

Basi scientifiche
per la definizione di *linee-guida*
in ambito clinico
per l'Epatocarcinoma

Giugno 2005

PREFAZIONE

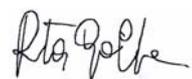
Nell'ambito dei Progetti Strategici di Oncologia, sponsorizzati e finanziati dal Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) e dal Ministero dell'Istruzione dell'Università e della Ricerca (MIUR), prosegue l'iniziativa delle "Basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per le diverse patologie oncologiche", avviata già nell'ambito dei Progetti Finalizzati CNR.

Questo volume dedicato all'Epatocarcinoma è firmato da numerosi specialisti dell'area di Medicina Interna, Gastroenterologia, Radiologia, Chirurgia ed Oncologia. Internisti e Gastroenterologi hanno storicamente un importante ruolo nella gestione dell'Epatocarcinoma, poiché questo tumore rappresenta di fatto la fase terminale dell'evoluzione di malattie epatiche infiammatorie su base virale, metabolica od alcolica. Negli ultimi 15 anni, in parallelo con lo sviluppo di tecniche ecoassistite di ablazione del tumore, è notevolmente cresciuto il peso dei Radiologi. La gestione clinica dell'Epatocarcinoma è evoluta seguendo concrete indicazioni, nate dalla migliore comprensione della storia naturale della malattia e lo sviluppo di trattamenti radicali del tumore, applicabili anche a pazienti con cirrosi.

Una conferenza monotematica tenutasi a Barcellona nel settembre 2000, che ha raccolto i maggiori esperti mondiali sull'argomento, ha consolidato le suddette indicazioni per la gestione del paziente affetto da questa malattia, gettando le basi per ulteriori sviluppi. Alcuni sviluppi nella diagnosi e trattamento dell'Epatocarcinoma sono già descritti in questo volume ed anticipano prossime modifiche che verranno apportate dalla Società Europea Studio Fegato (EASL) e dalla Associazione Americana Studio Fegato (AASLD) che si riuniranno in Conferenza a Barcellona nel giugno del corrente anno.

Coordinatori
della Iniziativa


Prof. Massimo Colombo


Prof.ssa Rita Golfieri

Coordinatore
Progetti Strategici Oncologia
CNR-MIUR


Prof.ssa Rosella Silvestrini

Basi scientifiche
per la definizione di *linee guida* in ambito clinico
per
l'Epatocarcinoma

Coordinatori

Massimo	COLOMBO , Milano
Rita	GOLFIERI , Bologna
Rosella	SILVESTRINI , Milano

Gruppo di Studio

Luigi	BOLONDI , Bologna
Ferruccio	BONINO , Milano
Nicola	CAPORASO , Napoli
Massimo	COLOMBO , Milano
Antonia	D'ERRICO , Bologna
Franco	FILIPPONI , Pisa
Massimo	GION , Venezia
Bruno	GRIDELLI , Palermo
Walter	GRIGIONI , Bologna
Carlo	LA VECCHIA , Milano
Riccardo	LENCIONI , Pisa
Massimo	LEVRERO , Roma
Tito	LIVRAGHI , Vimercate (MI)
Vito	LORUSSO , Bari
Andrea	LOVARIA , Milano
Mario	RIZZETTO , Torino
Plinio	ROSSI , Roma
Claudia	SAMA , Bologna
Franco	TREVISANI , Bologna

Gruppo di Consenso	Alfredo	ALBERTI , Padova
	Mario	ANGELICO , Roma
	Umberto	CILLO , Padova
	Gianpaolo	CORNALBA , Milano
	Aurora	COSTA , Milano
	Antonio	CRAXI , Palermo
	Bruno	DANIELE , Benevento
	Davide	FESTI , Bologna
	Giovanni	GANDINI , Torino
	Giuseppe	MAZZELLA , Bologna
	Francesco	PERRONE , Napoli
	Mario	STRAZZABOSCO , Bergamo

Si ringraziano le dott.sse **Paola Persici** e **Raffaella P. Ferrari** per l'importante contributo scientifico, editoriale ed organizzativo.

Questo volume sarà inserito nel sito www.progettooncologia.cnr.it, realizzato dai "Servizi Tecnologici" dell'Istituto di Informatica e Telematica del CNR (<http://www.iit.cnr.it/>), che già raccoglie i volumi precedenti di questa collana

INDICE

1.0	Epidemiologia e fattori di rischio	9
2.0	Patogenesi e basi genetiche	15
3.0	Prevenzione	23
4.0	Protocolli di sorveglianza	27
5.0	Diagnosi	35
5.1	Biomarcatori circolanti	
5.2	Tecniche d'immagine: ecografia	
5.3	Tecniche d'immagine: TC ed RM	
5.4	Biopsia epatica percutanea	
5.5	Diagnosi istologica e citologica	
5.6	Predittori istologici e molecolari	
6.0	L'algoritmo della diagnosi precoce	67
7.0	Stadiazione	73
8.0	Storia naturale	81
9.0	Terapia	93
9.1	Algoritmo terapeutico	
9.2	Terapia loco-regionale: RFA ed alcolizzazione Chemio-embolizzazione	
9.3	Terapia sistemica	
9.4	Terapia Chirurgica: Resezione Trapianto e criteri di selezione	
10.0	Direzioni future	135
11.0	Bibliografia	141

1.0 EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

I tumori maligni del fegato comprendono l'epatocarcinoma, la neoplasia di gran lunga più frequente, il colangiocarcinoma e l'angiosarcoma e rappresentano, a livello mondiale, una delle maggiori cause di morte per tumore.

Più del 70% degli oltre 350.000 nuovi casi per anno nel mondo si verificano nei Paesi in via di sviluppo, nei Paesi del Sud-Est Asiatico, nelle regioni del Pacifico occidentale, del Sahara e dell'Africa meridionale, con proporzioni, basate su dati autoptici, che arrivano fino al 30% della globalità dei tumori nelle aree a più alta incidenza (Parkin et al., 2001).

A fronte dell'elevata diffusione in queste aree, i tumori maligni del fegato sono relativamente rari in Europa (Levi et al., 2004). L'Italia occupa una posizione intermedia per tassi di incidenza e mortalità e l'epatocarcinoma rappresenta la settima causa di morte per tumore, con circa 5.000 decessi, ossia circa il 3% delle morti per tumore. Negli ultimi anni, la mortalità per tumore del fegato è moderatamente diminuita nel nostro Paese (La Vecchia et al., 2002), ma ha mostrato andamenti variabili nei diversi Paesi europei (La Vecchia et al., 2000; Levi et al., 2004). L'incidenza è stata invece in aumento negli Stati Uniti (McGlynn et al., 2001).

Ciò che rende particolarmente importante l'epidemiologia dell'epatocarcinoma primitivo non è soltanto la dimensione numerica del problema, quanto il fatto che esso è, dopo il tumore del polmone, notoriamente associato al tabacco, una delle neoplasie le cui cause sono meglio definite, perciò, almeno in linea teorica, più immediatamente prevenibili.

Le cause dell'epatocarcinoma primitivo

I virus dell'epatite

I virus dell'epatite B e C rappresentano la principale causa di epatocarcinoma. Vi è ormai una chiara evidenza su tale associazione, accumulatasi da studi di laboratorio su pazienti con patologia epatica cronica successivamente degenerata in senso neoplastico e da studi epidemiologici prospettici e retrospettivi condotti su popolazioni Africane, Malesi, Giapponesi nelle Hawaii (Nomura et al., 1982), Cinesi (Beasley et al., 1981), Giapponesi (Tsukuma et al., 1990), Europee

(Trichopoulos et al., 1980; La Vecchia et al, 1988) ed Americane (Tabor et al., 1992).

L'evidenza complessiva suggerisce un aumento di rischio di almeno un fattore dieci negli individui portatori di antigene di superficie del virus dell'epatite B. Ciò aveva portato ad attribuire al virus dell'epatite B fino all'80% degli epatocarcinomi primitivi nel mondo. Tuttavia, è interessante notare la distinzione fatta da Trichopoulos et al. (1978, 1987) nei più ampi e dettagliati studi pubblicati su popolazioni Europee. Il rischio di epatocarcinoma primitivo, ma non di lesioni epatiche secondarie, era aumentato di circa dieci volte negli individui positivi per l'antigene epatitico di superficie (HBsAg) o positivi per l'anticorpo anti-HBc, ma negativi per l'anti-HBs, ossia nei casi con infezione cronica attiva. Invece, non vi era apparente aumento di rischio in coloro che non mostravano segni di attività dell'infezione (ossia nei soggetti positivi per l'anti-HBsAg). Questi stessi dati avevano messo in evidenza una forte interazione tra virus dell'epatite B, elevato consumo di alcool e cirrosi, con un rischio relativo di oltre 50 nei soggetti sia portatori di virus che cirrotici. L'elevata incidenza (circa il 3% per anno) di epatocarcinoma in soggetti con cirrosi è stata documentata anche in un ampio studio prospettico italiano (Colombo et al., 1991).

Oltre all'epatite B, anche l'epatite C è fortemente associata al rischio di epatocarcinoma primitivo (Tabor et al., 1992; Zavitsanos et al., 1992), con stime del rischio relativo fino ad oltre un fattore 20, ossia analoghe a quelle dell'epatite B.

Due studi condotti in Italia (Simonetti et al., 1992; Stroffolini et al., 1992) hanno confermato una forte associazione col virus dell'epatite C (HCV): i soggetti portatori di HCV avevano rischi da 20 a 40 volte più elevati rispetto ai non portatori ed il rischio saliva ad oltre 70 volte nei portatori sia di HCV che di HBsAg (Stroffolini et al., 1992). La prevalenza dell'HCV e dell'HBsAg era analoga e ciò indica un importante ruolo dell'HCV nell'eziologia dell'epatocarcinoma nella popolazione italiana.

I risultati di una meta-analisi di 32 studi caso-controllo riportati in letteratura hanno mostrato un rischio relativo (RR) di 20 per i portatori dell'epatite B, di 24 per l'epatite C e di 135 per la co-presenza di entrambi i marcatori (Donato et al., 1998).

In uno studio greco, la co-presenza di marcatori di epatite B e C portava ad un RR di 46,2 (Kuper et al., 2000).

Aflatossina ed altri cancerogeni nella dieta

Nel mondo, il principale cancerogeno epatico contenuto nei cibi è l'aflatossina, un prodotto del metabolismo del fungo *Aspergillus flavus* che contamina i cibi (in genere le derrate di cereali immagazzinate in climi caldi ed umidi) in molti Paesi tropicali, in particolare nell'Africa Meridionale e nel Sud-Est Asiatico. Sperimentalmente, è tra i più potenti carcinogeni epatici conosciuti per alcune specie animali ed è verosimile che lo sia anche per l'uomo. Inoltre, l'incidenza di epatocarcinomi primitivi in alcune zone dell'Africa australe (dove questo tumore è particolarmente diffuso) è positivamente correlata con il contenuto di aflatossina nella dieta (Linsell et al., 1977). Meno chiari sono i risultati di studi ecologici di correlazione su popolazioni cinesi (Hsing et al., 1991).

Nei Paesi sviluppati, l'epatocarcinoma primitivo è molto più raro e, peraltro, la quantità trascurabile di aflatossina nella dieta non è che una delle possibili cause dei relativamente pochi casi che si verificano. Un studio condotto dalla *Food and Drug Administration* (FDA) in diverse aree degli Stati Uniti ha evidenziato solo un lieve aumento (6-10%) nell'incidenza di tumore epatico negli Stati del Sud-Est, con più elevati indici di contaminazione dei cibi da aflatossina, rispetto ad altri Stati del Nord ed Ovest, ed anche questo lieve aumento non può, ovviamente, venire con certezza associato all'aflatossina.

Uno studio caso-controllo condotto nel Nord Italia (La Vecchia et al., 1988), e basato su un ristretto numero di alimenti indicatori, aveva messo in evidenza una dieta carente in diversi aspetti, in particolare frutta e verdura, nei casi di epatocarcinoma primitivo rispetto al gruppo di controllo. Analoghi risultati sono emersi da più recenti studi condotti in Grecia (Kuper et al., 2000).

Alcool e tabacco

E' noto che un consumo di alcool sufficiente a causare cirrosi epatica, aumenta anche l'incidenza del cancro del fegato. Stime del rischio relativo di epatocarcinoma in relazione al consumo di alcool sono ricavabili da uno studio condotto in California (Yu et al., 1983) nel quale non si evidenziava alcun aumento di rischio nei moderati bevitori, ma il rischio relativo saliva a 4,2 nei bevitori di 80 o più grammi di alcool al giorno.

In un altro studio italiano (La Vecchia et al., 1988), il rischio relativo per il livello più elevato di alcool era di 1,6. Anche in studi condotti in Grecia (Trichopolus et al., 1982) e negli Stati Uniti (Yu et al., 1988) non

si è osservata associazione con un modesto consumo di alcool, ma il rischio era significativamente aumentato, soprattutto nei soggetti HBsAg negativi e forti bevitori. Infine, uno studio svedese (Adami et al., 1992) ha suggerito che l'associazione tra elevato consumo di alcool (alcoolismo) e neoplasia epatica sia sistematicamente mediata da cirrosi, come peraltro confermato anche in studi italiani (La Vecchia et al., 1998).

Il tabacco è associato al rischio di epatocarcinoma primitivo, con RR attorno a 1,5-2 per i forti fumatori, ed è quindi un'importante causa di neoplasie epatiche primitive a livello mondiale (Chen et al., 2003).

Contraccettivi orali

E' noto da studi condotti su un'ampia popolazione che i contraccettivi orali causano tumori benigni (adenomi) epatici, con un rischio relativo elevato di oltre 100 volte. D'altra parte, è noto che questa patologia è estremamente rara, tanto che nessun caso è stato registrato nelle oltre 17.000 donne nello studio prospettico sui contraccettivi orali dell'*Oxford-Family Planning Association*. Ne consegue che il rischio attribuibile nella popolazione è analogamente esiguo, se non trascurabile. Negli ultimi anni, si è accumulata una chiara evidenza che i contraccettivi orali sono associati anche ai tumori epatici maligni (WHO-IARC, 1999). Anche in questo caso, tuttavia, in considerazione dell'incidenza estremamente bassa di epatocarcinoma nelle giovani donne, le implicazioni a livello di sanità pubblica sono trascurabili.

Esposizioni ambientali e occupazionali

Studi condotti a Hiroshima e Nagasaki non hanno evidenziato associazioni tra dosi di radiazioni ricevute ed epatocarcinoma primitivo (Schreiber et al., 1970). Analogamente, vi è scarsa evidenza di possibili cause occupazionali di tumori maligni del fegato, a parte la nota associazione tra cloruro di vinile ed angiosarcoma epatico (Bosetti et al., 2003).

L'ipotesi che sostanze chimiche possano essere associate al rischio di epatocarcinoma è plausibile, soprattutto alla luce del fatto che il fegato è la sede più comune di origine di tumori in animali da esperimento cui vengano somministrati cancerogeni. Tuttavia, la sostanziale stabilità dei tassi dell'epatocarcinoma nei Paesi sviluppati, negli ultimi decenni ed il livellamento dei tassi di mortalità anche in Italia nei maschi sotto i 50 anni a partire dalla metà degli anni '60 appaiono contrari ad un ruolo

determinante delle numerose nuove sostanze chimiche sintetizzate ed utilizzate nello stesso periodo di tempo.

Conclusioni

L'epidemiologia dei carcinomi epatici primitivi è contraddistinta da un limitato numero di fattori, virus dell'epatite, aflatossina, alcool, per i quali l'associazione causale è chiaramente definita. Essi sono inoltre, almeno in linea di principio, largamente evitabili.

In particolare, gli effetti del virus dell'epatite B, responsabile di una parte dell'eccesso di carcinomi epatici in Italia rispetto ad altri Paesi sviluppati, sono prevenibili attraverso un'adeguata immunizzazione. E' molto importante un attento controllo ed una prevenzione dell'infezione da epatite C a livello di popolazione.

Nella realtà italiana, inoltre, appare quantomeno opportuna una riduzione dei danni epatici derivanti dall'assunzione di elevate dosi di alcool e dal fumo di sigarette.

Molto meno quantificabili sono i potenziali effetti di altri fattori, dalla dieta alle esposizioni occupazionali.

2.0 PATOGENESI E BASI GENETICHE

L'eterogeneità dei fattori etiologici rende conto della relativa complessità dei meccanismi molecolari dell'epatocarcinogenesi, se confrontati con il modello paradigmatico del polipo che si trasforma in carcinoma del colon-retto (Kinzler et al., 1996). Il processo di trasformazione neoplastica procede attraverso l'accumulo successivo di mutazioni a carico dei geni che governano la proliferazione e la morte cellulare programmata. Le alterazioni che portano alla trasformazione maligna possono essere ricapitolate in sei "caratteristiche" essenziali: la capacità di proliferare indipendentemente dalla presenza di fattori di crescita (attivazione di oncogeni); l'insensibilità ai segnali antiproliferativi (inattivazione di anti-oncogeni o "*tumor suppressor genes*"); la capacità di sfuggire ai segnali apoptotici; la capacità di divisioni cellulari illimitate; la neoangiogenesi e la potenzialità metastatica (Hanahan et al., 2000). L'acquisizione di queste caratteristiche, ciascuna capace di conferire alla cellula un "vantaggio" selettivo di crescita, procede sia attraverso vie meccanicisticamente diverse (lo stesso tratto fenotipico come risultato di varie alterazioni genetiche e funzionali) sia secondo sequenze cronologiche alternative e ciò non solo nei diversi tipi di neoplasie, ma anche all'interno dello stesso tipo tumorale.

La trasformazione neoplastica è nel complesso un processo inefficiente, in quanto contrastato costantemente da numerosi meccanismi che garantiscono il mantenimento dell'integrità del genoma, sia per quanto riguarda la corretta duplicazione del DNA (riconoscimento del "danno del DNA" ed enzimi di riparazione), che per quanto riguarda il controllo della distribuzione del contenuto cromosomico durante la mitosi. Molecole chiave agiscono come "guardiani" in momenti specifici del ciclo cellulare, definiti "*check-points*", ed attraverso la "certificazione" della qualità dei diversi processi determinano la progressione o meno della replicazione e della divisione cellulare. La perdita di questi sistemi di controllo dell'integrità genomica (prototipo la proteina p53) provoca "instabilità" genomica, la quale rappresenta la condizione permissiva fondamentale per la trasformazione cellulare in quanto favorisce l'acquisizione progressiva da parte delle cellule pre-neoplastiche di nuove mutazioni.

La maggior parte dei carcinomi epatocellulari insorge come complicanza tardiva di una cirrosi correlata alle infezioni croniche da virus epatitici

(Colombo et al., 2003). La cirrosi rappresenta di per sé un fattore di rischio indipendente per l'insorgenza dell'epatocarcinoma (EC). L'ipotesi più accreditata prevede un processo a più tappe, in cui epatociti maturi acquisiscono alterazioni genetiche successive in un microambiente epatico in cui il coesistere di necrosi, infiammazione e rigenerazione porta alla selezione di popolazioni monoclonali ed alla formazione di noduli displastici (Theise et al., 2002). I noduli con displasia di grado elevato rappresentano vere e proprie lesioni pre-neoplastiche che evolvono in EC con una frequenza del 30% in 1-5 anni (Borzio et al., 2003). L'acquisizione di un fenotipo maligno si accompagna alla neovascolarizzazione del nodulo con vasi neoformati di derivazione dai rami dell'arteria epatica. A questo stadio, i noduli di EC sono ben differenziati, presentano un alto indice di proliferazione, che prevale ormai nettamente nei confronti sull'apoptosi compensatoria (Park et al., 2001) e tendono a divenire meno differenziati e a presentare segni di invasione vascolare quando raggiungono le dimensioni di 1-1,5 cm (Nakashima et al., 2003). In circa il 40% degli EC la presenza di cellule poco differenziate che esprimono marcatori propri delle cellule progenitore epatiche (CK-7, CK-19, CD34) si associa ad una prognosi peggiore e ad una maggiore frequenza di recidive (Roskams et al., 2003). L'analisi morfologica delle lesioni pre-neoplastiche e della progressione tumorale favorisce l'ipotesi di un progressivo de-differenziamento di epatociti maturi piuttosto che un blocco differenziativo di precursori epatici (cellule progenitore residenti), come invece ben dimostrato in alcuni modelli di carcinogenesi sperimentale epatica (Sell et al., 2002).

Virus epatitici

Un aspetto fondamentale per la comprensione della patogenesi dell'EC è quello di definire se e come, oltre che attraverso l'induzione del danno epatico cronico immunomediato che porta allo sviluppo della cirrosi, i virus epatitici contribuiscano direttamente alla trasformazione neoplastica dell'epatocita (Wang, 2002; Block, 2003; Waris, 2003).

