of Botucatu Medical School-UNESP.

2. Materials and Methods

This study was approved by the local Ethics Committee (protocol 485-2012) and carried out according to the Declaration of Helsinki and its revisions.

3. Subjects

A group of 37 cirrhotic patients (31 men and 6 women) were retrospectively selected to be included in the study.

The inclusion criteria were a minimum age of 18 years, the diagnosis of HCC confirmed by the arteriography done before TACE and the diagnosis of cirrhosis based on clinical findings, liver biopsy or imaging exams (radiological or endoscopic findings compatible with cirrhosis and portal hypertension).

The exclusion criteria were previous solid-organ transplantation, other concomitant neoplastic disease, previous therapy with any other HCC treatment modalities, active alcohol abuse and incomplete TACE procedures (chemotherapeutic agent infusion without arterial embolization).

4. Study Protocol

The TACE procedures were accomplished by catheterization of the right femoral artery giving access to the aorta, common hepatic arteries and their branches until the vessels next to the tumor. The catheter was positioned into these vessels selectively in order to protect the remaining liver around the tumor. The chemotherapeutic agent doxorubicin was infused at the dose of 75 mg/m² of body surface area, according to the total bilirubin levels:

Total bilirubin lower than 1.2 mg/dl = full dose

Total bilirubin between 1.2 mg/dl and 3 mg/dl = 50% of the full dose

Total bilirubin between 3.1 mg/dl and 5 mg/dl = 25% of the full dose

As soon as the doxorubicin was infused, the vessel embolization was performed with microspheres of 300 to 500 μ m. The decision to initiate sorafenib (Nexavar, Bayer Health Care Pharmaceuticals, Inc., Wayne, NJ, USA) after TACE was defined by the doctors who conduct each patient treatment and not by the study protocol. Thus, the patients were allocated into two groups: one in which TACE was the only treatment and the other in which TACE was followed by sorafenib use.

All the subjects receiving the combined treatment were treated on an interrupted schedule: patients were placed on sorafenib in between TACE sessions, and sorafenib was not administered during TACE. The mean time between TACE and sorafenib introduction was 54 days (2 - 150 days, according to the medical staff decisions), and the drug was initiated in a full dose regimen (400 mg B.I.D.).

Survival analysis was performed according to the survival time between the TACE procedure and the date of death. For each patient relevant data were recorded, namely the age, Child-Pugh classification, MELD score, serum alpha-fetoprotein value, number of nodules, size of the largest tumor and number of TACE sessions.

The *t* test was used for comparisons between continuous variables with normal distributions. The Mann-Whitney test was employed to compare the other variables. Survival data were plotted and survival rates were compared through log-rank test. All the statistical analysis was performed with the software Sigmastat version 3.5.

5. Results

In the sample evaluated, 20 patients had cirrhosis due to hepatitis C, 5 due to hepatitis C concomitant with alcoholic liver disease, 3 on account of hepatitis B, 5 attributable to alcoholic liver disease and 4 had nonalcoholic fatty liver disease. All were initially treated through TACE in the Hemodynamics Unity of our Hospital.

Table 1 shows the data of all patients included in the study. **Table 2** displays comparisons between patients treated exclusively with TACE and patients treated with TACE followed by sorafenib. **Table 3** shows comparisons between Child-Pugh A and B patients.

The group treated exclusively with TACE and the group treated with TACE followed by sorafenib had no significant differences in relation to age, Child-Pugh classification, MELD score, number of tumors, largest tumor size, alpha-fetoprotein or current status at the end of the study.

However, the group receiving the combined treatment received the highest number of TACE sessions ($p = 0.019$) and had longer survival ($p = 0.002$), as shown in **Table 2**. The better survival was confirmed through the log-rank test as displayed in **Figure 1**.

There were no differences in survival according to Child-Pugh classification. The data indicate that Child-Pugh A patients were older and had lower MELD scores than Child-Pugh B patients, as shown in **Table 3**.

6. Discussion

Despite our small sample size, the results showed that TACE associated with sorafenib led to a more favorable

Table 1. Data from patients included in the study.

	Age (years)	Child-Pugh (class)	Child-Pugh (points)	MELD score	Number of tumors	Tumor size (mm)	AFP (ng/ml)	TACE sessions	Survival (days)	Current status
Mi	30	22 A	5	4.21	1	8	3.28	1	12	17 D
Q1	52	-	5	8.86	1	45	25	1	150	-
M	58	-	6	10.54	2	52	80.49	1	266	6 LF
Q3	64	-	7	12.64	2	63	793	2	472	-
Ma	88	15 B	9	31.89	7	154	39800.00	4	1594	14 A#

AFP = alpha-fetoprotein; Child-Pugh = Child-Pugh classification; MELD score = Model of end-stage liver disease; Mi = minimum value; Q1 = first quartile; M = median; Q3 = third quartile; Ma = maximum value; A = Alive; D = Deceased; LF = loss of follow-up; # = including 4 patients who achieved tumor down-staging and were submitted to liver transplantation.

Table 2. Comparisons between the groups according to treatments.

	Age (years)	Child-Pugh (class)	Child-Pugh (points)	MELD score	Number of tumors	Tumor size (mm)	AFP (ng/ml)	TACE sessions	Survival (days)	Current status
Mi (T)	30	10 A	5	4.21	1	8	8.92	1	12	8D
Q1 (T)	50	-	6	9.65	1	45	48.86	1	77	-
M (T)	59	-	6	10.90	2	53	182.69	1	151	2LF
Q3 (T)	54	-	7	12.64	2	62	1647.11	1	293	-
Ma (T)	88	7 B	9	17.80	3	72	39800.00	2	1020	5A#
Mi (TS)	49	13 A	5	5.85	1	29	3.28	1	105	9D
Q1 (TS)	53	-	5	8.36	1	46	6.66	1	201	-
M (TS)	58	-	5	10.37	2	51	38.76	1.5	362	4LF
Q3 (TS)	64	-	7	12.56	2	70	172.25	3	932	-
Ma (TS)	73	7 B	9	31.89	7	154	5845.00	4	1594	7A##
p	0.975	0.717	0.071	0.681	0.909	0.176	0.051	0.019*	0.002*	0.717

AFP = alpha-fetoprotein; Child-Pugh = Child-Pugh classification; MELD = Model of end-stage liver disease; TACE = transarterial chemoembolization; Mi = minimum value; Q1 = first quartile; M = median; Q3 = third quartile; Ma = maximum value; A = Alive; D = Deceased; LF = loss of follow-up; (T) = data from patients who were treated only with TACE; (TS) = data from patients who received the combined treatment; # = including 1 patient who achieved tumor down-staging and was submitted to liver transplantation; ## = including 3 patients who achieved tumor down-staging and were submitted to liver transplantation; p = p value. * = significant differences between TACE and TACE-plus-sorafenib groups. Age, tumor size and survival were compared using *t* test. The other variables were compared via the Mann-Whitney test.

prognosis than TACE alone. Other studies have already shown a similar increase in the survival rate of patients treated with sorafenib after TACE, hypothesizing that the prolonged survival would be achieved in these patients because sorafenib can control VEGF levels, which increase after TACE [12].

First, considering only the TACE risks, a retrospective study evaluating the TACE-related risks in patients with hepatic dysfunction performed by Garwood *et al.* found that reversible and irreversible hepatotoxicity was developed in 31% and 15% of patients, respectively. Forty percent of patients presented Child-Pugh B and their MELD score was 13 ± 4 (in our study it was 11.5 ± 5). The median survival time was 10.3 months (309 days) from the date of the first TACE, while in our sample the mean and the median were 420 and 266 days, respectively. Among the subjects not submitted to liver transplantation, the average survival was 8 months (240 days) [13]. These values were similar to those found in our study, in which only four patients (10.8% of the total sample) were submitted to liver transplantation after achieving tumor down-staging.