A lungo si è ipotizzato che il potenziale oncogenico di HBV fosse legato all'integrazione del DNA virale nel genoma delle cellule infettate con meccanismi analoghi ai retrovirus trasformanti. Anche se recentemente l'utilizzazione di nuove tecniche (Alu-PCR) ha permesso l'analisi di molte giunzioni tra DNA virale e cellulare e la dimostrazione del coinvolgimento di geni importanti per il controllo della crescita e del

differenziamento cellulare (recettore per i retinoidi, ciclina A, survivin, EGF, mevalonato kinasi, pompa per il calcio SERCA1, telomerasi, Mcm8) (Paterlini-Brechot et al., 2003), i fenomeni di mutagenesi inserzionale non rappresentano un meccanismo prevalente di trasformazione nel EC (Wang et al., 2002; Block et al., 2003).

D'altro canto le proteine HBx di HBV e *core*, NS3 e NS5a di HCV sono in grado di influenzare profondamente la biologia della cellula infettata attraverso la modulazione di *pathway* intracellulari di trasduzione di segnali proliferativi, antiproliferativi e metabolici (Block et al., 2003). La espressione di HBx e di HCV core nel fegato di topi transgenici si accompagna allo sviluppo di EC (Koike, 2002; Block et al., 2003).

HBx è una proteina a localizzazione prevalentemente citoplasmatica necessaria per la replicazione e l'infettività del virus in vivo. HBx attiva l'espressione di proto-oncogeni, quali c-myc, c-fos e c-jun e recettori per fattori di crescita, come l'EGF-R, coinvolti nel controllo della proliferazione e nella trasformazione cellulare (Waris et al., 2003). La capacità di attivare la trascrizione di geni controllati da sequenze regolatrici molto diverse è dovuta alla proprietà di HBx di attivare più di un fattore trascrizionale ed in particolare CREB (*cAMP Responsive Element Binding protein*), SRF (*Serum Response Factor*), NFkB (*Nuclear Factor kB*), AP1 (*Activating Protein 1*) e NF-AT (*Nuclear Factor of Activated T Cells*). I meccanismi attraverso cui HBx attiva questi fattori trascrizionali sono molteplici. L'attivazione di CREB è mediata da un'interazione diretta a livello nucleare che porta ad una aumentata affinità per il DNA bersaglio, mentre per AP1 il meccanismo è indiretto e legato all'attivazione nel citoplasma delle chinasi JNK e fosforilazione di c-jun. Nel caso di NFkB coesistono meccanismi "citoplasmatici" (quale la degradazione citoplasmatica dell'inibitore Ikb α sia attraverso la classica fosforilazione delle serine aminoterminali che attraverso la fosforilazione di residui tirosinici e "nucleari" (HBx interagisce con l'Ikb α neoformato impedendo la down-regolazione di NFkB dopo attivazione). Il risultato finale è una risposta NFkB prolungata nel tempo, con conseguente prolungata attivazione di geni proliferativi e anti-apoptotici. NFkB è attivato anche dalle proteine *core* e NS5a di HCV, a sottolineare la sinergia tra i due virus nel potenziarsi in rapporto alla trasformazione neoplastica del fegato. HBx è anche in grado di legare ed inattivare p53, probabilmente bloccandone l'entrata nel nucleo.

La sovraespressione di HBx induce proliferazione ma, successivamente, se non vengono aggiunti fattori di crescita favorevoli la sopravvivenza

(IGF-1, IGF-2), le cellule vanno incontro ad apoptosi. In altre parole, l'effetto proliferativo di HBx, quando non favorisce la sopravvivenza della cellula viene controbilanciato da una risposta omeostatica di tipo apoptotico (Chirillo et al., 1997). In effetti, mutanti HBx con ridotto potenziale pro-apoptotico, e dunque potenzialmente trasformanti sono stati dimostrati nel tessuto tumorale (Sirma et al., 1999). Livelli più bassi di HBx sono in grado di sensibilizzare la cellula a vari stimoli che inducono danno del DNA e apoptosi (radiazioni ionizzanti, i raggi UV, farmaci citostatici, sostanze chimiche come la staurosporina o la cicloeximide). Tutti questi stimoli hanno in comune la capacità di reclutare le funzioni apoptotiche della proteina p53 e/o della proteina p73, p53-correlata, mentre in cellule in cui p53 è inattivata o mutata prevalgono gli effetti proliferativi di HBx (Chirillo et al., 1997).

La proteina NS5A di HCV inibisce l'attività della PKR, una chinasi indotta dall'interferone, e rende le cellule resistenti all'apoptosi indotta da dsRNA esogeno. NS5a modula anche la trascrizione, la trasduzione di segnali mitogenici, il ciclo cellulare e l'apoptosi (Block et al., 2003).

La proteina *core* di HCV interferisce con il metabolismo lipidico e modula la trascrizione, la proliferazione cellulare e la morte cellulare programmata (Block et al., 2003). HCV *core* attiva NFκB e lega p53 di cui, in studi di tipo funzionale, è in grado sia di inibire che attivare le funzioni (Block et al., 2003). La proteina *core* attiva anche la via di segnalazione delle chinasi MAP (MAPKs o *mitogen activated protein kinases*) provocando un'attivazione prolungata nel tempo, dopo stimolazione con fattori di crescita, delle chinasi Erk1 ed Erk2, la cui funzione è soprattutto pro-proliferativa (Giambartolomei et al., 2001). Mentre nel caso dell'attivazione di NFκB il meccanismo di azione della proteina *core* non è chiaro, nel caso dell'attivazione delle MAPK è stato proposto che *core* agisca attraverso il legame con le proteine 14-3-3 e potenziando l'attività della chinasi Raf-1. Recentemente è stato dimostrato che l'espressione di HCV *core* si associa sia a stress ossidativo che a ER-stress, con conseguente mobilitazione di calcio, modificazioni del potenziale mitocondriale, attivazione di NFκB ed induzione di apoptosi (Waris et al., 2002; Block et al., 2003).

Patogenesi molecolare

L'assenza di una predisposizione ereditaria evidente per lo sviluppo di EC, quale quella presente nei carcinomi del colon-retto, della mammella e dell'ovaio, ha reso difficoltosa l'identificazione di geni chiave per lo

sviluppo del EC ed ha impedito la definizione di una gerarchia di eventi genetici coinvolti nei vari stadi della carcinogenesi epatica.

Il notevole progresso delle conoscenze e degli strumenti tecnologici nel campo della genetica molecolare e della citogenetica ha portato nella seconda metà degli anni '90 ad un notevole aumento delle informazioni disponibili circa le alterazioni genetiche presenti nell'EC. Gli studi di biologia molecolare, di analisi dei "microsatelliti" (ripetizioni di piccole sequenze polimorfiche – cioè possibilmente variabili da individuo ad individuo – di 2-6 nucleotidi sparse in tutto il genoma) mediante MSA (*PCR-based Microsatellite Marker Analysis*) e di citogenetica molecolare (CGH, *Comparative Genomic Hybridization*), hanno messo in evidenza un'ampia varietà di alterazioni cromosomiche, che vanno dai riarrangiamenti genomici legati all'integrazione dell'HBV-DNA, alla perdita di eterozigosi (perdita di un allele – LOH) in numerosi loci su un ampio numero di cromosomi, ad amplificazioni geniche (aumento del numero di alleli) (Buendia, 2002; Feitelson et al., 2002). Le alterazioni cromosomiche nell'EC comprendono perdite alleliche (LOH) a carico dei cromosomi 1p, 4q, 8p, 13q, 16q, 17p ed amplificazioni o aumenti del contenuto di DNA nelle regioni 1q, 8q e 17q. Una LOH in 1p è più frequente negli EC di piccole dimensioni e ben differenziati mentre le LOH in 16p e 17q sono più frequenti in tumori avanzati e metastatici. L'amplificazione della regione distale a 8q24 è in relazione alla sovraespressione del proto-oncogene c-myc. Nell'insieme numerosi geni oncosoppressori risultano inattivati da mutazioni o delezioni (p53, pRb, p16/INK4A, M6P/IGF2R, axina, E-caderina, BRCA2, PTEN/MAC) mentre è descritta l'attivazione oncogenica di β -catenina, ciclina D e ciclina A.

Per quanto riguarda p53, una LOH a carico di 17p13 è stata osservata in una percentuale variabile dal 2% al 60% dei casi, con una media a livello mondiale del 28%, ma con evidenti e marcate differenze geografiche (Staib et al., 2003). La mutazione più frequente, a carico del codone 249, è di fatto legata all'esposizione alla micotossina aflatoossina B1 (AFB1), di cui va considerata a tutti gli effetti un marcatore molecolare. Le mutazioni a carico di p53, evento tardivo nel processo a tappe multiple dello sviluppo dell'EC, sono più frequenti in tumori di dimensioni più grandi, ad alto "grading" o poco differenziati, con prognosi peggiore e con un intervallo libero da tumore minore. Recentemente sono state identificate una serie di proteine p53 correlate, denominate p73 e p63 (Levrero et al., 2000). Nel EC non vi sono mutazioni di p73 e diverse osservazioni indicano vi sia una prevalenza dell'espressione di isoforme

p73 dominanti negative (DN-p73 e DTA-p73) (anti-apoptotiche e pro-proliferative) capaci di bloccare le funzioni della p53 *wt* (Stiewe et al., 2004).

L'oncosoppressore pRb (proteina del retinoblastoma, p105) e le molecole che ne regolano la funzione (in particolare p16/INKA) sono inattivati in almeno il 50% dei EC (Feitelson et al., 2002). Le funzioni di pRb vengono inattivate nel EC con meccanismi molteplici, legati sia ad alterazioni genetiche (LOH del locus Rb nel 25-48%, perdita della risposta antiproliferativa al TGF- β nel 10% perdita di p16/INK4 nel 50% per mutazioni o più spesso per ipermetilazione del promotore) che ad alterazioni epigenetiche dell'espressione dei suoi diversi modulatori (sovraespressione di ciclina D1 e ciclina E, diminuzione dei livelli di p27, sovraespressione della ganchirina – un nuovo oncogene simile alla subunità p28 del proteasoma 26S, che induce la degradazione ubiquitina- e proteasoma-dipendente di pRb).

Un evento frequente nell'EC è la riattivazione inappropriata della *pathway* di segnalazione Wnt in seguito ad alterazioni a carico dell'oncogene β -catenina o degli oncosoppressori axina ed E-caderina, il cui risultato finale è l'accumulo nucleare di β -catenina con proliferazione non controllata (Buendia, 2002). La β -catenina è una proteina multifunzionale che interviene sia nell'adesione cellula-cellula, stabilizzando il legame delle caderine e dell' α -catenina all'actina del citoscheletro, che nella trasduzione del segnale della via Wingless/Wnt durante lo sviluppo embrionale. In assenza di segnalazione da parte di Wnt, β -catenina è fosforilata in specifici residui di serina e treonina N-terminali dal complesso multiproteico contenente l'axina, la chinasi (GSK)-3 β (*glycogen synthase kinase 3 β*) e la proteina APC (*adenomatous polyposis coli*) con conseguente degradazione ubiquitino-dipendente. L'attivazione della segnalazione attraverso i recettori Wnt inibisce l'attività della GSK-3 β ed induce la stabilizzazione della β -catenina che trasloca nel nucleo dove si associa con i fattori trascrizionali Tcf/LEF, attivando l'espressione di specifici geni bersaglio, tra i quali c-myc, ciclina D1, fibronectina e alcune metalloproteinasi. β -catenina presenta nel 18-41% degli EC mutazioni o microdelezioni nella cosiddetta “*destruction box*” (regione bersaglio di GSK3- β) che la rendono non fosforilabile o ubiquitinabile e quindi insensibile alla *down-regulation*. Il mancato riscontro di accumulo nucleare di β -catenina o di sue mutazioni nel tessuto peritumorale, nelle lesioni pre-neoplastiche, negli epatociti displastici e nei noduli cirrotici

tendono a indicare che la riattivazione della β -catenina è direttamente legata all'acquisizione del fenotipo trasformato. Mutazioni a carico dell'axina sono state riscontrate nei EC con accumulo nucleare di β -catenina in assenza di mutazioni nella β -catenina stessa. L'E-caderina è un recettore transmembrana Ca-dipendente coinvolto nell'adesione cellula-cellula a livello delle giunzioni-aderenti. La perdita di espressione di E-caderina, dovuta principalmente alla ipermetilazione del promotore, è anch'essa frequente negli EC soprattutto se HBV-correlati e ha come conseguenza la liberazione della β -catenina dalla sua localizzazione sotto-membranaria ed il suo accumulo citoplasmatico e nucleare.

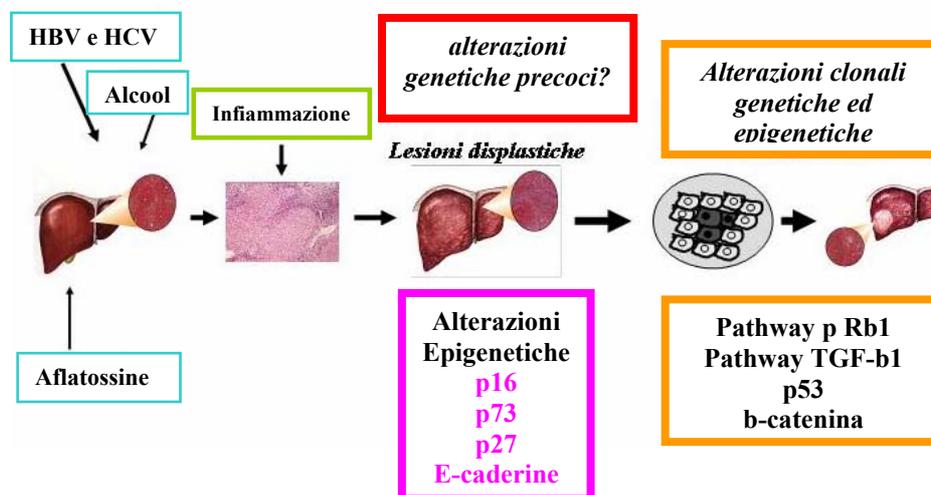
Dalla patogenesi alla diagnostica molecolare

L'analisi globale delle alterazioni genetiche descritte nel EC ha dimostrato che almeno quattro diverse vie (i.e. p53/p73 e arresto di crescita/apoptosi in risposta al danno del DNA; pRb e controllo del ciclo cellulare; TGF- β e inibizione della crescita/apoptosi cellulare; β -catenina e controllo della crescita e delle interazioni cellula-cellula) nella regolazione della crescita e della morte cellulare sono preferenzialmente alterate. Nonostante gli sforzi effettuati, non è stato tuttavia ancora possibile identificare con certezza alterazioni genetiche specifiche dei diversi stadi evolutivi del processo di trasformazione epatocitaria e, in particolare, le lesioni associate agli stadi preneoplastici e precoci. LOH in 1p (1p36-p34) e a carico del locus M6F/IGF2R e l'accorciamento dei telomeri sembrano essere eventi precoci che si accompagnano all'espressione di alcuni geni (SP70, Glypican 3) o set di geni (Paradis et al., 2003; Smith et al., 2003).

Nessuna delle alterazioni descritte è presente in una percentuale di casi che supera il 50-60%, a dimostrazione della sostanziale eterogeneità genetica degli EC a sua volta legata, verosimilmente, alla eterogeneità di fattori etiologici implicati. Una serie di studi suggerisce che le vie coinvolte nello sviluppo dell'EC possano essere diverse a seconda dei fattori di rischio. I casi HBV correlati, che si presentano più spesso con un fenotipo poco differenziato e con un pattern di crescita cellulare accelerato, si associano ad una maggiore instabilità cromosomica. I casi correlati all'infezione HCV sembrano presentare più spesso alterazioni della via beta-catenina associate a lesioni genetiche ed epigenetiche pleiomorfe (Laurent-Puig et al., 2001; Bruix et al., 2003). Lo studio dei profili globali di espressione mediante *microarrays* ha portato alla

identificazione di numerosi nuovi geni modulati nell'EC ed in particolare geni la cui espressione correla con la progressione tumorale (p16, SOCS1, PEG10), la disseminazione tumorale e la formazione di metastasi (nm23-H1, osteopontina, RhoC, KAI1, MMP14), la recidiva dopo trattamento radicale (REL, A20, vimentina, PDGFRA), senza però consentire l'identificazione univoca di "marcatori" utilizzabili per il momento nella pratica clinica (Kim et al., 2003).

Figura 1 Patogenesi molecolare dell'EC



La maggior parte degli EC insorge come complicanza tardiva di una malattia infiammatoria epatica cronica che è evoluta in cirrosi. L'analisi globale delle alterazioni genetiche presenti negli EC dimostra che almeno quattro diverse vie implicate nella regolazione della crescita e della morte cellulare (p53 ed arresto di crescita/apoptosi in risposta al danno del DNA; pRb e controllo del ciclo cellulare; *Transforming Growth Factor-β*, TGF-β ed inibizione della crescita/apoptosi cellulare; β-catenina e controllo della crescita e delle interazioni cellula-cellula) sono preferenzialmente alterate.

Ciascuna di queste vie regolatorie è coinvolta solo in una percentuale relativamente limitata di tumori epatici, a dimostrazione della sostanziale eterogeneità genetica degli EC legata a sua volta all'eterogeneità di fattori etiologici implicati (virus epatitici HBV ed HCV, alcool ed aflatossina B1). Le alterazioni genetiche cooperano, nel determinare gli eventi che portano alla trasformazione neoplastica degli epatociti, nei casi correlati alle infezioni da virus epatitici, con almeno due oncoproteine virali putative codificate dai virus epatitici HBV (la proteina HBx) ed HCV (la proteina core) e con alterazioni epigenetiche che intervengono già nelle fasi pre-neoplastiche

3.0 PREVENZIONE

La *prevenzione primaria* ha l'obiettivo di ridurre l'esposizione della popolazione ai fattori di rischio per EC, di prevenire le malattie epatiche che predispongono all'EC e di rallentare lo sviluppo delle malattie che causano EC mediante l'uso di farmaci, sostanze che modificano il metabolismo dei cancerogeni e manipolazione della dieta.

La *prevenzione secondaria* è diretta a ridurre il rischio delle recidive dell'EC nei pazienti sottoposti a cure radicali.

Basi scientifiche e razionali

La cirrosi epatica è la principale condizione predisponente all'epatocarcinoma (EC) (Fausto, 1991). L'infezione cronica da virus epatitici maggiori (HBV, HCV e HDV) costituisce la maggiore causa di cirrosi e quindi indirettamente anche di EC (Brechot et al., 1980; Hsu et al., 1988; Aufiro et al., 1990; Kekule et al., 1990; Oliveri et al., 1991; Paterlini et al., 1991; Oliveri et al., 1993; Moriya et al., 1998). Solo per l'infezione cronica da HBV esistono prove convincenti circa il determinismo del EC indipendentemente dalla presenza di cirrosi epatica (Brechot et al., 1980; Hsu et al., 1988; Aufiro et al., 1990; Kekule et al., 1990; Paterlini et al., 1991). Molteplici evidenze epidemiologiche, studi di biologia molecolare ed il modello animale della marmotta americana dimostrano un ruolo diretto dell'HBV nell'epatocarcinogenesi sia a livello di induzione che di promozione della neoplasia (Brechot et al., 1980; Hsu et al., 1988; Aufiro et al., 1990; Kekule et al., 1990; Paterlini et al., 1991). La sinergia tra i meccanismi oncogenetici dell'infezione cronica da HBV è esaltata nel paziente con cirrosi ed epatite cronica, dove al processo oncogenetico concorre anche la necroinfiammazione e la rigenerazione cronica sul fegato cirrotico (Fausto, 1991). L'effetto oncogenetico induttivo dell'HBV opera anche nei pazienti HBsAg negativi, ma anti-HBc e/o HBV-DNA positivi (Chiba et al., 1996; Kubo et al., 1999; Bréchet et al., 2001; Pollicino et al., 2004), in cui la necroinfiammazione epatica è sostenuta da altre cause, tra cui l'epatite cronica C è la più frequente (Chiba et al., 1996; Kubo et al., 1999). L'infezione cronica da HCV è anch'essa causa di EC, ma solo nel modello del topo transgenico (Moriya et al., 1998), mentre nell'uomo il meccanismo oncogenetico avviene pressochè esclusivamente attraverso la via della cirrosi epatica (Bonino et al., 1999). L'infezione cronica da

HDV è indissolubilmente legata all'infezione da HBV e ne condivide i fattori di rischio, aumentando il rischio di cirrosi ed EC nel portatore cronico di HBV (Oliveri et al., 1991; 1993).

La prevenzione primaria, fondata sulla trasmissione dell'epatite virale B e C, si realizza con lo *screening* dei donatori di sangue, l'uso di materiale pungente a gettare e sostanziali modifiche nello stile di vita sessuale.

In 154 nazioni è attivo un programma di vaccinazione dei nuovi nati contro l'epatite HBV. In Taiwan questo programma ha dimostrato di ridurre efficacemente la circolazione del virus nella popolazione infantile e di ridurre incidenza e mortalità per EC negli infanti (Chang et al., 1997). Questi interventi sono ancora limitati nelle nazioni a minore sviluppo socio-economico. Studi con farmaci che modificano l'effetto cancerogeno dell'aflatossina ingerita con gli alimenti stanno fornendo risultati incoraggianti, ma richiedono ulteriore sviluppo (Wang, 1989).