Since we had fourteen Child-Pugh B patients receiving both treatments, the first concern in our study was the survival rates. In a retrospective study on HCC treatment in Child-Pugh B patients, Piscaglia *et al.* have eva-

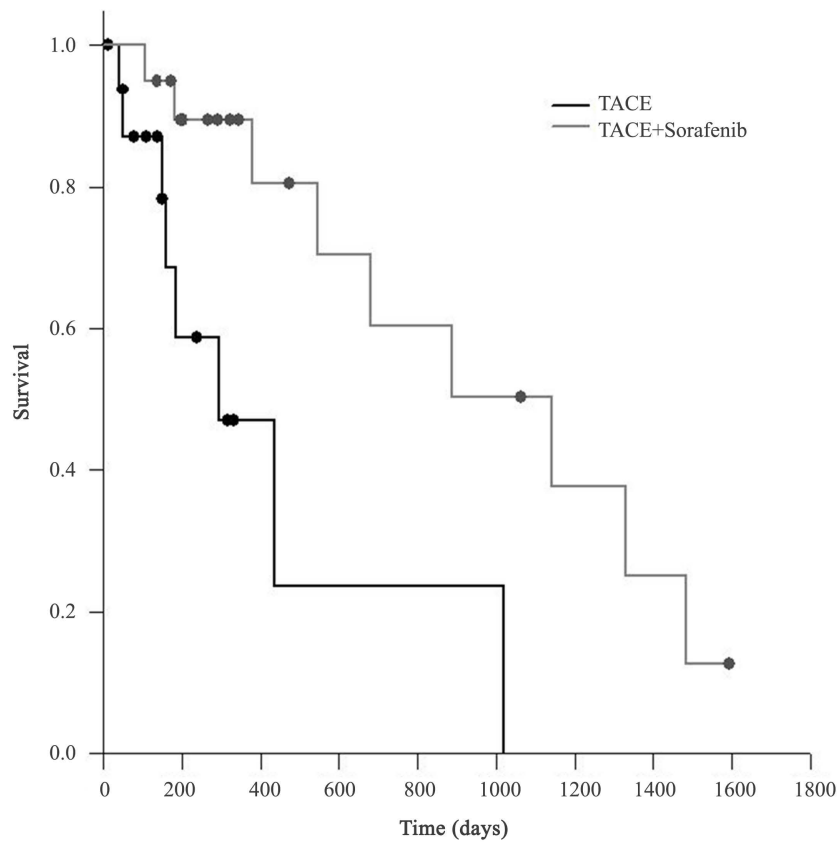


Figure 1. Survival time of the two study groups (log-rank test). TACE = transarterial chemoembolization. The group treated with TACE followed by sorafenib is represented in gray and the group treated only with TACE is shown in black. Kaplan-Meier survival was higher in the group that received the combined treatment ($p = 0.007$).

Table 3. Comparisons between the patients according to Child-Pugh classification.

	Age (years)	Child-Pugh (points)	MELD score	Number of tumors	Tumor size (mm)	AFP (ng/ml)	TACE sessions	Survival (days)	Current status
Mi (A)	46	5	4.21	1	8.00	3.28	1	40	9D
Q1 (A)	56	5	8.00	1	45.00	8.00	1	144	-
M (A)	60	5	9.19	2	50.00	79.08	1	196	4LF
Q3 (A)	67	6	10.61	2	66.00	571.50	2	454	-
Ma (A)	88	6	12.64	3	154.00	5845.00	4	1482	10A#
Mi (B)	30	7	9.65	1	29.00	6.81	1	12	8D
Q1 (B)	50	7	12.00	1	46.00	33.00	1	170	-
M (B)	52	8	14.41	1	52.50	108.54	1	319	2LF
Q3 (B)	61	8	17.22	1	59.50	1319.08	1	504	-
Ma (B)	65	9	31.89	3	73.00	39800.00	3	1594	4A#
p	0.011	<0.001*	<0.001*	0.700	0.975	0.287	0.216	0.627	0.381

AFP = alpha-fetoprotein; Child-Pugh = Child-Pugh classification; MELD = Model of end-stage liver disease; TACE = transarterial chemoembolization; Mi = minimum value; Q1 = first quartile; M = median; Q3 = third quartile; Ma = maximum value; A = Alive; D = Deceased; LF = loss of follow-up; (A) = data from Child-Pugh A patients; (B) = data from Child-Pugh B patients; # = including 2 patients in each Child-Pugh classification who achieved tumor down-staging and were submitted to liver transplantation; * = significant differences between Child-Pugh A and B groups. Age and MELD scores were compared using t test. The other variables were compared via the Mann-Whitney test.

luated 27 patients with intermediate stage tumors. The median survival was 8.0 months (9.0 in Child-Pugh B7 vs. 6.0 in Child-Pugh B8/B9). Respective survival times of patients with Child-Pugh B7 and B8 with intermediate stage tumors who underwent TACE were 22.0 and 6.0 months [14]. As our sample had 14 Child-Pugh B patients (two B9, six B8 and six B7), we had expected similar results.

There are few studies combining TACE and sorafenib that include Child-Pugh B patients to compare the results with our findings, because most of these trials comprised only Child-Pugh A patients. In the study of Sansonno *et al.* there was a longer time until disease progression in cirrhotic patients with hepatitis C and intermediate-stage HCC tumors treated with sorafenib starting 30 days after TACE [9]. Although in our sample most patients also presented hepatitis C-related cirrhosis, we had 40.54% of patients with Child-Pugh B whereas the trial of Sansonno *et al.* was limited to Child-Pugh A patients. Other differences are the mean alpha-fetoprotein in our sample (1925.86 ng/ml, which was more than 10 times higher than in this previous study), and the fact that most of our patients had more than one tumor; thus, the reasons for a lower survival rate were clear. However, since our patients had worse liver diseases, the question was whether they would receive less benefit from sorafenib use after TACE.

This concern increased when we found a recent trial that was apparently similar to our study in which Sieghart *et al.* included 12 Child-Pugh A and 3 Child-Pugh B patients receiving their first TACE session two weeks after initiating sorafenib usage. Two other TACE sessions were planned in monthly intervals. These patients had BCLC classification A/B/C = 1/9/5, indicating that although most of them have compensated cirrhosis, some patients already had advanced tumors. This study was prematurely stopped because of safety concerns. At 6 months, seven patients presented complete (two) or partial (five) responses, and one had stable disease. Median overall survival was 10.6 months (95% CI: 5.2 - 16 months) [15].

Compared to this latter survival rate, the better result obtained in our study (despite our bigger proportion of Child-Pugh B patients) cannot be explained only by the 5 advanced HCC cases included in this previous trial. In our opinion, the more aggressive design in the trial of Sieghart *et al.* could be the key issue. In our study, the patients had time to recover between TACE and the sorafenib introduction, and the decision of repeating TACE sessions was taken by the medical staff and the patients, allowing a more flexible schedule. In the study of Sieghart *et al.*, the first TACE session was performed two weeks after the patients had initiated the sorafenib treatment, and the subsequent sessions were planned to be carried out without interrupting the systemic treatment. Even so, other studies are needed to confirm our hypotheses.

7. Conclusion

In conclusion, our study suggests that the combined treatment with TACE and sorafenib is feasible in patients with intermediate HCC tumors. Furthermore, our data suggest that this treatment could be an option for Child-Pugh B patients on an interrupted schedule, in order to achieve survival rates similar to those of Child-Pugh A patients. This combination should be individualized and carefully planned; and it seems important to avoid the concomitant locoregional and systemic treatments in Child-Pugh B patients.

Acknowledgements

The authors wish to thank FAPESP (grant 2013/17361-6, São Paulo Research Foundation—FAPESP) and UNESP for supporting our research.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Disclaimer

Bayer gave unrestricted grant/funding support to publish it without influencing on the content or so.

Authors' Contributions

FGR designed the study, conducted the patients, obtained the data, performed the data analysis, drafted and corrected the final article. LYS organized all the patients' data, participated in the data analysis and drafted the ar-

ticle. MA and JRAM participated in the data analysis, drafted and corrected the final article. FSY, LCF, LP and TBL conducted the patients and obtained the data. FCC performed all the TACE procedures. GFS conducted the patients, participated in the data analysis, and drafted and corrected the article. All authors read and approved the final manuscript.