Il trattamento con interferone-alfa dei malati con epatite cronica virale, nell'intento di ritardare o evitare l'evoluzione cirrotica, è in grado di spegnere la lesione necroinfiammatoria, ridurre la fibrosi epatica e prevenire lo sviluppo di cirrosi e di EC (Cammà et al., 2001; Papatheodoridis et al., 2001). Nei malati con epatite cronica virale che hanno già sviluppato la cirrosi, il trattamento con interferone-alfa può ridurre l'attività necroinfiammatoria e lo stimolo proliferativo, ma solo in casi rari può far recedere il sovvertimento strutturale del fegato conseguente alla cirrosi.

Gli studi riportati in letteratura sono prevalentemente retrospettivi e non vi sono al momento studi prospettici che documentino in modo definitivo che tale trattamento riduca effettivamente l'incidenza di epatocarcinoma nei malati con cirrosi epatica. Gli studi più numerosi riguardano i malati con cirrosi trattati con interferone per l'epatite cronica C, ma i risultati sono tra loro discordanti. Ciò suggerisce l'ipotesi che l'interferone sia efficace nel ridurre il rischio di EC solo in un sottogruppo di pazienti. Tale ipotesi è confermata nei più ampi studi condotti sinora in 3295 pazienti Giapponesi con epatite cronica o cirrosi (Hagiwara et al., 1996) e su pazienti con cirrosi epatica compensata (Child-Pugh A) provenienti dalla nostra area geografica (Brunetto et al., 1998).

In conclusione, il trattamento con interferone-alfa può ridurre l'incidenza, o comunque ritardare lo sviluppo di EC nei malati cirrotici con epatite cronica C senza segni di pregressa esposizione all'HBV (anti-HBc e HBV-DNA negativi); in quelli con infezione da HBV (in

corso o pregressa) l'efficacia preventiva del trattamento con interferone appare legata non al semplice trattamento, ma alla risposta virologica sostenuta conseguente al trattamento.

Nonostante queste lusinghiere premesse occorre però verificare le ipotesi effettuando appropriati studi prospettici di coorte e studi clinici controllati.

I dati ad oggi disponibili indicano che nei pazienti che rispondono alla terapia e mantengono la risposta dopo sospensione del trattamento (risposta sostenuta) è possibile bloccare o ritardare significativamente l'evoluzione dell'epatite cronica verso la cirrosi. I livelli di prova che la stessa terapia è ancora in grado di bloccare l'evoluzione della cirrosi verso l'EC nei malati in cui l'epatite cronica è già evoluta in cirrosi sono più deboli (non ottenute da studi clinici o da revisioni sistematiche di studi randomizzati). Tuttavia i risultati indicativi di un impatto favorevole significativo provengono da molti studi retrospettivi. Mancano invece i livelli di prova che gli antivirali non interferonici (antivirali analoghi dei nucleosidi o nucleotidi) siano in grado di produrre effetti simili all'interferone in quanto sono ancora insufficienti le evidenze di studi a lungo termine nei pazienti trattati. Il trattamento a lungo termine con l'analogo nucleosidico lamivudina si è dimostrato capace di ridurre del 50% il rischio EC in pazienti asiatici con epatite cronica B, nell'arco medio di 32 mesi (Liaw et al 2004). In uno studio multicentrico italiano, la lamivudina era stata capace di prevenire/ritardare l'insorgenza di EC solo nel sottogruppo di pazienti che mantenevano risposte virologiche sostenute e non nel gruppo dei pazienti che sviluppavano resistenza farmacologica (Di Marco et al 2004). Esiste quindi una sostanziale incertezza a favore o contro per questa raccomandazione.

Prevenzione Secondaria. Il trattamento dell'EC mediante trapianto di fegato presenta una sostanziale capacità curativa e ha un'elevata forza di raccomandazione con il minor rischio di recidiva oggi possibile. La resezione segmentaria del fegato attuata secondo i criteri di Milano (vedi capitolo 9.4) è supportata da studi clinici prospettici con livelli di prova convincenti di tipo I, ma il livello di raccomandazione rimane di un grado inferiore a quella del trapianto, in quanto la resezione va attentamente considerata in accordo alle indicazioni della linee guida suggerite nel capitolo specifico. L'ablazione di porzioni, anche rilevanti, di parenchima epatico non elimina infatti il substrato cancerogeno del fegato, che già ha generato il tumore ed anzi lo sottopone ad un nuovo potente stimolo rigenerativo a rischio di precipitare nuove lesioni nel

parenchima epatico residuo. Le ablazioni del nodo neoplastico di tipo meno invasivo della resezione (termoablazione, alcolizzazione, etc.) riducono il rischio suddetto, ma hanno anche un livello più basso di potenzialità di ablazione radicale come dimostrano le verifiche anatomopatologiche di efficacia ablativa nei fegati espianati a malati trattati in precedenza con queste procedure e successivamente sottoposti a trapianto di fegato. Per tale raccomandazione esiste una sostanziale incertezza che dipende, a nostro parere, soprattutto dalla competenza ed esperienza dell'operatore. Per quanto riguarda il trattamento chemioterapico adiuvante preventivo della recidiva di EC, l'unica terapia che pare promettente è ancora la terapia con interferone-alfa, anche se esiste una consistente incertezza sulla raccomandazione. L'esecuzione di ogni altra terapia (chemioterapia di vario tipo) non è raccomandabile, in quanto mancano le prove ottenute da studi o basate sull'opinione di esperti autorevoli o di comitati di esperti come indicato in *Linee Guida o Consensus Conference*. Inoltre, l'esecuzione di procedure o terapie potenzialmente tossiche per il parenchima epatico residuo è fortemente sconsigliata.

Nel soggetto con EC e cirrosi la sopravvivenza spontanea e quella dopo trattamento sono condizionate non solo dalle caratteristiche della neoplasia (biologia del tumore, estensione, interessamento vascolare, presenza di metastasi), ma anche da quelle della cirrosi: eziologia, persistenza di attività di malattia, entità della riserva funzionale residua, entità dell'ipertensione portale. Pertanto, nell'impostazione delle scelte terapeutiche, e conseguentemente dell'iter diagnostico propedeutico, occorre tenere presente che la valutazione di tutti i fattori prognostici va calibrata a livello del singolo paziente. Tale capacità fa parte del repertorio esclusivo degli operatori più esperti ed è acquisibile solo con anni di pratica medica.

4.0 PROTOCOLLI DI SORVEGLIANZA

Lo stadio della neoplasia condiziona la scelta dell'approccio terapeutico, rendendo la diagnosi precoce un obiettivo di primaria importanza. La sorveglianza, intesa come ripetizione periodica di un test di *screening* è volta ad identificare una malattia in fase precoce e curabile ed a ridurre la mortalità per tale patologia. La diagnosi precoce dell'EC è l'approccio più concreto per ridurre la mortalità per questo tumore.

L'EC presenta le caratteristiche necessarie affinché la sorveglianza raggiunga il suo scopo: sono note le categorie a rischio (cirrotici); sono disponibili metodi diagnostici a basso costo, non invasivi e largamente diffusi (ecografia e dosaggio dell'alfa-fetoproteina, AFP), esistono trattamenti potenzialmente curativi (alcolizzazione e termoablazione percutanea, resezione chirurgica, trapianto di fegato) (Collier et al., 1998; Bruix et al., 2001). Rimane aperto il dibattito sull'efficacia e sul rapporto costo/beneficio (Gebo et al., 2002). La sorveglianza, ormai divulgata in molti Centri, non è infatti validata da studi prospettici randomizzati che confrontino il destino dei pazienti sottoposti a sorveglianza con i controlli rappresentati da pazienti con tumori incidenti. D'altra parte, le stesse premesse e l'ampia diffusione dell'ecografia rendono uno studio così concepito anacronistico e non etico. Da una recente inchiesta tra i membri dell'Associazione Americana Studio Fegato (AASLD) emerge che l'84% degli epatologi intervistati applica un programma di sorveglianza dei cirrotici che prevede l'ecografia nel 93% dei casi ed il dosaggio dell'AFP nel 99,7%. I medici avevano la convinzione che la sorveglianza fosse efficace e presentasse un buon rapporto costo/beneficio, ma temevano anche di essere accusati di *malpractice* qualora la sorveglianza non fosse istituita (Chalasan et al., 1999).

Popolazione bersaglio

La corretta individuazione della popolazione da sottoporre a sorveglianza richiede un'esauriente conoscenza dei fattori di rischio per lo sviluppo dell'EC. Secondo le conoscenze attuali, andrebbero sottoposti a sorveglianza i soggetti affetti da cirrosi epatica, indipendentemente dall'eziologia. Poiché lo scopo della diagnosi precoce è potenziare la cura della malattia, la sorveglianza non dovrebbe essere intrapresa in presenza di condizioni che controindicano il

trattamento o condizionano di per sé la prognosi del paziente, per esempio un'importante insufficienza epatica.

La sorveglianza dei pazienti con epatite cronica virale senza cirrosi è discutibile a causa della minor incidenza di EC (El Serag et al., 2002). Va tuttavia considerato che l'epatite cronica e la cirrosi sono due stadi della medesima patologia, spesso difficilmente distinguibili anche con esame agobiottico del fegato.

Un'interessante prospettiva riguarda l'individuazione di soggetti cirrotici che hanno un particolare rischio di sviluppare EC: ciò permetterebbe di diversificare i programmi di sorveglianza in base al livello di rischio, migliorando il rapporto costo/beneficio.

Secondo alcuni (Tsukuma et al., 1993; Solmi et al., 1996), i portatori di infezione cronica B (HBsAg+) presentano un rischio maggiore di sviluppare EC con forme infiltranti. Altri studi, al contrario, rilevano una maggior incidenza di EC tra i pazienti portatori di HCV. In particolare Velazquez et al. (2003) hanno proposto un modello per individuare pazienti di età compresa tra 18 e 65 anni in cui l'elevato rischio dipende da HCV, bassa protrombina, bassa conta piastrinica ed età avanzata. La maggior incidenza di EC in età avanzata e nei pazienti con maggior compromissione della funzionalità epatica potrebbe, tuttavia, essere espressione di una più lunga esposizione ai fattori predisponenti (Bolondi et al., 1990).

Sesso ed AFP potrebbero essere discriminanti di rischio di EC da utilizzare per selezionare la popolazione bersaglio, ma questa strategia non appare valida in termini di costo/efficacia (Bolondi et al., 1990; Tsukuma et al., 1993; Zoli et al., 1996; Bolondi et al., 2001; El Serag et al., 2002).

Altrettanto dicasi per gli indici istologici, quali il grado di fibrosi e l'entità della steatosi ed ancor di più la ricerca di markers tissutali di proliferazione epatocitaria (PCNA – *proliferating cell nuclear antigen*, quantità di AgNOR epatocitari, ipertrofia nucleolare). Questi indici, infatti, possono essere ottenuti solo tramite biopsia, tecnica invasiva la cui indicazione al solo fine di sorveglianza appare discutibile. Inoltre, la ricaduta pratica di questa selezione potrebbe essere ininfluenza poiché l'applicazione di diversi intervalli di sorveglianza in base ai suddetti fattori di rischio non è proponibile, gli intervalli di sorveglianza sono scelti sulla base della velocità di crescita del tumore e non sul livello di rischio di sviluppare tumori.

Non è noto l'impatto della sorveglianza su altre condizioni correlate allo sviluppo di EC, in particolare la steatoepatite non alcolica (Marrero et al., 2002).

Test di screening

Un buon test di *screening*, non solo deve essere sensibile e specifico ma anche semplice, ampiamente diffuso, poco costoso, non invasivo ed accettabile da parte della popolazione. Il dosaggio dell'AFP e l'ecografia soddisfano gran parte di questi requisiti, ma, la loro accuratezza diagnostica è ancora dibattuta.

Marcatore sierici. Il *cut-off* di 20 ng/ml per l'AFP presenta una bassa sensibilità per la diagnosi di EC (<50%) (Bolondi et al., 2001; Caturelli et al., 2002). Valori superiori a 200 ng/ml, benché fortemente suggestivi per EC, sono riscontrabili solo nel 25% dei casi di EC e solo eccezionalmente nei casi diagnosticati precocemente. Pertanto, il solo dosaggio di AFP non dovrebbe essere utilizzato nello *screening* dei pazienti con epatopatia cronica, mentre può essere utile nello *screening* di popolazioni ad elevata endemia di infezioni da virus epatitici.

Altri markers proposti come test di *screening* non sono entrati nella pratica clinica; tra questi, citiamo la proteina MAGE-4, la des-gamma-carbossi-protrombina ed, in particolare, il recettore per IL2 per il quale è stata riportata una sensibilità prossima al 99%.

Tecniche d'immagine. La mole di studi volti a definire sensibilità e specificità delle tecniche d'immagine nella diagnosi di EC è enorme, ma spesso di scarsa qualità per il disegno retrospettivo e la presenza di fattori di confondimento. Soprattutto, la mancanza di un *gold standard* definito nella diagnosi rende pressoché impossibile valutare l'accuratezza dei test (Gebo et al., 2002).

Studi recenti hanno utilizzato come *gold standard* l'analisi di fegati espantati ottenendo dati discordanti. I primi lavori hanno portato a conclusioni assai deludenti sulla sensibilità di ecografia, TC e risonanza magnetica (RM), che appariva compresa tra il 53% ed il 65% (Miller et al., 1994; Gambarin-Gelwan et al., 2000; Teefey et al., 2003). Va tuttavia considerato che le tecniche d'immagine non erano effettuate in concomitanza con il trapianto, bensì nei 6 mesi precedenti. Più recentemente, un lavoro di Yao et al. (2001) ha riportato una sensibilità del 79,4%, 81,6% e 88,9% rispettivamente per ecografia, TC ed RM. Tali dati riflettono probabilmente un avanzamento delle tecniche

d'immagine, che tuttavia mostrano ancora bassa sensibilità (42,9%) nel diagnosticare piccoli noduli satelliti.

Sebbene da tali studi la sensibilità e specificità delle tecniche d'immagine sembrino ancora lontane dall'ottimale, non vi sono dati che supportino l'abbandono dell'ecografia per altre tecniche diagnostiche. In particolare, la TC sembra dotata di maggior accuratezza, ma non è stato valutato se al suo costo aggiuntivo corrisponda un miglior rapporto costo/beneficio. Altre tecniche meritevoli di considerazione sono l'ecografia con *imaging* armonico (Gaiani et al., 2002) e l'angio-RM (Burrel et al., 2003) che sembrano utili rispettivamente per la caratterizzazione dei noduli riscontrati ecograficamente e per la stadiazione.

Va infine sottolineato che l'accuratezza delle tecniche d'immagine, ed in particolare dell'ecografia, dipende in larga misura dall'esperienza dell'operatore e dal suo *background* culturale, il che suggerisce di svolgere i programmi di sorveglianza in centri di riferimento.

Protocolli di sorveglianza e conferma diagnostica

La frequenza con cui sottoporre i pazienti ai test diagnostici ha un forte impatto sul rapporto costo/beneficio del programma di sorveglianza. Sulla base degli studi sul tempo di raddoppiamento dell'EC, si è diffusa la politica dello *screening* semestrale, ma sono stati proposti anche intervalli di 4 o 12 mesi. Esiste un solo studio prospettico sulla resa di un programma di sorveglianza per EC confrontando intervalli di 6 verso 12 mesi (Santagostino et al., 2003). Lo studio condotto in pazienti emofilici portatori di infezione cronica C non ha dimostrato sostanziali differenze di resa dei programmi nelle popolazioni a diverso intervallo di *screening*. Questo dato, tuttavia, non è traslabile ai pazienti con cirrosi compensata. Uno studio retrospettivo (Trevisani et al., 2002) ha confrontato protocolli di *screening* a cadenza semestrale ed annuale senza evidenziare differenze significative nell'impatto sulla sopravvivenza. Tuttavia, nel primo gruppo gli EC erano di volume inferiore a quelli del secondo gruppo.

L'altro punto cruciale per valutare l'efficacia dei protocolli di sorveglianza riguarda l'algoritmo di conferma diagnostica che segue al riscontro ecografico di un nodulo epatico su cirrosi in corso di *screening* (vedi capitolo 6).

Efficacia e rapporto costo/beneficio

La disponibilità di validi trattamenti rappresenta il prerequisito fondamentale affinché la sorveglianza raggiunga il suo scopo primario, ovvero la riduzione della mortalità. La resezione chirurgica, il trapianto di fegato e le tecniche di ablazione percutanea sono trattamenti potenzialmente curativi in pazienti correttamente selezionati (Bruix et al., 2001). Siccome la diagnosi precoce condiziona l'accesso ai trattamenti più efficaci, lo stadio dell'EC alla diagnosi e l'eleggibilità dei pazienti alle procedure terapeutiche possono rappresentare indici dell'efficacia della sorveglianza. Questo aspetto è stato analizzato solo in pochi studi caso-controllo e con modelli di *decision analysis* (Markov). Particolarmente problematica è l'individuazione di un corretto gruppo di controllo che varia, a seconda degli studi, da pazienti sintomatici ad EC diagnosticati al di fuori di predefiniti programmi di sorveglianza a soggetti asintomatici.

Stadio dell'EC alla diagnosi. E' universalmente accettato che i programmi di sorveglianza permettono di diagnosticare un maggior numero di EC unifocali di piccole dimensioni.

Confrontando pazienti sottoposti a *screening* con soggetti non arruolati in programmi di sorveglianza, gli EC unifocali rappresentano rispettivamente l'80,4% ed il 52,9% delle nuove diagnosi (Bolondi et al., 2001), ed in particolare il tasso di noduli singoli <3 cm è rispettivamente di 75-75,8% e 15-37,5% nei due gruppi (Solmi et al., 1996, Trevisani et al., 2002). Va tuttavia sottolineato che la monofocalità all'ecografia può non essere confermata dalle successive tecniche di immagine. Inoltre, dall'analisi dei fegati espantati risulta una grossa quota di noduli satelliti rimasti non diagnosticati nel pretrapianto.

Eleggibilità per i trattamenti. I dati sulle possibilità terapeutiche offerte dalla diagnosi in corso di sorveglianza sono discordanti, anche a causa della variabilità dei criteri di selezione per i trattamenti nei diversi centri. Ne è esempio la variabilità riportata nel tasso dei pazienti avviati alla resezione chirurgica, compresi tra il 14% e l'82,5% (Oka et al., 1990; Colombo et al., 1991). Dal lavoro di Zoli et al. (1996) risulta che il 58% degli EC diagnosticati in corso di *screening* vengono trattati (Tabella 1).

Tabella 1 Eleggibilità per trattamenti di elezione percutanea o chirurgica

Autori	N. pazienti in sorveglianza	Eleggibilità nel gruppo sorveglianza	Eleggibilità nel gruppo di controllo
Oka et al. 1990	140	82.5 %	
Cottone et al. 1994	147	33.3 %	
Zoli et al. 1996	164	58.0 %	
Yuen et al. 2000	306	73.9 %	40.8 %
Bolondi et al. 2001	313	69.0 %	59.0 %

Un quesito di particolare interesse è se lo *screening* aumenti la quota di pazienti candidabili a trapianto di fegato. Nello studio di Bolondi, la quota di soggetti suscettibile di trattamenti radicali era significativamente superiore nei pazienti sottoposti a *screening* rispetto al gruppo di controllo (47,5 vs 31,7%, $p < 0.01$) ed in particolare vi era un aumento dei pazienti inseriti in lista d'attesa (26 vs 13%, $p < 0.01$). Tuttavia, la crescita tumorale durante il tempo di attesa ha fatto sì che solo 6 pazienti su 11 abbiano effettivamente beneficiato del trapianto.

Sopravvivenza. Esiste un solo studio randomizzato e controllato che dimostra significativa riduzione (77%) della mortalità nei pazienti con EC identificato durante sorveglianza rispetto ai pazienti con tumore incidente (Yang et al., 1997). In Occidente, non sembra riproponibile un simile studio controllato, sia per ragioni etiche che pratiche, in quanto pochi pazienti accetterebbero di essere lasciati senza controlli ecografici dell'addome. In Italia disponiamo di dati originati dalla analisi retrospettiva di pazienti in sorveglianza e confrontati con pazienti con EC incidente. Uno studio di Bolondi et al. (2001) attribuisce alla sorveglianza la capacità di ridurre la mortalità epatospecifica solo del 13% in 3 anni. Poiché, però, lo studio si snoda lungo un arco di molti anni, esso non valuta appropriatamente il rischio di aver erogato trattamenti di diversa efficacia in diverse epoche ed in modo difforme tra pazienti e controlli. Lo studio non valuta neppure se la sopravvivenza dei pazienti in sorveglianza è stata o no surrettiziamente allungata dall'anticipata diagnosi di tumore, cioè dalla diagnosi precoce (*lead-time bias*). Uno studio a Milano basato sulla revisione di 112 pazienti con EC originati da una coorte di 447 pazienti con cirrosi compensata in sorveglianza a partire dal 1986, ha permesso di valutare

appropriatamente il ruolo dei più recenti approcci di diagnosi, stadiazione e trattamento dell'EC. Lo studio ha infatti dimostrato significative differenze di sopravvivenza in rapporto con l'epoca di studio, eliminando il rischio di *lead-time bias*: la mortalità era più elevata (45%) nei pazienti con EC identificati nel primo quinquennio 1986-1996, rispetto al 10% osservato nell'ultimo quinquennio di sorveglianza (1997-2001) (Sangiovanni et al., 2004). L'incremento di sopravvivenza dipende dalla riduzione di mortalità da 34% a 5% osservata nei pazienti sottoposti a trattamento radicale che appare frutto di una più accurata stadiazione del tumore, favorita dall'introduzione della TC spirale trifasica, dalla adozione di consolidati criteri di selezione dei pazienti da sottoporre a trapianto ortotopico di fegato, resezione chirurgica o ablazione loco-regionale, nonché da un concreto miglioramento nel trattamento delle complicanze dell'ipertensione portale.

Secondo il modello di *decision analysis* di Sarasin (Sarasin et al., 1996), il guadagno di sopravvivenza nei cirrotici sottoposti a sorveglianza è insignificante (<3 mesi); va tuttavia sottolineato che in tale studio non viene presa in considerazione l'opzione del trapianto di fegato, che invece sembra contribuire in modo importante al guadagno di sopravvivenza in altri studi (Bolondi et al., 2001).

Rapporto costo/beneficio. I costi relativi alla diagnosi ed al trattamento dell'EC nel contesto di un programma di sorveglianza vengono stimati attorno a 48.000-284.000 dollari per ogni anno di vita guadagnato (Sarasin et al., 1996). Se si considera il trapianto come opzione terapeutica (Everson et al., 2000), i costi sono stati valutati attorno a 285.294 dollari per caso "curato"; supponendo una probabilità di sopravvivenza con buona qualità di vita del 75-85% a 10 anni (una previsione ottimistica per i portatori di HCV), il costo per ogni anno di vita guadagnato risulta pari a 35.000-45.000 dollari, solo lievemente superiore a quanto stimato nel contesto dello *screening* per carcinoma della mammella. Il costo reale per anno di vita guadagnato analizzato nella nostra casistica (Bolondi et al., 2001) è invece risultato 112.993 dollari, nettamente superiore a quello dello *screening* per cancro della mammella.

Da questi dati, risulta che ciascun Paese dovrebbe valutare l'adozione di un programma di sorveglianza per EC sulla base della prevalenza e dell'impatto socio-economico di tale patologia sul suo territorio.

Conclusioni

La sorveglianza dei pazienti cirrotici con ecografia e dosaggio dell'AFP è ormai una consolidata pratica clinica, anche se mancano studi pienamente conclusivi sulla sua efficacia. Dalla letteratura si evince che lo *screening* incrementa la diagnosi precoce dell'EC, aumentando la possibilità di effettuare trattamenti potenzialmente curativi. Negli USA l'aumento della percentuale di pazienti candidabili a trapianto di fegato impatta sui nuovi sistemi di allocazione degli organi espianati che attribuiscono una priorità ai portatori di EC (Freeman et al., 2002).

5.0 DIAGNOSI

5.1 Biomarcatori circolanti

Alfa-fetoproteina

L'EC rappresenta una delle prime neoplasie umane nella quale sia stato identificato un biomarcatore, l'alfa-fetoproteina (AFP).

Analogamente a molti biomarcatori, l'AFP non è tumore-specifica, ma viene prodotta e rilasciata dal tessuto epatico in condizioni fisiologiche ed in presenza di affezioni diverse. L'AFP può essere occasionalmente prodotta in quantità significative anche da organi o tessuti differenti dal fegato (Tomasi, 1977; Nunez, 1994; Mizejewski, 2003). Pertanto, l'AFP non ha caratteristiche di sensibilità e specificità adeguate per essere un test affidabile di prima linea per lo *screening* dell'EC nella popolazione generale, ma presenta maggiore utilità nello *screening* di popolazioni ad alto rischio o pazienti con cirrosi e pertanto ad elevato rischio di EC.

Tuttavia, l'AFP è il marcatore più estensivamente utilizzato nella diagnosi e monitoraggio dell'EC, anche se i livelli di questo marcatore possono essere normali nel 40% dei pazienti con EC, in particolare negli stadi iniziali. Per contro, livelli elevati di AFP si possono rilevare in pazienti con cirrosi o epatite cronica. Studi prospettici finalizzati a valutare le *performance* diagnostiche dell'AFP per il monitoraggio dell'EC riportano una sensibilità variabile fra il 39% e il 64%, una specificità compresa fra il 76% e il 91% ed un valore predittivo positivo compreso fra il 9% e il 32%. La combinazione di AFP ed ecografia addominale aumenta la specificità. Questi esami sono quindi il principale approccio per la diagnosi e per lo *screening*, in quanto sono convenienti, non invasivi e di facile interpretazione.

Le linee guida disponibili

Le raccomandazioni relative all'uso dell'AFP per lo *screening* e la diagnosi dell'EC sono generalmente previste in linee guida più generali sulle malattie epatiche. Due esempi di linee guida mostrano la relativa genericità delle raccomandazioni, dovuta soprattutto al livello ancora non ottimale della evidenza disponibile.

Nel 2001, l'*American Association for the Study of Liver Disease* e la *National Academy of Clinical Biochemistry* hanno prodotto le "*Laboratory guidelines for screening, diagnosis and monitoring of*

hepatic injury”, che, relativamente all’EC, presentano le seguenti raccomandazioni:

1. lo *screening* dell’EC è di dubbio beneficio nei paesi occidentali (livello di evidenza II);
2. lo *screening* dovrebbe essere limitato ai casi ad alto rischio (pazienti con epatite cronica severa dovuta a alcool, HBV, HCV o emocromatosi) (livello di evidenza III);
3. se si intende eseguire lo *screening*, l’AFP e l’ecografia epatica devono essere eseguite ad intervalli non inferiori a tre mesi (livello di evidenza II);
4. non sono disponibili dati sufficienti a raccomandare altri test (livello di evidenza III). Nel 2001 la *European Association Study of the Liver* (EASL) pubblica le linee guida operative per lo *screening* e sorveglianza raccomandando l’esecuzione di AFP ed ecografia dell’addome ad intervalli di 6 mesi nei pazienti con cirrosi e nei portatori di epatite B. Non è chiaro se *screening* e sorveglianza riducano la mortalità epatospecifica nei pazienti con EC. Tuttavia, sono l’unico approccio pratico per migliorare il trattamento dell’EC.

Nel 2003 la *British Society of Gastroenterology* pubblica le “*Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma in adults*” (Ryder, 2003) che forniscono raccomandazioni più articolate:

1. il monitoraggio con ecografia addominale e AFP può identificare neoplasie di dimensioni inferiori a quelle identificate senza *screening* (livello di evidenza II);
2. l’unico approccio terapeutico potenzialmente curativo è praticabile solo su tumori di piccole dimensioni (livello di evidenza II);
3. non esistono comunque dati che dimostrino che l’identificazione di tumori più piccoli aumenti la sopravvivenza o riduca i costi (livello di evidenza II);
4. il monitoraggio per l’EC dovrebbe essere preso in considerazione nei seguenti gruppi a rischio:
 - a) pazienti (maschi o femmine) affetti da cirrosi conseguente a epatite B, specie se con evidenze di replicazione attiva del virus (livello di evidenza III);
 - b) pazienti (maschi o femmine) affetti da cirrosi conseguente a HCV (livello di evidenza III);
 - c) pazienti (maschi o femmine) affetti da cirrosi conseguente a emocromatosi (livello di evidenza III);

- d) maschi con cirrosi da abuso di alcool che ne abbiano sospeso l'assunzione (livello di evidenza III);
- e) maschi con cirrosi biliare primaria (livello di evidenza III);
- 5. il rischio di sviluppare EC in cirrosi autoimmune, colangite sclerosante, cirrosi alcolica e cirrosi biliare è generalmente basso nella donna (livello di evidenza II);
- 6. una eventuale sorveglianza deve essere condotta con ecografia addominale e determinazione di AFP ogni sei mesi (livello di evidenza II);
- 7. se si propone una strategia di sorveglianza, il paziente deve essere informato riguardo alle possibili implicazioni di una diagnosi precoce ed alla mancanza di prove certe di un vantaggio in termini di sopravvivenza.

Indipendentemente dal fatto che le linee guida disponibili mostrino un livello di evidenza relativamente basso, molti medici sottopongono ordinariamente a *screening* i pazienti con rischio aumentato in quanto affetti da epatite virale cronica o cirrosi. Il consenso oggi generalmente diffuso è di sottoporre a *screening* annuale o bi-annuale con AFP i portatori sani di virus dell'epatite B ed a *screening* bi-annuale con AFP ed ecografia i pazienti affetti da epatite cronica o cirrosi di qualsiasi eziologia.

Il costo per tumore riconosciuto è inversamente proporzionale all'incidenza della malattia nell'area geografica. Quindi, si può concludere che nelle aree a bassa prevalenza di EC i programmi di *screening* non siano costo-efficaci, mentre possono divenire costo-efficaci nelle situazioni in cui la prevalenza della malattia è elevata (Arguedas et al., 2003; Yuen et al., 2003).

Revisioni sistematiche: stato attuale

Screening nei casi con epatite C. I pazienti con epatite C hanno un rischio aumentato di sviluppare EC. Sebbene l'AFP sia frequentemente usata a scopo diagnostico, l'utilità del marcatore a tutt'oggi non è ancora chiara. Recentemente, Gupta et al. (2003) hanno condotto una rivalutazione sistematica della letteratura pubblicata sull'argomento dal 1966 al 2002. Gli autori hanno selezionato solo gli articoli con riportata la sensibilità e la specificità dell'AFP per la diagnosi di EC nei soggetti con HCV. Circa la metà degli articoli identificati è stata scartata in quanto la classificazione della epatite era incerta o includeva pazienti con caratteristiche eterogenee. Dopo questa prima selezione, gli articoli

sono stati ulteriormente valutati in base alla qualità dell'evidenza. Di tutti gli articoli identificati, solo cinque hanno soddisfatto i criteri di inclusione e di qualità e sono stati quindi analizzati. Tuttavia, anche in questi la qualità dell'evidenza era bassa. Infatti, quattro su cinque studi erano sub-ottimali per il tipo di disegno o per la metodologia analitica utilizzata. Il *cut-off* di 20 ng/ml di AFP comunemente utilizzato ha presentato una sensibilità da 41% a 65%; specificità da 80% a 94%; rapporto di verosimiglianza positivo da 3.1 a 6.8; rapporto di verosimiglianza negativo da 0.4 a 0.6.

Gli autori concludono che la carenza di studi di buona qualità non permette di trarre conclusioni circa l'utilità dell'AFP per la diagnosi di EC nei pazienti con epatite C.

Un'altra revisione sistematica finalizzata a verificare l'efficacia dei test di *screening* per l'EC nei pazienti con epatite cronica C è stata condotta da Gebo et al. nel 2002. Lo studio è stato eseguito analizzando i lavori pubblicati dal gennaio 1985 al marzo 2002 in diversi *database* elettronici. I criteri di inclusione degli articoli sottoposti a revisione erano la disponibilità dei dati originali relativi ai pazienti inclusi, la disponibilità delle informazioni virologiche, istologiche e patologiche nonché la presenza di informazioni relative all'*outcome*. L'analisi dei dati è stata eseguita da due revisori indipendenti che avevano il compito sia di valutare la qualità degli studi che di riassumerne i risultati. Uno studio prospettico non randomizzato suggeriva che l'EC veniva diagnosticato più precocemente ed era più frequentemente resecabile nei pazienti sottoposti a *screening* con AFP ed ecografia due volte per anno rispetto ai pazienti non sottoposti a *screening*. Ventidue altri studi, che includevano pazienti con epatite cronica C, erano invece finalizzati a definire le caratteristiche di sensibilità e specificità dei test di *screening* utilizzati. I diversi studi, utilizzando differenti valori *cut-off* di AFP compresi tra 10 e 19 ng/ml, riportano una sensibilità variabile fra il 45% e il 100%, con valori di specificità compresi fra 70% e 95%. I pochi studi che hanno considerato l'associazione fra AFP ed ecografia mostrano un incremento di specificità. Anche gli autori di questa revisione concludono che i dati disponibili non sono sufficienti a stabilire se lo *screening* basato su AFP sia efficace nel migliorare l'*outcome* clinico.

Un aspetto che merita di essere considerato è l'effetto delle caratteristiche demografiche della popolazione studiata sull'efficacia diagnostica dell'AFP. La maggior parte dei dati relativi alla diagnosi ed allo *screening* dell'EC con AFP derivano da studi condotti in paesi

asiatici o occidentali. Recentemente infatti, Nguyen et al. (2002), in uno studio multicentrico retrospettivo caso-controllo, hanno dimostrato che la sensibilità dell'AFP per la diagnosi di EC in soggetti con epatite C era significativamente migliore nei pazienti non afro-americani (81.6%) rispetto a quelli afro-americani (57.9%). Il dato è stato confermato anche dall'analisi ROC (*receiver-operating-characteristic*), che mostra un'area sotto la curva di 0.81 contro 0.56, rispettivamente. Tale informazione ha un'importanza notevole in una situazione demografica che sta rapidamente evolvendo in senso multi-etnico e dovrà essere considerata nella valutazione e nella pianificazione di eventuali progetti di *screening*.

Screening nei pazienti con epatite B. Globalmente l'epatite B è il più importante fattore di rischio per l'insorgenza di EC. L'AFP e l'ecografia epatica sono state estensivamente utilizzate in questa categoria di pazienti per diagnosticare precocemente l'EC. Tuttavia, a tutt'oggi non è chiaro se lo *screening* sia vantaggioso in termini di sopravvivenza. Wun e Dickinson (2003) hanno recentemente condotto una revisione sistematica degli studi randomizzati sullo *screening* dell'EC con AFP ed ecografia in soggetti portatori di antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), sia asintomatici che con patologia epatica manifesta. Gli autori hanno revisionato tutti i lavori pubblicati fino all'agosto 2002 rintracciabili in numerosi *database* elettronici. Sono state esclusi gli studi nei quali: (i) lo stato dell'epatite B non fosse ben definito, (ii) i pazienti non fossero seguiti adeguatamente, (iii) i test fossero stati usati a scopo di diagnosi differenziale e non con finalità di *screening*. Soltanto 2 lavori hanno soddisfatto tali criteri di inclusione. Il primo riguardava 18816 casi e confrontava pazienti sottoposti a determinazione bi-annuale di AFP ed ecografia per cinque anni con pazienti non sottoposti a *screening*. Globalmente, i risultati di questo studio non mostravano differenze significative di mortalità per EC (OR 0.81; IC 95% 0.54-1.22). Tuttavia, il numero di casi di EC diagnosticati era significativamente maggiore nel gruppo sottoposto a *screening* che nei controlli. Inoltre, nel gruppo sottoposto a *screening*, la maggior parte dei casi con EC era ad uno stadio iniziale, mentre nessuno lo era nel gruppo di controllo. Ciò comporta che, il tasso di sopravvivenza dei pazienti resecati per EC a tre anni è del 52.7% nel gruppo sottoposto a *screening*, contro nessun sopravvissuto nel gruppo di controllo. Il secondo studio selezionato, che includeva 1069 casi, confrontava pazienti sottoposti a *screening* con AFP ed ecografia con un gruppo non sottoposto a *screening*. Le dimensioni ridotte della casistica valutata non hanno

permesso di raggiungere risultati significativi (OR 0.74; IC 95% 0.26-2.12).

Gli autori concludono che non è ancora disponibile un numero sufficiente di studi di buona qualità per sostenere o respingere l'utilità dello *screening* per EC nei pazienti HBsAg-positivi.

Altri biomarcatori

I limiti dell'AFP. Molti pazienti con EC (80-90%) presentano livelli di AFP maggiori del valore superiore dell'intervallo di riferimento comunemente utilizzato (10 ng/ml) e livelli sierici di AFP superiori a 400 ng/ml in aree con alta incidenza o in soggetti a maggior rischio di EC vengono comunemente considerati diagnostici per la malattia (Bruix et al., 2001). Tuttavia, incrementi del marcatore compresi fra 10 e 400 ng/ml sono possibili anche nelle malattie benigne del fegato, così che la specificità dell'AFP per l'EC tende ad essere bassa. Questo rappresenta un serio limite clinico per il test, in quanto nella maggior parte dei casi l'EC si sviluppa in pazienti affetti da concomitanti malattie epatiche.

Per ovviare a questo problema ed incrementare la specificità diagnostica dell'AFP sono stati proposti e studiati altri biomarcatori. Fra questi, alcuni rimangono ancora nell'ambito della ricerca preclinica, altri sono stati sottoposti a valutazioni cliniche iniziali.

Nel corso degli anni sono stati compiuti numerosi tentativi per identificare una forma di AFP specifica per l'EC, analizzando in modo specifico la parte carboidratidica nella molecola. I risultati più interessanti sono stati ottenuti valutando le differenze nell'affinità del legame delle diverse glicofornie dell'AFP a differenti lectine, in particolare all'agglutinina della *Lens culinaris* ed alla concanavalina A. Diversi studi hanno mostrato che l'AFP reattiva con l'agglutinina della *Lens culinaris*, denominata AFP-L3 sarebbe efficace nell'identificazione di EC di modeste dimensioni in fase iniziale (Khien et al., 2001).

Isoforme dell'AFP. La concentrazione ematica assoluta di AFP-L3 non sarebbe correlata con le dimensioni della neoplasia e sarebbe invece significativamente più elevata nei casi con EC diffuso rispetto a quelli con carcinoma nodulare (Yoshida et al., 2002). Questi dati suggeriscono che l'AFP-L3 potrebbe fornire indicazioni biologiche diverse e complementari a quelle dell'AFP totale e forse meglio correlate all'aggressività della neoplasia. Mediante tecniche di focalizzazione isoelettrica sono state identificate delle bande elettroforetiche

sufficientemente sensibili per porre diagnosi clinica di EC. Recentemente, i componenti carboidratici di tali bande sono stati identificati, permettendo la definizione di due isoforme di AFP (AFP desialilata – dsAFP – e AFP monosialilata – msAFP), che sarebbero specifiche per l'EC (Poon et al., 2002). La recente disponibilità di un metodo quantitativo per misurare la msAFP ha permesso di confermare il ruolo diagnostico di tali isoforme per l'EC nei casi con valori non diagnostici di AFP totale (Poon et al., 2002). L'aspetto limitante per la determinazione su base routinaria delle isoforme di AFP è rappresentato dalla relativa complessità e delicatezza dei metodi analitici, che non hanno ancora raggiunto il grado di standardizzazione adeguato ad un utilizzo clinico diffuso.

DCP. La des-gamma carbossiprotrombina (DCP), definita anche protrombina indotta dalla assenza di vitamina K-II (PIVKA-II), è una protrombina anomala che risulterebbe aumentata nel siero dei pazienti con EC (Weitz et al., 1993). La produzione della DCP è probabilmente il risultato di un difetto acquisito nella carbossilazione post-translazionale del precursore della protrombina nella cellula tumorale. La riduzione della produzione dell'attività gamma-carbossilasica sarebbe dovuta ad una anomala espressione del gene nell'EC (Marrero et al., 2003).

Un limite intrinseco della DCP sembrerebbe rappresentato dalla sua non specificità per il tessuto tumorale. Infatti, Tang et al. (2003) hanno mostrato che la concentrazione sierica di DCP non sarebbe correlata con la concentrazione del marcatore nel tessuto dell'EC; per contro gli Autori hanno trovato una significativa correlazione fra i livelli sierici del marcatore e l'espressione dello stesso nel tessuto epatico non tumorale. Dai risultati ottenuti gli Autori suggeriscono che valori elevati di DCP possano rappresentare non soltanto la produzione e la secrezione da parte del tessuto dell'EC, ma anche la produzione ed il rilascio da parte del tessuto epatico che circonda la neoplasia. Recentemente, sono stati prodotti anticorpi che identificherebbero in modo specifico la DCP originata dalle cellule di EC rispetto a quella prodotta fisiologicamente dall'epatocita. La misurazione condotta con due diversi anticorpi (MU-3 e 19B7) ha permesso di definire anche un *DPC ratio* (rapporto fra DCP misurata con l'anticorpo MU-3 e DCP misurata con l'anticorpo 19B7) capace di discriminare il comportamento del marcatore nei pazienti con EC e nei soggetti con deficit di vitamina K (Sugimoto et al., 2003).