References

- [1] Gomaa, A.I., Khan, S.A., Tolledano, M.B., Waked, I. and Taylor-Robinson, S.D. (2008) Hepatocellular Carcinoma: Epidemiology, Risk Factors and Pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, **14**, 4300-4308. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.14.4300>
- [2] Lau, W.T. and Lai, E.C.H. (2008) Hepatocellular Carcinoma: Current Management and Recent Advances. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*, **7**, 237-257.
- [3] Ferlay, J., Shin, H.R., Bray, F., Forman, D., Mathers, C. and Parkin, D.M. (2010) Estimates of Worldwide Burden of Cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International Journal of Cancer*, **127**, 2893-2917. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.25516>
- [4] Bruix, J., Sherman, M., Llovet, J.M., Beaugrand, M., Lencioni, R., Burroughs, A.K., *et al.* (2001) Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma: Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *Journal of Hepatology*, **35**, 421-430. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278\(01\)00130-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278(01)00130-1)
- [5] Gomaa, A.I., Hashim, M.S. and Waked, I. (2014) Comparing Staging Systems for Predicting Prognosis and Survival in Patients with Hepatocellular Carcinoma in Egypt. *PLoS One*, **9**, e90929. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090929>
- [6] Bruix, J., Raoul, J.L., Sherman, M., Mazzaferro, V., Bolondi, L., Craxi, A., Galle, P.R., Santoro, A., Beaugrand, M., Sangiovanni, A., Porta, C., Gerken, G., Marrero, J.A., Nadel, A., Shan, M., Moscovici, M., Voliotis, D. and Llovet, J.M. (2012) Efficacy and Safety of Sorafenib in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Subanalyses of a Phase III Trial. *Journal of Hepatology*, **57**, 821-829. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2012.06.014>
- [7] Kudo, M. and Ueshima, K. (2010) Positioning of a Molecular-Targeted Agent, Sorafenib, in the Treatment Algorithm for Hepatocellular Carcinoma and Implication of Many Complete Remission Cases in Japan. *Oncology*, **78(S1)**, 154-166. <http://dx.doi.org/10.1159/000315245>
- [8] Radu, P., Groza, I., Iancu, C., Al Hajjar, N., Andreica, V. and Sparchez, Z. (2013) Treatment of Hepatocellular Carcinoma in a Tertiary Romanian Center. Deviations from BCLC Recommendations and Influence on Survival Rate. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, **22**, 291-297.
- [9] Sansonno, D., Lauletta, G., Russi, S., Conteduca, V., Sansonno, L. and Dammacco, F. (2012) Transarterial Chemoembolization Plus Sorafenib: A Sequential Therapeutic Scheme for HCV-Related Intermediate-Stage Hepatocellular Carcinoma: A Randomized Clinical Trial. *The Oncologist*, **17**, 359-366. <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.2011-0313>
- [10] Liapi, E. and Geschwind, J.F. (2012) Combination of Local Transcatheter Arterial Chemoembolization and Systemic Antiangiogenic Therapy for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Liver Cancer*, **1**, 201-215. <http://dx.doi.org/10.1159/000343835>
- [11] Weintraub, J.L. and Salem, R. (2013) Treatment of Hepatocellular Carcinoma Combining Sorafenib and Transarterial Locoregional Therapy: State of the Science. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, **24**, 1123-1134. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvir.2013.01.494>
- [12] Kim, H.Y. and Park, J.W. (2014) Clinical Trials of Combined Molecular Targeted Therapy and Locoregional Therapy in Hepatocellular Carcinoma: Past, Present, and Future. *Liver Cancer*, **3**, 9-17. <http://dx.doi.org/10.1159/000343854>
- [13] Garwood, E., Fidelman, N., Hoch, S.E., Kerlan Jr., R.K. and Yao, F.Y. (2013) Morbidity and Mortality Following Transarterial Liver Chemoembolization in Patients With Hepatocellular Carcinoma and Synthetic Hepatic Dysfunction. *Liver Transplantation*, **19**, 164-173. <http://dx.doi.org/10.1002/lt.23552>
- [14] Piscaglia, F., Terzi, E., Cucchetti, A., Trimarchi, C., Granito, A., Leoni, S., Marinelli, S., Pini, P. and Bolondi, L. (2013) Treatment of Hepatocellular Carcinoma in Child-Pugh B Patients. *Digestive and Liver Disease*, **45**, 852-858. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dld.2013.03.002>
- [15] Sieghart, W., Pinter, M., Reisinger, M., Müller, C., Ba-Ssalamah, A., Lammer, J. and Peck-Radosavljevic, M. (2012) Conventional Transarterial Chemoembolisation in Combination with Sorafenib for Patients with Hepatocellular Carcinoma: A Pilot Study. *European Radiology*, **22**, 1214-1223. <http://dx.doi.org/10.1007/s00330-011-2368-z>