In una revisione (Marrero et al., 2003) di 8 studi caso-controllo di adeguate dimensioni che hanno valutato la DCP, la sensibilità del marcatore è risultata compresa fra il 48% e il 62%, la specificità fra

l'81% e il 98% e l'accuratezza diagnostica fra il 59% e l'84% nella diagnosi differenziale dei pazienti con EC e quelli con cirrosi. Globalmente, l'AFP ha mostrato una sensibilità variabile fra i 40% e il 54%, una specificità compresa fra l'88% e il 97% ed una accuratezza diagnostica fra il 64% il 76%. Cinque di questi studi hanno mostrato una migliore sensibilità della DCP rispetto all'AFP; altri tre studi non hanno rilevato differenze significative tra i due marcatori, ma hanno mostrato che la combinazione di DCP e AFP ha una miglior sensibilità diagnostica rispetto a ciascuno dei due marcatori considerati singolarmente. Questi studi sembrano suggerire che la DCP ha una miglior sensibilità diagnostica per l'EC rispetto all'AFP. Tuttavia, va notato che nei diversi studi sono stati utilizzati livelli di *cut-off* differenti per entrambi i marcatori (40, 60 o 100 mAU/ml per la DCP e valori variabili tra 20 e 200 ng/ml per l'AFP). Complessivamente, si può quindi concludere che sono necessari ulteriori studi per definire il ruolo della DCP nella diagnosi dell'EC nelle popolazioni occidentali.

Acidi nucleici circolanti. La presenza in circolo di cellule di derivazione epatica è stata dimostrata mediante tecniche di amplificazione molecolare (RT-PCR). Finora sono stati riportati risultati contrastanti circa il possibile impatto clinico di questi dosaggi, principalmente a causa di differenze nelle tecnologie utilizzate e alla mancata standardizzazione dei metodi. Tutti i dati disponibili vanno quindi considerati preliminari ed ancora lontani da una possibile applicazione per decisioni cliniche. Alcuni risultati meritano attenzione, in quanto mostrano come l'approccio diagnostico nel siero possa differenziarsi prendendo in considerazione segnali provenienti da meccanismi biologici diversi e non ridondanti, finalizzati sia ad aumentare sensibilità e specificità diagnostica, che a definire le caratteristiche molecolari della malattia legate a comportamenti clinici di interesse (prognosi, predizione della risposta alle terapie).

Gli studi più numerosi relativi all'identificazione nel sangue di cellule a possibile partenza tumorale riguardano la ricerca del mRNA dell'AFP. Tale test è stato proposto come marcatore di disseminazione di cellule di EC in circolo e, quindi, come predittore della disseminazione metastatica (Liu et al., 2002). Tuttavia, dalle evidenze pubblicate finora è chiaro che con i metodi disponibili non è possibile distinguere la natura maligna delle cellule circolanti né tantomeno riconoscere le capacità invasive delle stesse. Inoltre, numerose evidenze dimostrano che la ricerca di cellule circolanti non è affidabile se eseguita dopo manovre diagnostiche

invasive o procedure chirurgiche (Witzigmann et al., 2002). Pertanto, il valore di tale test non è ancora concordemente stabilito.

Chang et al. (2002) hanno recentemente studiato la perdita di eterozigosi dei microsatelliti in 21 casi di EC, 6 di colangiocarcinoma e 27 di epatite cronica o cirrosi. Gli autori hanno identificato un profilo di 19 microsatelliti, misurabile nel sangue, capace di dare un valore predittivo positivo del 100% ed un valore predittivo negativo del 81% per la diagnosi differenziale dell'EC.

Nakatsura et al. (2003), utilizzando una tecnica basata su DNA microarray, hanno identificato un nuovo gene oncofetale (GPC3) iperespresso in modo specifico negli epatocarcinomi umani. La proteina espressa da tale gene può essere secreta e quindi essere misurabile con metodi immunometrici; nella preliminare valutazione condotta dagli autori la proteina, negativa in tutti i controlli, è risultata positiva nel 40% dei casi con EC, il 30% dei quali era negativo per AFP e DCP.

I risultati relativi a questi nuovi biomarcatori, anche se preliminari, sembrano promettenti in quanto forniscono informazioni complementari e non ridondanti rispetto ai biomarcatori circolanti più comunemente utilizzati.

5.2 Tecniche d'immagine: ecografia

L'ecografia rappresenta la metodica per immagine di prima istanza per la diagnosi precoce di EC e va attuata attraverso programmi di sorveglianza nel paziente con cirrosi epatica (Bruix et al., 2001; Colombo et al., 2004). Il suo utilizzo è reso possibile essenzialmente dalla disponibilità di apparecchiature, la non invasività ed il basso costo. L'efficacia diagnostica dell'indagine dipende fortemente dall'esperienza e competenza dell'operatore che effettua l'accertamento. Pertanto, la sorveglianza del paziente cirrotico dovrebbe essere effettuata in Centri con adeguata dotazione tecnologica e demandata a personale medico in possesso di opportuni requisiti formativi ed adeguata preparazione professionale. La limitazione sostanziale dell'ecografia è legata alla natura esclusivamente morfologica dell'indagine. Una volta rilevata la presenza di un'alterazione focale del parenchima epatico, risulta in molti casi impossibile pervenire ad una precisa caratterizzazione, particolarmente nel caso di piccole nodularità (Libbrecht et al., 2002). Le espressioni nodulari tipiche della cirrosi, quali il nodulo displasico, risultano infatti indistinguibili dal piccolo tumore. Il recente sviluppo dei mezzi di contrasto ecografici e l'introduzione di algoritmi di scansione

contrasto-specifici, in grado di visualizzare la distribuzione del mezzo di contrasto a livello del microcircolo, hanno aperto nuove prospettive diagnostiche (Lencioni, Cioni, Bartolozzi, 2002; Quiaia et al., 2004). L'esame eco-contrastografico consente infatti la valutazione delle caratteristiche di vascolarizzazione di alterazioni focali a livello parenchimale, in modo simile alla TC spirale e alla RM dinamica. Questa possibilità risulta di particolare importanza ai fini della diagnosi differenziale di nodularità insorte nel contesto di un quadro cirrotico. Nella transizione da nodulo di rigenerazione a nodulo displasico a basso grado, a nodulo displasico ad alto grado, ad EC, esiste, infatti, una progressiva scomparsa degli spazi portali associata allo sviluppo di un neocircolo arterioso (Tajima et al., 2002). Tale ipervascolarizzazione arteriosa costituisce l'elemento chiave per la diagnosi di EC.

Note di tecnica

Per poter condurre un efficace studio ecografico del fegato, è di fondamentale importanza disporre di apparecchiature tecnologicamente aggiornate. E' richiesta la disponibilità di sonde di tipo convex, con frequenza intorno a 3.5 – 3.75 MHz. Per l'effettuazione dello studio eco-contrastografico, è necessaria la disponibilità di un algoritmo di scansione contrasto-specifico. Anche se è possibile impiegare tecniche ad elevato indice meccanico, queste risultano penalizzate dalla necessità di effettuare un'acquisizione di tipo "intermittente", a causa dei fenomeni di distruzione cui vanno incontro le microbolle sottoposte ad elevate pressioni acustiche. Ciò preclude la possibilità di studio in tempo reale e limita quindi in modo sostanziale l'efficacia diagnostica dell'indagine (Lencioni, Cioni, Bartolozzi, 2002). Per contro, l'impiego di tecniche a basso indice meccanico (inferiore 0.1–0.2) in associazione con mezzi di contrasto di seconda generazione (contenenti gas a bassa solubilità) consente l'effettuazione dello studio eco-contrastografico in tempo reale, permettendo un'accurata analisi delle caratteristiche di vascolarizzazione della lesione oggetto di indagine nelle varie fasi vascolari (Lencioni, Cioni, Crocetti et al., 2002; Catalano et al., 2004; Gaiani et al., 2004; Nicolau et al., 2004). Tale tipo di approccio risulta pertanto preferibile per l'uso clinico (Albrech et al., 2004).

Elementi di semeiotica

L'EC può presentarsi in forma nodulare o espansiva, in forma infiltrativa o massiva o in forma diffusa. L'EC di tipo nodulare o espansivo può avere carattere unifocale o multifocale ed essere dotato di pseudocapsula

fibrosa. Il nodulo può apparire ipoecogeno, isoecogeno o iperecogeno. La pseudocapsula, quando visibile, si presenta come alone periferico ipoecogeno. Non raramente il nodulo di EC presenta aspetto disomogeneo, definito “a mosaico”, per la presenza di componenti a diverso grado di differenziazione separati da setti fibrosi. Tali componenti possono mostrare diverso grado di ecogenicità. Allo studio “color o power Doppler”, è frequente il rilievo di ricca vascolarizzazione, con segnali di flusso di tipo arterioso ad alto indice di resistenza. L’EC nodulare si caratterizza per il marcato e generalmente omogeneo *enhancement* nella fase arteriosa dello studio eco-contrastografico. Fa seguito un rapido *wash-out* nelle fasi porto-venosa e tardiva, nelle quali la lesione appare iso- o ipoecogena (Albrech et al., 2004; Catalano et al., 2004; Gaiani et al., 2004; Nicolau et al., 2004). Tale ipervascolarizzazione arteriosa non è generalmente presente nelle nodularità di tipo displasico, che mostrano un profilo di *enhancement* sovrapponibile a quello del parenchima epatico (Albrech et al., 2004). Va tuttavia ricordato che anche tumori molto ben differenziati possano risultare ipovascolari a causa dell’immaturità del circolo arterioso neoangiogenico (Catalano et al., 2004; Nicolau et al., 2004). Epatocarcinomi di tipo infiltrativo sono caratterizzati da digitazioni neoplastiche che invadono la struttura parenchimale epatica infiltrando le strutture vascolari, segnatamente le diramazioni segmentarie e le branche principali della vena porta, causando trombosi neoplastica. Le lesioni appaiono come aree di sovvertimento strutturale a margini irregolari, con disomogenea ipervascolarizzazione nella fase arteriosa ed aspetto iso- o ipoecogeno nelle fasi porto-venosa e tardiva dello studio eco-contrastografico. I trombi neoplastici tipicamente presentano precoce impregnazione di mezzo di contrasto nella fase arteriosa, analogamente alla massa principale (Albrech et al., 2004). Il tipo diffuso è di gran lunga la forma meno frequente di EC. Si caratterizza per la presenza di numerosi noduli di piccole dimensioni, distribuiti in modo irregolare, ma ubiquitario nel contesto del parenchima epatico.

Protocollo diagnostico

Il protocollo per la diagnosi di EC in cirrosi attualmente in uso è stato elaborato da un gruppo di esperti nel contesto della *European Association for the Study of the Liver* (Bruix et al., 2001). Il protocollo tiene in considerazione, da un lato, le attuali possibilità diagnostiche delle metodiche per immagine e, dall’altro, la prevalenza di EC

nell'ambito di piccole nodularità rilevate in corso di sorveglianza ecografica in paziente con cirrosi. Tale prevalenza è fortemente dipendente dalle dimensioni della lesione stessa: mentre oltre la metà delle lesioni <1 cm sono legate ad alterazioni di tipo rigenerativo o displasico, la grande maggioranza di lesioni >2 cm sono chiaramente maligne o contengono comunque foci di EC (Bruix et al., 2001).

Nel caso di rilevamento ecografico di lesione nodulare di diametro <1 cm, in considerazione dell'alta prevalenza di lesioni epatocellulari benigne e delle obiettive difficoltà ad ottenere una diagnosi definitiva, è indicato il semplice monitoraggio, ripetendo lo studio ecografico ad intervallo di tempo dimezzato rispetto al normale protocollo di sorveglianza (3 mesi anziché 6 mesi). Deve essere sottolineato, comunque, che l'assenza di accrescimento durante il periodo di follow-up non esclude la natura maligna della lesione, data l'estrema variabilità nel ritmo di accrescimento dell'EC.

Quando il diametro del nodulo è >1 cm, in considerazione della maggiore prevalenza di lesioni maligne, deve essere programmata una verifica diagnostica. La conferma del sospetto di EC deve essere ricercata attraverso metodiche per immagine. In particolare, è accettata la diagnosi ottenuta con i risultati coincidenti di almeno due tecniche di *imaging*, che dimostrino la presenza di ipervascolarizzazione arteriosa in una lesione >2 cm. La natura maligna della lesione può essere anche posta mediante una singola tecnica di *imaging*, quando sia concomitante una concentrazione plasmatica dell'AFP >400 ng/ml. Se la lesione ha dimensioni comprese tra 1 e 2 cm, è raccomandato il ricorso alla biopsia, dal momento che le tecniche di diagnostica per immagini non sembrano avere sufficiente accuratezza nella diagnosi di EC (Bruix et al., 2001). Una biopsia negativa, comunque, non può essere considerata criterio sufficiente per escludere la malignità in una lesione con caratteristiche indicative di epatocarcinoma alle metodiche di *imaging*.

Il protocollo sopra descritto, elaborato nel 2000, non prevede l'impiego dell'eco-contrastografia per il rilievo della ipervascolarizzazione arteriosa. Studi condotti successivamente hanno dimostrato come tale indagine consenta una valutazione molto accurata del pattern vascolare della lesione, con dati sovrapponibili a quelli della TC spirale (Catalano et al., 2004; Gaiani et al., 2004; Nicolau et al., 2004). Sulla base di tali dati, un gruppo di esperti della *European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology* ha recentemente raccomandato il ricorso allo studio eco-contrastografico per la caratterizzazione di lesioni focali evidenziate o sospettate nel corso dello studio ecografico di base,

in pazienti con cirrosi epatica o epatite cronica (Albrech et al., 2004).

Protocollo stadiativo

L'indicazione ad effettuare una stadiazione accurata dell'estensione di malattia dipende dalla situazione clinica. L'ecografia può essere considerata indagine sufficiente per una definizione del grado di impegno neoplastico in pazienti, nei quali la malattia viene diagnosticata in stadio avanzato e per i quali non è prevista comunque alcuna opzione terapeutica. Diversamente, è indispensabile stabilire con precisione numero, dimensioni, sede e caratteristiche di ciascuna lesione, nonché definire la presenza o assenza di invasione vascolare e di metastasi extraepatiche.

L'ecografia è indagine chiaramente insufficiente per definire l'entità dell'impegno nodulare nel paziente con EC. Esiste infatti una marcata sottostima del numero di lesioni, particolarmente se di piccole dimensioni. In serie di pazienti studiati con ecografia e poi sottoposti a trapianto, i valori di sensibilità dell'indagine nel rilevamento di EC sono risultati nell'ordine del 20-72%, con un valore medio del 40% (Tabella 1). E' rilevante notare come, diversamente da quanto accaduto per altre metodiche per immagine, l'evoluzione tecnologica delle apparecchiature non sembra aver migliorato in modo sostanziale la sensibilità dell'esame ecografico, per il quale le limitazioni più importanti rimangono legate alla esplorabilità del paziente. Ai fini del rilevamento di lesione, il contributo di mezzi di contrasto ecografici appare marginale (Albrech et al., 2004). L'esame eco-contrastografico, se può essere utile per chiarire l'effettiva presenza di lesione in aree di accentuata disomogeneità strutturale evidenziate nella scansione di base, non consente la completa esplorazione del parenchima epatico nel breve arco temporale della fase arteriosa, nella quale noduli di EC risultano meglio evidenziabili, neppure effettuando scansioni sequenziali con ripetute somministrazioni di mezzo di contrasto. La stadiazione intraepatica dell'EC rimane pertanto di pertinenza di indagini di secondo livello, quali TC spirale o RM dinamica.

Tabella 1 Sensibilità dell'ecografia nel rilievo di epatocarcinoma. I dati esprimono i risultati della correlazione lesione per lesione tra imaging ed esame istopatologico dopo epatectomia totale

Autore e anno	N. di pazienti	N. di lesioni	Sensibilità
Dodd et al. 1992	200	80	36/80 (45%)
Shapiro et al. 1996	21	40	21/40 (51%)
Kim et al. 2001	52	18	6/18 (33%)
Rode et al. 2001	43	13	6/13 (46%)
Bennet et al. 2002	200	39	8/39 (20%)
Liu et al. 2003	118	51	14/51 (27%)
Teefey et al. 2003	25	18	13/18 (72%)
Dato complessivo	659	259	104/259 (40%)

5.3 Tecniche d'immagine: TC ed RM

La diagnosi precoce è l'approccio più concreto per la cura dell'EC, ma si confronta con il problema della sensibilità e specificità imperfetta delle tecniche di immagine. Nella maggior parte dei casi accurate diagnosi e stadiazione dell'EC si fondano su metodiche per immagine in combinazione con rilievi clinici e laboratoristici, evitando il ricorso alla biopsia percutanea o ad altri accertamenti invasivi (Bruix et al., 2001; Colombo et al., 2002).

Peraltro, lo studio di pazienti con sospetto EC può essere assai complesso e richiede una tecnica ottimizzata ed un'adeguata esperienza. L'EC mostra infatti una grande diversità negli aspetti rilevabili mediante tecniche per immagine, riflettendo in questo la variabilità di presentazione sia a livello macroscopico che microscopico. La diagnosi è particolarmente difficile per l'associazione della neoplasia con la cirrosi epatica. Espressioni nodulari tipiche della cirrosi, quali il nodulo displasico, possono infatti simulare la presenza di un tumore in stadio iniziale. Uno degli aspetti più importanti per la diagnosi differenziale, accuratamente analizzato dalle tecniche per immagine, è l'alterazione della vascolarizzazione, con progressiva scomparsa del flusso portale e sviluppo di neocircolo arterioso durante la transizione da nodulo di rigenerazione a nodulo displasico a basso grado, nodulo displasico ad alto grado, ed EC (Tajima et al., 2002). Tale ipervascolarizzazione arteriosa costituisce l'elemento chiave per la diagnosi di epatocarcinoma mediante TC o RM (Noguchi et al., 2003; Lee et al., 2004).

Note di tecnica

Lo studio ottimale mediante TC o RM del fegato richiede l'impiego di tecnologia spirale o elicoidale in TC e di gradienti adeguatamente performanti, che consentano uno studio dinamico con acquisizioni veloci o ultraveloci in RM. Con entrambe le indagini, è infatti necessario acquisire volumi corporei in grado di coprire interamente il parenchima epatico nell'arco di 10-20 secondi e comunque in una singola apnea inspiratoria. Ciò permette di ottenere immagini nelle diverse fasi dell'*enhancement* contrastografico epatico, consentendo di rilevare e caratterizzare lesioni di tipo focale in funzione della loro diversa modalità di impregnazione. Un protocollo standard per lo studio TC o RM del fegato nel sospetto di EC deve prevedere, oltre ad acquisizioni basali, uno studio contrastografico nelle fasi arteriosa, porto-venosa e tardiva, attraverso l'iniezione endovenosa, ad alto flusso, di mezzi di contrasto iodati per TC o di chelati del gadolinio per RM (Lim et al., 2000; Choi et al., 2001; Lim et al., 2002). L'acquisizione nella fase arteriosa è quella di maggiore importanza per l'identificazione e la caratterizzazione di lesioni ipervascolari quali l'EC e richiede l'ottimizzazione della finestra temporale di acquisizione (legata al tempo di circolo del singolo paziente) utilizzando un "*bolus test*" di prova oppure sistemi di rilevazione automatica dell'arrivo del mezzo di contrasto nell'area di interesse (Kim et al., 2002; Murakami et al., 2003). Utilizzando apparecchiature TC spirale multistrato o sequenze

ultraveloci di tipo angiografico in RM, è possibile effettuare una doppia acquisizione nel breve spazio della fase arteriosa: una, molto precoce, finalizzata allo studio dell'albero vascolare ed una, ritardata di pochi secondi, per lo studio del parenchima (Kim et al., 2002; Murakami et al., 2003; Lencioni et al., 2004).

La recente introduzione di mezzi di contrasto di tipo epato-specifico ha aperto nuove prospettive per l'*imaging* RM. Esistono in commercio due diverse categorie di composti: i mezzi di contrasto epato-biliari, captati dalla componente epatocitaria ed escreti, in quota variabile, attraverso il sistema biliare e i mezzi di contrasto reticolo-endoteliali, fagocitati dalle cellule di Kupffer. I primi hanno effetto paramagnetico e producono un marcato e prolungato incremento di intensità di segnale del parenchima epatico nelle sequenze T1 pesate, nelle quali lesioni neoplastiche risultano tipicamente ipointense. I secondi hanno effetto superparamagnetico e determinano una sostanziale caduta di intensità di segnale del parenchima epatico nelle sequenze T2 pesate, nelle quali lesioni neoplastiche sono normalmente iperintense. In entrambi i casi, risulta notevolmente accresciuta la differenza di contrasto tra parenchima epatico e lesione neoplastica, presupposto per una migliore identificazione e caratterizzazione (Lencioni et al., 2004).

Elementi di semeiotica

L'EC può presentarsi in forma nodulare od espansiva, in forma infiltrativa o massiva, o in forma diffusa. L'EC di tipo nodulare od espansivo può avere carattere unifocale o multifocale ed essere dotato di pseudocapsula fibrosa. L'analisi delle caratteristiche della lesione in condizioni basali può essere di grande aiuto ai fini diagnostici nello studio con RM. L'architettura neoplastica ed il grado di differenziazione, la presenza di fibrosi o necrosi, così come il contenuto intracellulare di grasso, glicoproteine o ioni metallici influenzano in modo sostanziale l'aspetto RM dell'EC (Krinsky et al., 2001). A fronte di un variabile comportamento nelle sequenze T1 pesate, nelle quali il tumore può risultare iperintenso, isointenso o ipointenso nei confronti del parenchima epatico, la lesione neoplastica risulta generalmente iperintensa nelle sequenze T2 pesate, nelle quali alterazioni nodulari di tipo rigenerativo o displasico tendono ad apparire ipointense. Esiste peraltro un considerevole embricamento nelle caratteristiche di segnale di tali lesioni di natura epatocellulare, in quanto neoplasie ben differenziate, così come lesioni displasiche, possono risultare isointense in T2 (Lencioni et al., 2004). Non raramente il nodulo di EC presenta

aspetto disomogeneo, definito “a mosaico”, per la presenza di componenti a diverso grado di differenziazione separate da setti fibrosi. Tali componenti possono mostrare indice di attenuazione variabile in TC e diversa intensità di segnale nelle sequenze RM T1 e T2 pesate, in particolare se sono presenti aree di degenerazione grassa (Lencioni et al., 2004).

E' caratteristico dell'EC di tipo nodulare il presentare marcato *enhancement* nella fase arteriosa dello studio contrastografico con TC o RM. Fa seguito un rapido *wash-out* nelle fasi porto-venosa e tardiva, nelle quali la lesione appare iso- o (più spesso) ipodensa in TC e iso- o (più spesso) ipointensa in RM (Kim et al., 2002; Lim et al., 2002; Burrell et al., 2003). Tale ipervascolarizzazione arteriosa non è generalmente presente nelle nodularità di tipo displasico, che mostrano un profilo di *enhancement* sovrapponibile a quello del parenchima epatico (Lim et al., 2000; Krinsky et al., 2001). Tuttavia, va ricordato come anche alcuni tumori, molto ben differenziati, possano risultare ipovascolari a causa dell'imaturità del circolo arterioso neoangiogenetico. La pseudocapsula fibrosa appare generalmente come sottile cerchia periferica con impregnazione contrastografica in fase tardiva. La percentuale di identificazione della pseudocapsula in TC e RM, tuttavia, è legata alle dimensioni della lesione, risultando piuttosto bassa nei piccoli tumori.

L'esperienza maturata circa l'impiego di mezzi di contrasto di tipo epato-specifico nella diagnosi di EC è relativamente modesta. Il tumore può presentare peraltro aspetti variabili in funzione del grado di differenziazione. Infatti, neoplasie ben differenziate, in relazione ad affinità con l'epatocita ed alla presenza di cellule di Kupffer, risultano in grado di captare alcuni composti epatobiliari nonché gli agenti reticolo-endoteliali, analogamente a lesioni displasiche (Bartolozzi et al., 2000; Lim et al., 2001; Kato et al., 2004). Nei tumori scarsamente differenziati, per contro, la mancata captazione risulta generalmente in un incremento di contrasto nei confronti del parenchima epatico e quindi in una migliore identificazione e delimitazione della lesione (Petersein et al., 2000; Pauleit et al., 2002; Kang et al., 2003).

Gli epatocarcinomi di tipo infiltrativo appaiono come aree di sovvertimento strutturale a margini irregolari, con disomogenea ipervascolarizzazione nella fase arteriosa ed aspetto ipodenso (in TC) o ipointenso (in RM) nelle fasi porto-venosa e tardiva dello studio contrastografico. I trombi neoplastici tipicamente presentano precoce impregnazione di mezzo di contrasto nella fase arteriosa, analogamente alla massa principale.

Il tipo diffuso è di gran lunga la forma meno frequente di EC. Si caratterizza per la presenza di numerosi noduli di piccole dimensioni, distribuiti in modo irregolare, ma ubiquitario nel contesto del parenchima epatico, identificabili come lesioni ipodense o ipointense allo studio contrastografico. Alcuni peculiari varianti istopatologiche dell'EC possono modificarne la semeiotica TC e RM. In particolare, epatocarcinomi di tipo sclerosante possono presentare difficoltà diagnostiche per il modesto grado di ipervascolarizzazione. Assai complessa è anche la diagnosi di forme miste di epato-colangiocarcinoma.

Sensibilità e valore predittivo positivo di RM dinamica e TC spirale nel rilievo di epatocarcinoma. I dati esprimono i risultati della correlazione lesione per lesione tra *imaging* ed esame istopatologico dopo epatectomia totale

Autore e anno	No. di pazienti / No. di lesioni	Sensibilità complessiva	Sensibilità per lesioni <1 cm	Sensibilità per lesioni 1-2 cm	Sensibilità per lesioni >2 cm	Valore predittivo positivo
Krinsky et al. 2001	71 / 19	RM, 10/19 (53%) TC, N/E	1/3 (33%)	6/12 (50%)	3/4 (75%)	19/34 (56%)
Rode et al. 2001	43 / 13	RM, 10/13 (77%) TC, 7/13 (54%)	RM, 5/7 (71%) TC, 3/7 (43%)	RM, 4/5 (80%) TC, 3/5 (60%)	RM, 1/1 (100%) TC, 1/1 (100%)	RM, N/D TC, N/D
de Lédinghen et al. 2002	34 / 54	RM, 33/54 (61%) TC, 28/54 (52%)	RM, 2/8 (25%) TC, 2/8 (25%)	RM, 19/34 (56%) TC, 15/34 (44%)	RM, 12/12 (100%) TC, 11/12 (92%)	RM, 33/37 (89%) TC, 28/37 (76%)
Burrel et al. 2003	50 / 76	RM, 58/76 (76%) TC, 43/70 (61%)	RM, 7/22 (32%) ¹ TC, 2/19 (10%)	RM, 16/19 (84%) ¹ TC, 9/19 (47%)	RM, 6/6 (100%) ¹ TC, 6/6 (100%)	RM, 58/64 (90%) TC, 43/49 (87%)
Bhartia et al. 2003	31 / 32	RM, 25/32 (78%) ² TC, N/P	3/8 (38%)	12/13 (92%)	10/11 (91%)	25/46 (54%)
Teefey et al. 2003	22 / 18	RM, 14/18 (77%) TC, 13/18 (72%)	N/D	N/D	N/D	RM, 14/19 (74%) TC, 13/22 (59%)
Valls et al. 2004	51 / 85	RM, N/E TC, 67/85 (79%)	N/D	23/28 (61%) ³	44/47 (94%)	67/76 (88%)

Note:

N/E, non effettuato

N/D, non disponibile

¹ L'analisi di sensibilità in funzione delle dimensioni è relativa a 47 noduli satelliti e non comprende i 29 tumori principali

² Il protocollo RM comprende, oltre all'esame dinamico, lo studio con mezzo di contrasto reticolo-endoteliale

³ Il sottogruppo comprende lesioni di diametro inferiore o uguale a 2 cm.

5.4 Biopsia epatica percutanea

La biopsia percutanea guidata é la procedura che consente di ottenere la diagnosi istopatologica di EC. Nella maggior parte dei casi, viene utilizzata la guida ecografica e soltanto in casi particolari (legati alla sede della lesione o alla difficile visualizzazione ecografica della stessa) è necessario ricorrere a guida TC.

Preliminari all'esecuzione della biopsia sono il consenso informato del paziente ed il controllo del suo stato emocoagulativo attraverso il dosaggio di PT e INR, PTT, emocromo con conta delle piastrine. Sono considerati permissivi per l'esecuzione della biopsia valori di PT >50%, piastrine >50.000/mm³, PTT non superiore al 10% del limite massimo normale. È necessario sospendere eventuali trattamenti anticoagulanti o anti aggreganti con un anticipo sufficiente a ripristinare i normali parametri emocoagulativi. Controindicazione all'esecuzione della biopsia percutanea è la presenza di ascite periepatica.

La biopsia dell'EC può essere eseguita con ago sottile (calibro inferiore a 1 mm), con cui si ottengono campioni per l'esame citologico oppure con aghi trancianti tipo Menghini o tipo Tru-cut (sia sottili, sia di calibro superiore a 1 mm), che consentono un prelievo di tessuto idoneo all'esame istologico. Sono disponibili dispositivi guida per l'ago collegati alla sonda ecografica.

Indicazione alla biopsia epatica

Secondo il documento redatto dalla Conferenza Monotematica di Barcellona (Bruix et al., 2001), la biopsia rappresenta la principale indagine diagnostica nei noduli di dimensioni comprese tra 1 e 2 cm riscontrati con l'ecografia su fegato cirrotico. Infatti, nel caso di noduli inferiori a 2 cm, le sole tecniche di *imaging* non garantiscono una sufficiente accuratezza diagnostica, mentre per i noduli di dimensioni inferiori ad 1 cm viene proposto un follow-up ecografico trimestrale. Nel caso di noduli maggiori di 2 cm è possibile nella maggior parte dei casi porre diagnosi di EC anche senza conferma istologica sulla base del riscontro di una ipervascolarizzazione arteriosa della lesione (dimostrata da due tecniche di immagine od anche da una sola in caso di valori di AFP superiori a 400 ng/ml). Nel porre l'indicazione all'indagine bioptica, viene inoltre raccomandato di valutare il rapporto rischio/benefico della procedura, ed in particolare l'impatto della conferma istologica sulla scelta terapeutica finale.

Accuratezza

Utilizzando la guida ecografica, con o senza l'impiego di dispositivi di guida, la diagnosi ottenuta con aghi sottili per la citologia o per l'istologia é risultata corretta nell'83.3% dei pazienti con EC di dimensioni inferiori o uguali a 3 cm (Fornari et al., 1994).

L'esame citologico presenta una sensibilità del 75-90% ed una specificità del 100% (Bret et al., 1988; Sbolli et al., 1990; Longchamp et al., 2000). La diagnosi differenziale citologica è tuttavia difficile od impossibile nei casi di lesioni ben differenziate, che rappresentano la maggior parte delle piccole lesioni. Per ottimizzare l'accuratezza diagnostica sono state proposte diverse strategie, tra cui il prelievo con ago sottile (microistologia) sia sulla lesione che sul circostante parenchima extratumorale (Kondo et al., 1989) e l'esecuzione contemporanea di un prelievo per l'esame citologico ed uno per l'esame microistologico (Sangalli et al., 1989).

Vari studi, tra cui uno multicentrico (Buscarini et al., 1990), hanno dimostrato che: a) la biopsia percutanea guidata con ago sottile ha una specificità del 100%; b) il prelievo microistologico non comporta un chiaro vantaggio diagnostico significativo rispetto al prelievo citologico; c) l'impiego della doppia biopsia (prelievo citologico ed istologico) determina un significativo miglioramento della sensibilità diagnostica, fino al 97.5% (Buscarini et al., 1990; Caturelli et al., 1996; Huang et al., 1996). La scelta tra prelievo microistologico e citologico dipende anche dalla disponibilità locale di competenze citologiche orientate verso la problematica dell'EC.

Viene inoltre riportata una minor accuratezza della biopsia per noduli situati nei segmenti di difficile accesso per l'ecografista, in particolare quelli posteriori e superiori (Durand et al., 2001).

Nelle forme ben differenziate rimane valido il criterio che l'esame istologico comparativo del nodulo e del tessuto cirrotico circostante fornisce i criteri diagnostici migliori (Kondo et al., 1989; Sangalli et al., 1989). Infine, va considerato che, nell'impossibilità di ottenere una sensibilità del 100%, la negatività dell'indagine bioptica non permette di escludere la diagnosi di EC (Durand et al., 2001).

Complicanze

Le complicanze più comunemente riportate in corso di biopsia epatica sono quelle emorragiche (ematoma intraparenchimale ed emoperitoneo), con una frequenza cumulativa di complicanze maggiori (comprendenti

le più rare peritoniti biliari, pneumotorace, infezioni locali e shock anafilattici legati all'anestesia locale) dello 0.05-0.18% (Livraghi et al., 1983; Fornari et al., 1989). Fornari riporta due casi di decesso per complicanze emorragiche in seguito a biopsia di EC su cirrosi (Fornari et al., 1989).

Un'altra complicanza maggiore è costituita dalla disseminazione tumorale lungo il tragitto dell'ago (*seeding*), in particolare a livello dei tessuti sottocutanei. Sebbene considerata rara, è riportata con una frequenza fino al 2-3.4% con aghi di grosso calibro (Huang et al., 1996; Kim et al., 2000).

Un rischio particolarmente elevato di complicanze maggiori (emorragie e *seeding*) è stato riportato con aghi trancianti di grosso calibro rispetto a quelli sottili per aspirato citologico (Buscarini et al., 1990) ed in seguito a biopsia di epatocarcinomi sottocapsulari (Fornari et al., 1989; Smith, 1991). Altro fattore di rischio per il *seeding* tumorale è il numero di passaggi dell'ago attraverso il parenchima (Kim et al., 2000).

In conclusione, la biopsia ecoguidata è un utile strumento diagnostico in casi selezionati. Il suo utilizzo va riservato ai noduli in cui le tecniche non invasive non sono in grado di fornire una diagnosi definitiva (noduli su fegato cirrotico di diametro 1-2 cm e noduli di dimensioni maggiori, in cui non vi sia dimostrazione di ipervascolarizzazione arteriosa ad almeno due tecniche di *imaging*). Nella valutazione del rapporto rischio/beneficio, vanno considerati i risvolti terapeutici conseguenti alla conferma diagnostica, che nel caso della biopsia è ottenuta con una tecnica invasiva non priva di rischi.

5.5 Diagnosi istologica e citologica

Morfogenesi

L'avvento del trapianto di fegato, come terapia chirurgica di elezione per la cirrosi epatica anche complicata da EC, ha permesso di studiare a fondo sui campioni di epatectomia totale i precursori morfologici dell'EC su cirrosi e le possibili vie di sviluppo cancerogeniche.

Le vie morfologiche di cancerogenesi epatica nell'uomo sono essenzialmente due:

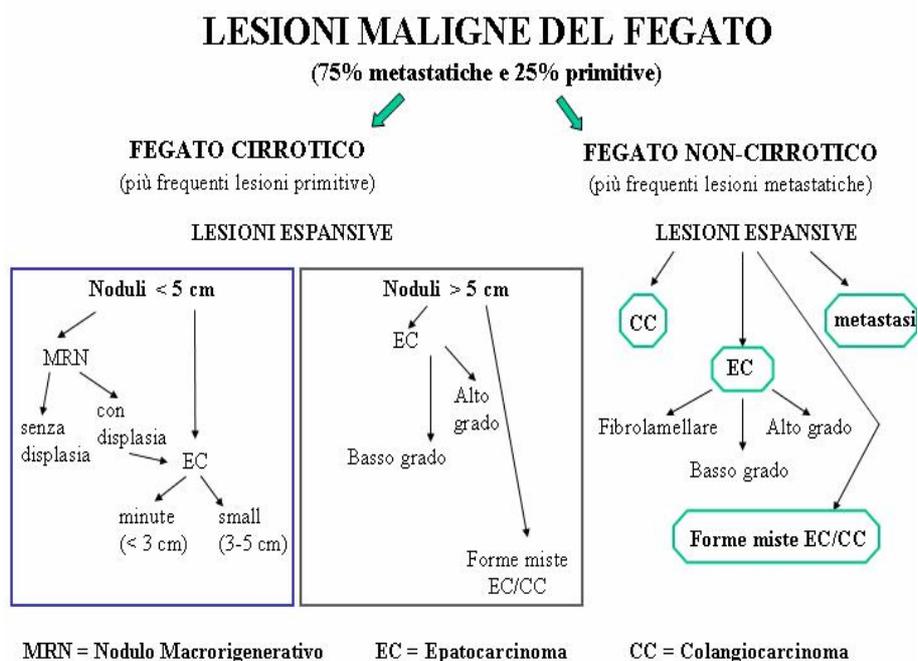
- 1) Trasformazione neoplastica degli epatociti tramite dedifferenziamento di epatociti maturi pre-esistenti;
- 2) proliferazione aberrante di elementi cellulari staminali epatici (cellule ovali) (Sell et al., 2002).

Le due vie cancerogenetiche possono essere seguite dai tumori che insorgono sia su fegato cirrotico che non e la principale differenza consiste nella presenza di lesioni istologiche precancerose (noduli displastici) nei tumori che insorgono da epatociti maturi dedifferenziati e nella loro completa assenza nei tumori che derivano direttamente da elementi staminali.

La via più comune di sviluppo dell'EC su cirrosi passa attraverso le seguenti tappe morfologiche: 1) nodulo macrorigenerativo 2) nodulo macrorigenerativo displastico 3) nodulo neoplastico (Furuya et al., 1988; Grigioni et al., 1998). Queste tappe possono essere percorse anche da più noduli contemporaneamente nell'ambito dello stesso fegato cirrotico. Parallelamente, esistono fegati cirrotici dove il completamento delle tappe morfologiche non avviene o avviene più lentamente. Infine, esistono casi in cui nell'ambito di un fegato cirrotico, in assenza di lesioni pre-neoplastiche, si sviluppa un solo nodulo di EC ad alto grado istologico e ad alta aggressività biologica. In questi casi si ipotizza che il tumore possa originare dalla proliferazione aberrante di cellule staminali epatocitarie.

Anche l'EC su fegato non cirrotico non si associa alla presenza di lesioni pre-neoplastiche, poichè l'evento cancerogenetico interessa direttamente gli epatociti e non è mediato dallo stimolo rigenerativo protratto dei noduli cirrotici. L'incidenza di EC su fegato non-cirrotico è in calo nel nostro Paese, grazie alla diminuzione della trasmissione materno-fetale e giovanile di virus epatitici e al miglioramento delle condizioni igienico-alimentari (Figura 1).

Figura 1 Rappresentazione schematica delle lesioni maligne del fegato



Aspetto macroscopico

La classificazione macroscopica degli epatocarcinomi contempla tre categorie: 1) nodulo singolo; 2) noduli multipli; 3) infiltrante.

Questa classificazione, anche se datata, è ancora attuale e conserva una buona correlazione con la prognosi. I noduli singoli o multipli possono essere capsulati o meno e mostrare variabili percentuali di necrosi macroscopica, anche in relazione ad eventuali trattamenti loco-regionali subiti. La problematica di diagnosi differenziale macroscopica si pone per i tumori che insorgono su fegato cirrotico tra noduli rigenerativi e EC di piccole dimensioni e per i tumori che insorgono su fegato non-cirrotico tra EC, metastasi e adenomi epatocellulari. In tutti questi casi, le aree macroscopiche di necrosi, la consistenza molle, il colore giallo-verdastro variegato possono essere criteri favorevoli la diagnosi di EC, anche se non chiaramente distintivi.

I carcinomi riscontrati in fase iniziale furono originariamente classificati come “tumori precoci” quando di dimensioni inferiori a 5 cm. Successivamente questo termine incorporò fino a 3 nodi inferiori a 3 cm

sulla base della buona sopravvivenza dopo trapianto di fegato (Mazzaferro et al., 1996). Più recentemente, sulla spinta di patologi cinesi e giapponesi è stato coniato il termine “tumore molto precoce” per tumori di minute dimensioni (<2 cm) e peculiari caratteristiche istopatologiche (Kojiro, 2002).

Aspetto microscopico

Da un punto di vista istologico, l'EC è costituito da epatociti neoplastici che tendono a mantenere le principali caratteristiche morfologiche e fenotipiche degli epatociti normali, come ad esempio la produzione di bile e fibrinogeno, l'accumulo di steatosi e l'espressione del gene della albumina (D'Errico et al., 1996) (Figura 2). I principali criteri diagnostici istologici di EC sono: 1) perdita della architettura sinusoidale del fegato; 2) alterazione della trama vascolare sinusoidale; 3) affollamento nucleare degli epatociti; 4) basofilia dei citoplasmici degli epatociti; 5) presenza di figure mitotiche atipiche; 6) presenza di strutture microacinari (Kondo et al., 1989) (Figura 3). Per contro, le atipie nucleari (nucleoli e cromatina) ed il polimorfismo cellulare non rappresentano criteri diagnostici affidabili.

Figura 2 Epatocarcinoma a struttura solida, grado III di Edmonson (EE, 20X), con espressione omogenea di citocheratina 8 e 18 (DAB, 20X) e di RNA messaggero per il gene dell'albumina (NBT, 20X)

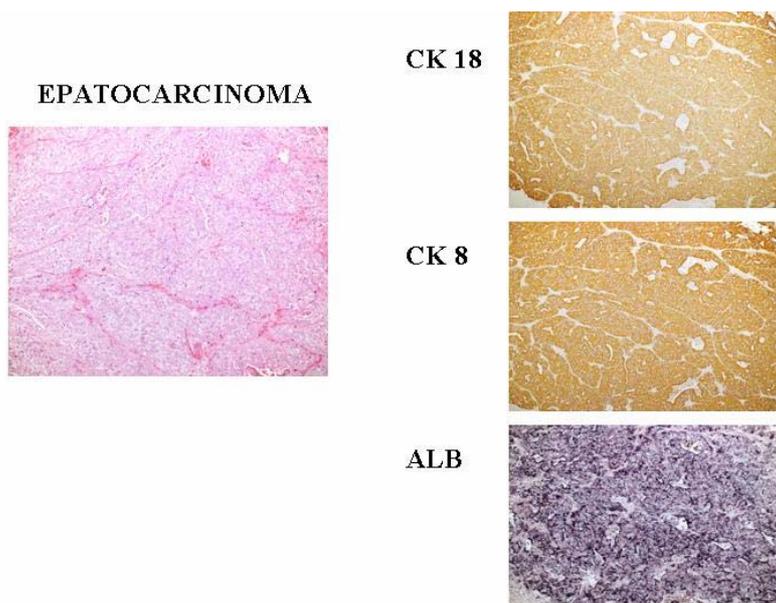
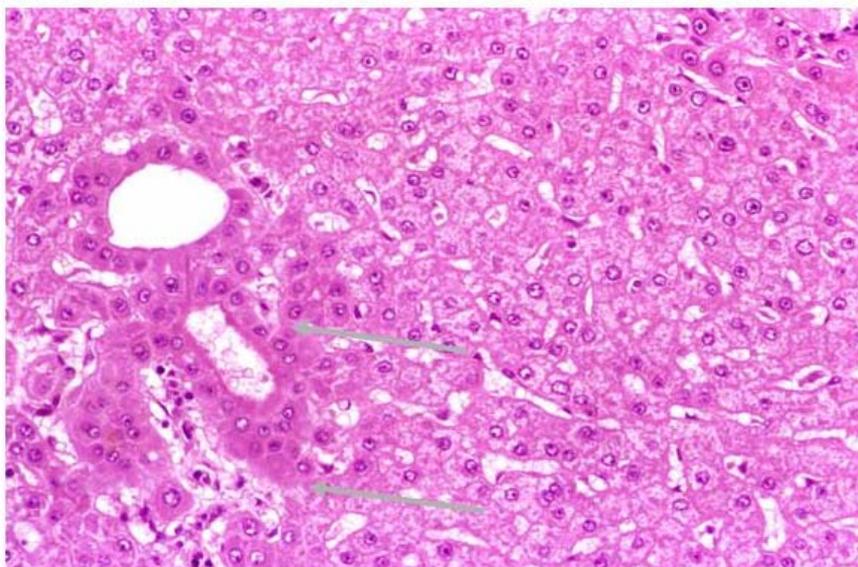


Figura 3 Nodulo macrorigenerativo con focolaio di epatocarcinoma, rappresentato dalla presenza di microacini (EE, 40X)



La composizione cito-architetturale degli epatociti neoplastici definisce la struttura istologica dell'EC. Si distinguono una struttura solida caratterizzata da nidi compatti di epatociti neoplastici; una struttura micro-acinare costituita da epatociti neoplastici, talora aggregati in strutture rotondeggianti rigide "acinari" a contenuto biliare; una struttura trabecolare in cui lamine di epatociti neoplastici si alternano a spazi vascolari neoformati. Il tipo di struttura istologica determina in gran parte il grado di differenziazione e tuttavia si può verificare la presenza di aree di EC a struttura diversa nell'ambito di uno stesso tumore.

Nell'ambito di un EC possono presentarsi anche componenti istologiche differenti che devono comunque essere segnalate. Le varianti istologiche dell'EC più comuni sono la varietà a cellule chiare, sarcomatoide, solida a morfologia neuroendocrina, pelioide, scirroso e a cellule giganti.

Una considerazione a parte meritano i tumori misti epato-colangiocellulari o da collisione (Tickoo et al., 2002). Queste neoplasie costituiscono una minima parte dei tumori primitivi del fegato e rappresentano, in chiave morfogenetica, il risultato della trasformazione neoplastica di cellule staminali del fegato in grado di potersi

differenziare sia in senso epatocitario sia in senso biliare. Questi tumori mostrano un aspetto istologico misto con aree di EC alternate ad aree di colangiocarcinoma di tipo periferico in proporzioni variabili e devono essere considerate tali anche se un aspetto è rappresentato solo minimamente.

La variante fibrolamellare dell'EC è stata a lungo considerata a parte nelle classificazioni anatomo-patologiche per l'eziologia, le peculiarità morfologiche e soprattutto per la prognosi considerata più favorevole. Questi tumori sono costituiti da epatociti neoplastici organizzati in cordoni e immersi in uno stroma fibroso denso che conferisce al tumore un aspetto macroscopico non dissimile da quello della iperplasia nodosa focale di cui per lungo tempo il carcinoma fibrolamellare è stato considerato l'evoluzione maligna. L'orientamento attuale porta a ritenere che il carcinoma fibrolamellare sia una variante dell'EC con intrinseche caratteristiche fenotipiche (focale positività per marcatori endocrini), ma con una prognosi non diversa da quella dell'EC convenzionale e quindi infausta.

Problemi di diagnosi differenziale istologica

La diagnosi istologica di EC è di solito immediata su preparati istologici riferiti a pezzi chirurgici mentre può comportare alcune difficoltà su campioni biotici con ago sottile, in particolare in caso di diagnosi differenziale con adenomi epatocellulari in fegato sano e con noduli macrorigenativi in fegato cirrotico. In questi casi valgono sempre i criteri istologici enumerati precedentemente (Kondo et al., 1989) e può essere di ausilio al patologo l'impiego di metodiche aggiuntive come l'impregnazione argentea per la valutazione della trama sinusoidale, la valutazione della endotelizzazione dei sinusoidi tramite immunocolorazione con anticorpo anti-CD34 (Scott et al., 1996; Roncalli et al., 1999) e la determinazione immunohistochimica dell'indice proliferativo MIB-1.

In particolare, la diagnosi differenziale tra EC a basso grado ed adenoma epatocellulare deve essere molto accurata perché gli adenomi epatocellulari sono lesioni completamente benigne, ma possono mostrare atipie citologiche e strutturali marcate, molto simili a quelle che si riscontrano nell'EC. Il criterio guida è quello di non escludere mai la possibilità di un adenoma epatocellulare in fegato non cirrotico, anche di fronte a marcate atipie, specie nel caso di pazienti giovani con pregresso uso di ormoni steroidei.

Un altro importante problema diagnostico istologico è rappresentato dalla presenza di displasia epatocellulare a grandi e piccole cellule nell'ambito di noduli macrorigenerativi cirrotici (Borzio et al., 2003). La displasia epatocellulare a grandi cellule è caratterizzata da un marcato polimorfismo degli epatociti con nuclei ingranditi e bizzarri. La displasia a piccole cellule, invece, è caratterizzata da epatociti con scarso citoplasma e da un marcato affollamento nucleare. Queste caratteristiche possono rendere la diagnosi differenziale con l'EC a basso grado, talora difficile soprattutto in campioni bioptici. Nei casi in cui non sono soddisfatti tutti i criteri morfologici diagnostici di EC, si suggerisce di formulare la diagnosi di nodulo macrorigenerativo con displasia epatocellulare. Per convenzione, tali lesioni per l'alto potenziale di trasformazione neoplastico, indipendentemente dal quadro istologico, devono essere biologicamente considerate EC ben differenziati.

Grado

Il sistema più diffuso di gradazione dei carcinomi epatocellulari è quello di Edmondson e contempla 4 gradi di differenziazione (Craig et al., 1998).

Grado I: tumori estremamente ben differenziati costituiti da epatociti apparentemente regolari ma con alterazioni della vascolarizzazione, incremento dell'indice mitotico e focali formazioni microacinari.

Grado II: tumori a prevalente struttura microacinare e solida.

Grado III: tumori a prevalente struttura solida e trabecolare ad alto indice mitotico. In questo grado rientrano le forme a cellule chiare.

Grado IV: carcinomi ad alto grado, indifferenziati a struttura solida e alto indice mitotico. In questo grado rientrano anche le forme sarcomatoidi e a cellule giganti.

Criteri minimi di diagnosi anatomo-patologica

La diagnosi anatomo-patologica bioptica di EC deve comprendere almeno una indicazione del grado secondo Edmondson, della struttura e della eventuale presenza di aree di istotipi non convenzionali (es. cellule chiare).

La diagnosi anatomo-patologica su pezzo chirurgico di resezione epatica segmentaria deve prevedere un adeguato campionamento del tumore (almeno un prelievo per cm della massa) e deve fornire le indicazioni riguardanti il grado secondo Edmondson, la presenza di invasione neoplastica vascolare, il tipo di struttura istologica, l'eventuale interessamento della trancia di resezione epatica, il tipo, il grado e lo

stadio della eventuale epatopatia cronica nel parenchima circostante, lo stadio TNM del tumore.

La diagnosi anatomico-patologica su campione di epatectomia totale per cirrosi deve prevedere un accurato campionamento di tutti i noduli rigenerativi maggiori di 0.5 cm e fornire indicazioni riguardanti il numero di lesioni neoplastiche, la loro localizzazione per segmento epatico, il grado secondo Edmondson, la presenza di invasione neoplastica vascolare, il tipo di struttura istologica, il tipo, il grado e lo stadio della eventuale epatopatia cronica nel parenchima circostante, lo stadio TNM del tumore.

5.6 Predittori istologici e molecolari

La prognosi a lungo termine dell'EC rimane insoddisfacente a causa dell'alta frequenza di recidive e di foci metastatici, che sono la causa principale di morte dei pazienti trattati con ablazione chirurgica o percutanea. I convenzionali fattori clinico-patologici quali il grado, dimensione del tumore, stadio ed invasione vascolare non sono in grado di predire la prognosi in modo accurato, in quanto recidive di EC si presentano anche in stadi precoci (Adachi et al., 1995).

Nonostante i numerosi studi per comprendere il meccanismo di sviluppo degli EC, tuttavia, specifici indicatori da utilizzare nella routine a scopo prognostico non sono ancora disponibili. Negli ultimi anni, le nuove acquisizioni nell'area della biologia dei tumori hanno aperto la strada all'utilizzo di marcatori molecolari.

La conversione da cellule normali a maligne si associa ad una catena di mutazioni a carico di oncogeni e geni oncosoppressori. Le alterazioni molecolari di questi geni possono essere indicative dello sviluppo, progressione e differenziamento dei tumori e aiutano a stabilire un'associazione tra evoluzione del tumore e sopravvivenza del paziente e disegnare nuovi approcci terapeutici.

Negli EC, i marcatori più studiati sono quelli correlati alla proliferazione cellulare, regolatori del ciclo cellulare, molecole di adesione, fattori di crescita e loro recettori, proteasi che degradano la matrice extracellulare e fattori angiogenetici (Qin et al., 2002; Nanashima et al., 2004).

Proliferazione cellulare. Diversi antigeni (PCNA, Ki-67 o MIB-1) sono stati usati come marcatori di proliferazione di cellule tumorali. Un alto indice proliferativo, in combinazione con le caratteristiche istopatologiche, è uno dei più utilizzati marcatori per la definizione del

fenotipo aggressivo della neoplasia, in grado di predire recidiva del tumore e sopravvivenza del paziente (Ito et al, 1999; Ouchi et al., 2000).

Apoptosi. Proliferazione e apoptosi sono strettamente correlati nello sviluppo di EC. La sovraespressione di Bcl-xL, una proteina anti-apoptosi della famiglia di Bcl-2, è significativamente correlata alla progressione dell'EC (Watanabe et al., 2004).

Survivin. Di recente introduzione, è lo studio di survivin, una proteina anti-apoptotica della famiglia IAP, che appare avere un ruolo anche nella tumorigenesi e nella progressione dell'EC, in quanto promuove la proliferazione cellulare interagendo con Cdk4 con rilascio di p21 (Ito et al., 2000). L'espressione di survivin, presente in circa il 40% degli EC e non osservata nel tessuto circostante macroscopicamente sano, appare essere associata direttamente alla proliferazione (MIB-1) e inversamente all'indice apoptotico ed avere un ruolo sul decorso clinico, in termini di ripresa ed intervallo libero da malattia (Ikeguchi et al. 2002; Fields et al. 2004). Inoltre, la sua espressione è associata alla presenza di infezione virale (HCV) e studi preliminari indicano come l'espressione di VEGF, HIF-1 α e fattori angiogenici, interferiscono sul pathway di survivin (O'Connor et al., 2000).

Attività telomerastica. L'espressione dell'attività della ribonucleoproteina telomerasi nell'estendere e stabilizzare i telomeri delle cellule tumorali, è stata identificata come predittiva di recidiva dopo resezione per EC (Kobayashi et al., 2001).

Regolatori del ciclo cellulare. Una complessa rete di meccanismi che coinvolge chinasi (cdks), fosfatasi (cdc), inibitori del ciclo cellulare (cdki) e cicline è responsabile della corretta progressione del ciclo cellulare. Difetti nei meccanismi di controllo, a livello dei *check points* G1/S e G2/M, possono contribuire ad una proliferazione incontrollata della cellula, favorendo lo sviluppo e la progressione della neoplasia. E' stato osservato come la sovraespressione delle cicline A, D ed E sia correlata con l'insorgenza di recidiva e prognosi peggiore (Ohashi et al., 2000). Tra gli inibitori del ciclo cellulare, la proteina p27, regolatore negativo del ciclo cellulare, sembra avere un ruolo importante ed è candidata ad essere uno dei nuovi e potenti marcatori prognostici negli EC. Una ridotta espressione di p27 è un indicatore prognostico indipendente di scarsa sopravvivenza (Ito et al., 1999; Fiorentino et al., 2000). Recentemente è stato osservato come anche la perdita di p16, altro componente della famiglia cdki, sia strettamente correlata all'inattivazione funzionale di p27 quindi la sua valutazione, nei casi in

cui vi sia un'elevata espressione di p27, può essere utile per una più precisa formulazione prognostica (Matsuda et al., 2003). Anche la overespressione di due fosfatasi, cdc25A e cdc2, sembra essere associata ad una prognosi sfavorevole (Ito et al., 2000; Xu et al., 2003).

Le alterazioni a carico della proteina p53, che controlla l'arresto cellulare in risposta a danni al DNA, sono state ampiamente studiate negli EC, con risultati non univoci. Mutazioni nel gene p53 o l'espressione nucleare della proteina mutata, valutata con metodo immunostochimico, possono essere marcatori di prognosi sfavorevole (Sugo et al., 1999; Qin et al., 2002).

Molecole di adesione. Il controllo dell'adesione è fondamentale nella aggressività biologica delle neoplasie; infatti, le molecole d'adesione intercellulare sono da considerare tra gli attori primari della trasformazione neoplastica in quanto implicate non soltanto nell'associazione meccanica tra cellula e cellula, ma anche strutture dinamiche che elaborano segnali bidirezionali rispetto alla membrana, in grado di regolare la polarità, la differenziazione, la proliferazione cellulare, l'apoptosi, la migrazione e l'invasione. Le molecole d'adesione più significative per gli EC sono le E-caderine, beta-catenine e varianti della molecola CD44. Caderine e catenine hanno un importante ruolo nei tumori epiteliali e qualsiasi significativo cambiamento nell'espressione o struttura di questi componenti porta alla perdita di adesione ed è implicato nella perdita di differenziazione del tumore e nello sviluppo di un fenotipo invasivo. L'epitelio normale della cellula esprime E-caderina e β -catenina sulla membrana delle cellule.

Un numero crescente di studi riporta un'espressione aberrante (rispetto al tessuto normale) di E-caderina e β -catenina nelle neoplasie umane, compresi gli EC. In particolare, la diminuita espressione di E-caderina, osservata nella maggior parte degli EC soprattutto se avanzati, si associa a prognosi infausta (Huang et al., 1999; Endo et al., 2000; Matsumura et al., 2001). Per contro, risultati discordanti sono stati ottenuti da diversi ricercatori per quanto riguarda l'espressione di β -catenina intesa sia come positività nucleare che come alterazioni nell'espressione di membrana, e l'associazione con la sopravvivenza (Nhieu et al., 1999; Hsu et al., 2000; Mao et al., 2001; Wong et al., 2001; Inagawa et al., 2002). La molecola CD44 regola le interazioni cellula-cellula e cellula-matrice e si presenta come isoforme multiple, differenzialmente iperespresse in ambito neoplastico. In particolare, alcune sue varianti (CD44s, CD44v5-8, CD44v10) appaiono essere indicatori prognostici negli EC (Endo, Terada, 2000).

Fattori di crescita e loro recettori. L'iperespressione di molti oncogeni che codificano per fattori di crescita come ras, c-myc, HGF o per recettori come c-met, ErbB1/EGFR ed Erb2/neu è stata osservata nella cancerogenesi e nella progressione degli EC. Accanto ad una rilevanza prognostica (Kawate et al., 1999; Ito et al., 2001), per questi marcatori si intravede anche un possibile ruolo terapeutico (Altissimi et al., 2003).

Proteasi. Alcune proteasi coinvolte nella degradazione della matrice extracellulare come le metalloproteinasi di matrice (MMP) e il sistema di attivazione del plasminogeno (PA) giocano un ruolo importante nel processo di invasione e metastasi negli EC. In particolare, MT1-MMP, MMP-2, MMP-9 ed il rapporto con i loro inibitori tissutali (TIMP-1, TIMP-2) hanno mostrato di avere implicazioni prognostiche (Maata et al., 2000; Giannelli et al., 2002). All'interno del sistema di attivazione del plasminogeno UPA, UPAR e PAI-1 si sono dimostrati associati con aggressività tumorale e prognosi peggiore (Zheng et al., 2000).

Angiogenesi. L'ipervascolarizzazione che frequentemente caratterizza l'EC ha indotto a condurre numerosi studi sulla regolazione dell'angiogenesi, al fine di identificare marcatori di potenziale rilevanza diagnostica, prognostica e terapeutica (Jang et al., 2000). I risultati finora raccolti indicano che aspetti correlati all'angiogenesi (VEGF, *vascular endothelial growth factor*; MVD, *micro-vessel density*) possono trovare applicazioni cliniche per meglio definire la strategia terapeutica per il singolo tumore (El-Assal et al., 1998; Sun et al., 1999). Inoltre, la complessità del processo angiogenico suggerisce di considerare accanto agli stimoli angiogenici tumorali (espressione di recettori specifici) anche marcatori correlati alla risposta endoteliale per avere un quadro più completo della relazione tra gli eventi molecolari che regolano l'angiogenesi tumorale e l'architettura della rete vascolare. Una considerazione a parte meritano i marcatori prognostici per pazienti con EC, trattati con trapianto ortotopico di fegato, nei quali le recidive sono decisamente inferiori rispetto a quelle assunte nei pazienti trattati con resezione. In considerazione della scarsa disponibilità di organi, la disponibilità di marcatori associati a basso rischio di recidiva sarebbe utile per la selezione dei pazienti candidati al trapianto. Accanto a parametri isto-patologici, come grado e invasione vascolare, alcuni marcatori biologici (MIB-1, E-Caderina, β -catenina) hanno dimostrato un valore prognostico (Jonas et al., 2001).

6.0 L'ALGORITMO DELLA DIAGNOSI PRECOCE

Negli ultimi anni la percentuale di pazienti con diagnosi di carcinoma epatico (EC) avanzato è andata riducendosi di circa il 30% grazie allo sviluppo di programmi di sorveglianza che ha favorito la diagnosi precoce del tumore. La sorveglianza riguarda i pazienti con cirrosi compensata e si fonda sull'esecuzione dell'ecografia addominale (US) e del dosaggio dei livelli sierici di AFP ad intervalli di 6 mesi (Bruix et al., 2001). La sorveglianza ha contribuito a ridurre la mortalità epatospecifica, poiché ha favorito l'applicazione di trattamenti radicali (Bolondi et al., 2001; Sangiovanni et al., 2004).

L'evoluzione della definizione di diagnosi precoce di EC

Il volume ideale che definisce il EC precoce, non è mai stato definito. Due-tre decenni fa, agli albori della diagnosi precoce, i tumori di volume inferiore a 5 cm erano considerati diagnosi precoci (*early-cancer*) poiché favorivano il trattamento curativo con resezione chirurgica (Sheu et al., 1985). Vent'anni dopo, il concetto di carcinoma precocemente identificato si allargò a comprendere fino a 3 nodi tumorali di dimensioni inferiori a 3 cm, grazie all'eccellente sopravvivenza (75%) a 5 anni di pazienti con questi tumori trattati con trapianto ortotopico di fegato (Mazzaferro et al., 1996: criteri Milano). Nell'ultimo decennio i patologi asiatici hanno focalizzato la loro attenzione sui tumori di volume di 2 cm (*minute tumors*), che appaiono di eterogenea comparazione e diversa risposta al trattamento resettivo o di ablazione loco-regionale (Kojiro, 2002). Questa categoria include infatti tumori ben differenziati (tipo indistinto) che si comportano come "carcinomi in situ" e tumori distinti con minore differenziazione cellulare e presenza di metastasi intravascolari (10%) e satelliti perinodulari (25%) (Sakamoto et al., 1998; Takayama et al., 1998). I primi tumori (*very early cancer*) sono ipovascolari all'esame contrastografico TC/RM e rispondono meglio alle cure dei secondi, che sono ipervascolari agli esami di immagine.

L'algorithmo diagnostico

In linea di principio, nei pazienti con cirrosi la comparsa di una lesione focale epatica che all'esame US è ipoecogenica o iperecogenica, dovrebbe essere considerata o una lesione pre-neoplastica (nodulo di macrorigenerazione) oppure un tumore e pertanto richiede sempre approfondite indagini. La diagnosi di EC si fonda sull'esame istologico ecoassistito e su tecniche di immagine contrastografiche (Tabella 1).

Tabella 1 Criteri diagnostici per carcinoma epatocellulare proposti durante la Conferenza dell'Associazione Europea per lo Studio del Fegato (EASL) di Barcellona (Bruix et al., 2001)

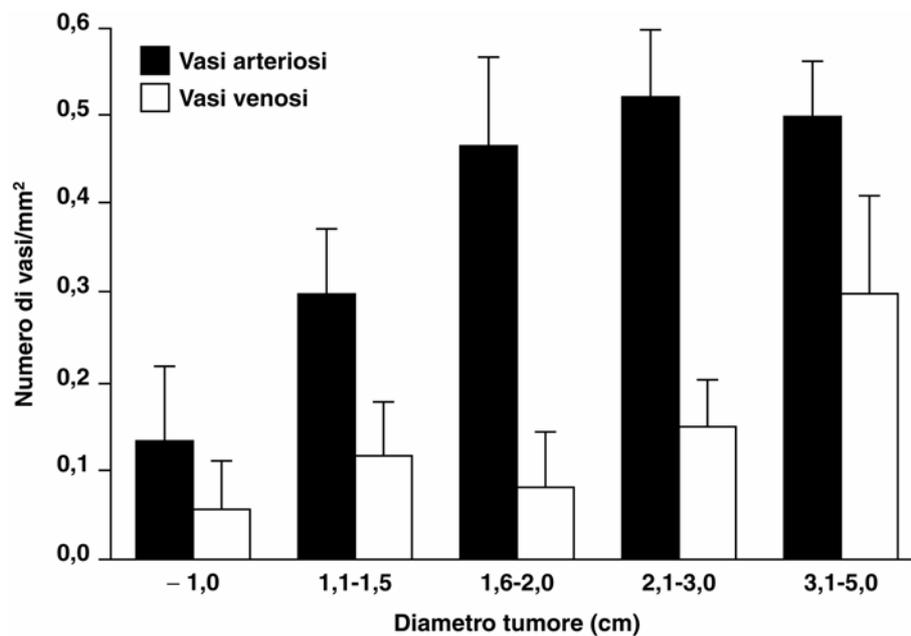
<ul style="list-style-type: none">• Criteri cito-istologici• Criteri non-invasivi (validi solo nei pazienti cirrotici)<ol style="list-style-type: none">1. Criteri radiologici:<ul style="list-style-type: none">Due tecniche di immagine coincidenti*Lesione focale ≥ 2 cm con ipervascolarizzazione arteriosa2. Criteri combinati:<ul style="list-style-type: none">Una tecnica d'immagine associata ad AFP:<ul style="list-style-type: none">lesione focale ≥ 2 cm con ipervascolarizzazione arteriosaAFP ≥ 400 ng/ml
--

* delle quattro tecniche d'immagine: US, TC spirale, RM e angiografia

L'investigazione con TC/RM sfrutta il principio della ipervascolarizzazione arteriosa dell'EC rispetto al fegato cirrotico circostante che, nutrito dalla vena porta, non capta mezzo di contrasto nella fase precoce arteriosa. Gli EC di dimensioni uguali o maggiori di 2 cm che si sviluppano nel fegato cirrotico sono relativamente facili da diagnosticare, poiché hanno una ricca vascolarizzazione arteriosa. La diagnosi di EC è pressoché certa quando compare un nodo ipervascolarizzato nella fase arteriosa di TC spirale trifasica o RM ed è assoluta quando un simile nodo si sviluppa in pazienti con livelli sierici di AFP superiore a 400 ng/ml (Bruix et al., 2001). Nella pratica clinica,

tuttavia, tumori di queste dimensioni con livelli di AFP di 400 ng o più sono rari. La diagnosi di EC può essere difficile in pazienti con noduli di volume compreso tra 1 e 2 cm, a causa di una incompleta vascolarizzazione arteriosa. Infatti, il rapporto tra vasi arteriosi e vasi venosi non appaiati aumenta con l'aumentare del volume dei nodi tumorali (Kojiro, 2002) (Figura 1). Uno studio in pazienti candidati a trapianto ortotopico di fegato, ha dimostrato la superiorità della ricostruzione vascolare con RM rispetto alla TC spirale trifasica nella diagnosi di EC di dimensioni comprese tra 1 e 2 cm (Burrel et al., 2003).

Figura 1 Rapporto tra numero dei vasi arteriosi e venosi non appaiati presenti nei noduli di epatocarcinoma di varie dimensioni



Entrambe le procedure dimostravano insufficiente sensibilità diagnostica per tumori di volume inferiore a 1 cm ed assoluta accuratezza diagnostica per tumori maggiori di 2 cm (Tabella 2).

Tabella 2 Superiorità della risonanza magnetica (RM) rispetto alla tomografia assiale computerizzata spirale (TC) nell'identificazione di epatocarcinoma (Burrel et al., 2003)

Volume tumore (mm)	Numero tumori	Tumori identificati con RM	Tumori identificati con TC	
< 10	22	7 (22%)	2 (10%)	n.s.
11-20	19	16 (84%)	9 (47%)	p=0.04
> 20	6	6 (100%)	6 (100%)	n.s.

Nei nodi inferiori a 2 cm con diagnosi incerta sulla base di tecniche di immagine, la diagnosi conclusiva può essere fornita dall'uso combinato di aspirato citologico e di aghi biotici per microistologia con prelievo intranodulare ed extranodulare. Con l'approccio combinato intra ed extranodulare, l'accuratezza diagnostica per EC sale a valori di 84% rispetto al 54% dell'esame microistologico solo intranodulare (Tabella 3) (Borzio et al., 1994).

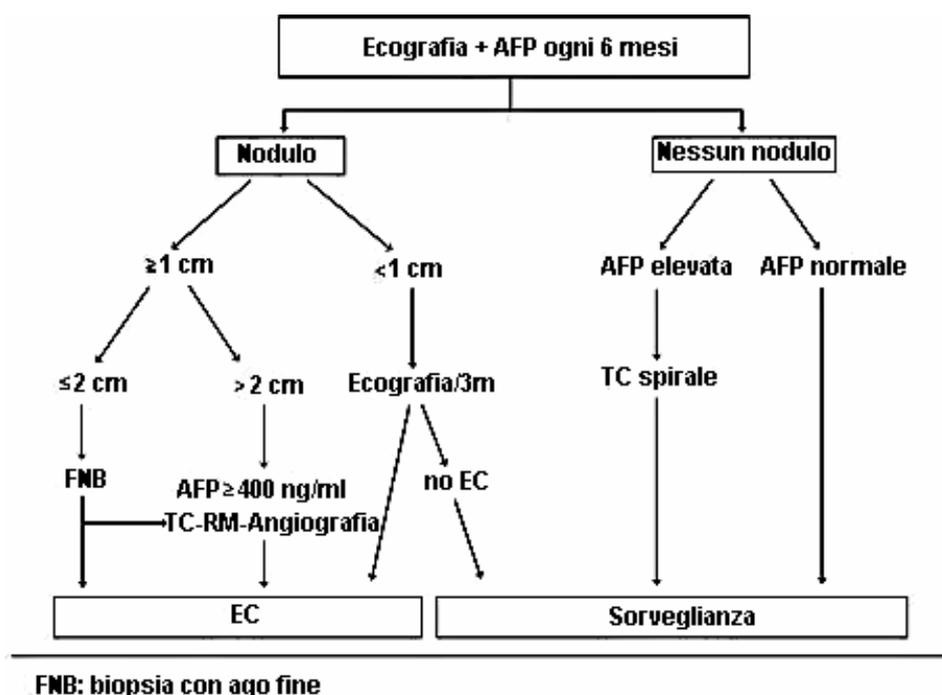
Tabella 3 Accuratezza diagnostica dell'agoaspirato (A) e del prelievo microistologico (B) di 36 noduli ≤2 cm in pazienti con cirrosi compensata (Borzio et al. 1994)

Prelievo	Accuratezza diagnostica (%)
Intra + extranodulare A + B	85
Intranodulare A + B	78
Intra + extranodulare B	67
Intranodulare B	54
Intranodulare A	31

L'approccio basato sull'esame citologico richiede però la disponibilità di patologi addestrati alla lettura di esami citologici e l'esame istologico in genere è gravato dai costi di degenza in Day-Hospital. L'accertamento citologico e/o istologico è indicato nei pazienti privi di controindicazioni emorragiche, nei quali è richiesta una diagnosi definitiva prima di intraprendere un trattamento chirurgico. Le complicanze della biopsia con ago fine sono rare ed includono emoperitoneo (<0,5%) e rischio di

inseminamento del tumore lungo il tragitto dell'ago (1,6%) (Kim et al., 2000; Takamori et al., 2000; Durand et al., 2001). Quest'ultima complicanza è probabilmente maggiore nella biopsia di tumori voluminosi, situati alla periferia del fegato e dedifferenziati. Nel caso di noduli non risolti con tecniche di immagine e con biopsia epatica, l'approccio più redditizio è quello di monitorare l'accrescimento dei noduli con esami US periodici. In più casi, controlli distanziati ad intervalli di 3 mesi (*enhanced follow-up*) permettono di ottenere la diagnosi definitiva nell'arco di un anno (Bruix et al., 2001) (Figura 2). In rari casi, l'EC ha una crescita infiltrativa e diffusa che non si concretizza all'esame US con l'immagine di un nodulo. Mentre in alcuni pazienti, l'*ecopattern* dell'esame US è decisamente sospetto (*coarse/nodular*), in altri esso è sostanzialmente sovrapponibile a quello della cirrosi non complicata da EC. Durante la sorveglianza con US alcuni pazienti privi di noduli presentano incrementi dei livelli sierici di AFP ed in alcuni di questi casi, l'esecuzione di TC trifasica/RM può identificare una neoplasia a crescita infiltrante. In molti casi, invece, l'aumento di AFP riflette semplicemente recrudescenza dell'epatite cronica. In casi selezionati, l'arteriografia epatica transcatetere può risolvere la diagnosi in noduli di dubbia interpretazione alla TC o RM, poiché permette il riconoscimento della caratteristica vascolarizzazione neoplastica. Va sempre ricordato che i noduli privi di ipervascolarizzazione arteriosa in TC/RM non sono risolti neppure dall'esame arteriografico, in quanto privi di adeguati vasi arteriosi. Nell'algoritmo diagnostico dell'EC elaborato dalla Conferenza Monotematica di Barcellona 2000 (Figura 2) non trova ancora spazio l'ecografia con mezzo di contrasto (Sonovue) e l'eco-doppler. Queste metodiche, tuttavia, sono già utilizzate nella pratica clinica per la diagnosi di EC, ma attendono ancora di essere prospettivamente validate per la diagnosi precoce. La diagnosi differenziale dell'EC precocemente identificato è più difficile con i macronoduli di rigenerazione displastici, visto che una buona quota (20%) di questi hanno un *pattern* contrastografico arterioso alla TC simile a quello del EC (Fracanzani et. al., 2001). La diagnosi differenziale di EC include anche i tumori metastatici, il carcinoma neuroendocrino ed il colangiocarcinoma (AISF 2003).

Figura 2 Algoritmo della sorveglianza dei pazienti con cirrosi compensata e dell'approccio diagnostico dell'epatocarcinoma



Conclusioni

Nel 2000 una Conferenza Monotematica ha suggerito consolidati criteri per la classificazione diagnostica (*recall policy*) delle lesioni focali identificate con US nei pazienti a rischio di EC. Vi è generale concordia nel considerare i pazienti con cirrosi quali candidati ideali alla sorveglianza con US ed AFP finalizzata alla diagnosi precoce di EC. La sorveglianza ha ridotto la mortalità epatospecifica nei pazienti con EC, poiché ha favorito l'applicazione di efficaci trattamenti antitumore e questo è stato reso possibile da una più corretta stadiazione della malattia, cioè dalla corretta valutazione di numero e volume dei nodi tumorali, stato di benessere del paziente e funzione del fegato.

7.0 STADIAZIONE

I criteri per la diagnosi di EC sono stati definiti nel corso della Conferenza Monotematica di Barcellona del 2000 (Bruix et al., 2001). Non altrettanto definiti sono i criteri di stadiazione. Lo scopo della stadiazione è offrire uno strumento al medico per scegliere le più opportune modalità di cura. Poiché la scelta delle modalità di cura è influenzata dallo stadio evolutivo del tumore, è ovvio che i sistemi di stadiazione sono anche in grado, in parte, di predire la prognosi del paziente con tumore. A differenza della maggior parte delle altre neoplasie, per le quali i sistemi di stadiazione sono ben codificati ed universalmente accettati, nell'EC i sistemi di stadiazione proposti non sono condivisi da tutti.

Una delle ragioni che rende difficile la stadiazione dell'EC è legata al fatto che nella quasi totalità dei casi, l'epatocarcinoma insorge in pazienti affetti da cirrosi epatica. Pertanto, la stadiazione del tumore non può non tener conto della severità della sottostante malattia epatica che il più delle volte è l'elemento condizionante la prognosi del paziente.

Secondo la Conferenza di Barcellona la stratificazione prognostica dei pazienti affetti da EC deve inoltre tener conto delle condizioni generali del paziente e delle prospettive terapeutiche di ciascun individuo. In altre parole un sistema integrato di stadiazione per l'EC, per essere realmente completo, dovrebbe includere multidimensionalmente le caratteristiche del tumore, la funzionalità epatica, le condizioni generali di salute e la potenzialità terapeutica.

In tale prospettiva l'uso di *score* basati su di un unico set di variabili da utilizzare per l'intera popolazione di pazienti affetti da EC appare prognosticamente inadeguato, mentre sarebbe opportuno considerare diversi stadi ognuno con le proprie specifiche variabili prognostiche in relazione soprattutto alle chances terapeutiche disponibili.

Lo *score* più largamente utilizzato per la valutazione della gravità e della prognosi della malattia epatica è lo *score* di Child-Pugh.

Classificazione di Child-Pugh

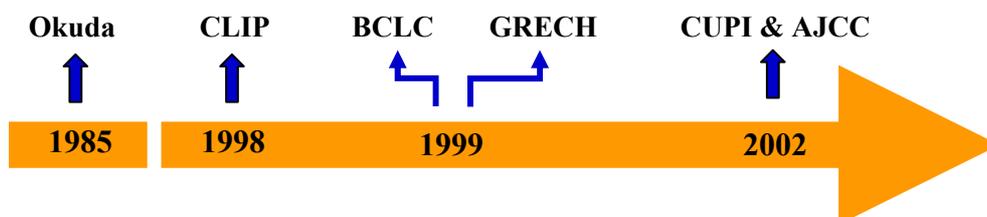
Punteggio	Bilirubina (mg %)	Attività protrombinica	Albumina (g %)	Ascite	Encefalopatia (grado)
1	< 1.5	> 70%	> 3.5	Assente	0
2	1.5-2.3	40-70%	2.8-3.5	Trattabile	1-2
3	> 2.3	< 40 %	< 2.8	Non trattabile	3-4

Stadio	Punteggio
A	5-6
B	7-9
C	≥ 10

Il principale difetto della classificazione CHILD è la scarsa capacità predittiva legata al fatto che non tiene conto della variabilità clinica e biochimica della malattia, spontanea o indotta dall'intervento del medico. Sarebbe vantaggiosa l'elaborazione di un CHILD *score* dinamico che tenga conto delle caratteristiche cliniche presenti nei mesi precedenti la valutazione.

Un sistema di stadiazione per essere accettato ed utilizzabile deve essere anche semplice e riproducibile. Sono state proposte diverse classificazioni che presentano vantaggi e svantaggi in relazione agli specifici obiettivi che il clinico si pone di valutare. Di seguito è una breve descrizione dei principali sistemi di stadiazione dell'EC, in ordine strettamente cronologico, scelta che consente anche la ricostruzione dell'evoluzione del pensiero sull'argomento.

Sistemi di stadiazione dell'epatocarcinoma



Il primo sistema fu proposto da Okuda et al. (1985) ed include variabili che valutano la funzione epatica (ascite, albumina, bilirubina) in associazione alle dimensioni del tumore, grossolanamente valutata. Tre stadi identificano 3 differenti livelli di prognosi della malattia. Questa classificazione ha il limite di essere stata disegnata con un approccio retrospettivo, su pazienti con malattia avanzata al momento della diagnosi, situazione che oggi si presenta solo nel 50% dei casi. In questo sistema, importanti parametri prognostici come uni- o multifocalità, invasione vascolare e presenza di localizzazioni extraepatiche non sono inclusi.

Il sistema di stadiazione del tumore epatico secondo Okuda

Estensione del tumore >50% del fegato
 Ascite +/-
 Albumina <3 g/dl
 Bilirubina >3 mg/dl

Grado	Caratteristiche
I	Assenza di fattori
II	Presenza di 1 o 2 fattori
III	Presenza di 3 o 4 fattori

La stadiazione CLIP (*Cancer of the Liver Italian Program*) è stata disegnata da un gruppo italiano, utilizzando un *data base* di 435 pazienti, con l'intento di superare i limiti delle classificazioni TNM e Okuda (CLIP, 1998). Infatti, la classificazione CLIP include la funzione epatica secondo Child-Pugh, la morfologia macroscopica del tumore (uninodulare, multinodulare, massivo), l'estensione nel fegato, i valori diagnostici di AFP e la presenza di trombosi portale. La combinazione delle diverse variabili segrega i pazienti in 6 categorie: il CLIP è stato validato prospettivamente (CLIP, 2000). Rispetto a Okuda e Child-Pugh (Levi et al., 2002), il CLIP ha dimostrato maggiore accuratezza prognostica e maggiore capacità di discriminare gruppi omogenei.

Il sistema di stadiazione del tumore epatico secondo CLIP

	0	1	2
VARIABILI			
Classe di Child-Pugh	A	B	C
Morfologia del tumore	uninodulare ed estensione $\leq 50\%$	multinodulare ed estensione $\leq 50\%$	massiva o estensione $> 50\%$
Alfa-fetoproteina (ng/dl)	< 400	≥ 400	
Trombosi della vena porta	no	si	

La stadiazione BCLC (*Barcelona Clinic Liver Cancer*) fu proposta nel 1999 come strumento per suddividere in categorie i pazienti suscettibili di trattamento curativo (resezione, trapianto) rispetto a quelli proponibili solo per trattamento palliativo (Llovet et al., 1999).

Tale classificazione è l'unica sinora proposta che rispetta pienamente le caratteristiche individuate dalla Conferenza EASL di Barcellona, cioè tiene conto di tutte le quattro principali variabili dell'EC e considera diversi stadi evolutivi ciascuno con i propri fattori predittivi.

Lo *score*, basato sui valori di *performance status*, numero dei noduli, invasione vascolare, grado Child-Pugh, stratifica i pazienti in 4 gruppi a rischio crescente di mortalità. Per ciascun gruppo corrisponde un diverso approccio terapeutico. Gruppo A (stadio iniziale), candidato a terapia radicale (resezione, trapianto, PEIT/RF); gruppo B e C (stadi intermedio ed avanzato), per i quali non è possibile applicare una terapia curativa ma suscettibili di terapia palliativa; gruppo D (stadio terminale), per il quale è proponibile solo terapia sintomatica.

La classificazione BCLC sembra particolarmente efficace nello stratificare i pazienti con EC trattati con terapie potenzialmente radicali come dimostrato in un recente studio retrospettivo (Cillo et al., 2004). Manca tuttavia una sua validazione prospettica.

Il sistema di stadiazione del tumore secondo BCLC

Stadio	Caratteristiche del tumore	Parametri epatici
Stadio A (EC iniziale)		
A1 PST 0	Nodulo unico	Assenza di ipertensione portale, livelli ematici di bilirubina nella norma
A2 PST 0	Nodulo unico	Ipertensione portale, livelli ematici di bilirubina nella norma
A3 PST 0	Nodulo unico	Ipertensione portale, livelli ematici di bilirubina alterati
A4 PST 0	3 noduli, minori di 3 cm	Child-Pugh A-B
B (EC intermedio) PST 0	Multinodulare (estesi)	Child-Pugh A-B
C (EC avanzato) PST 1-2	Invasione vascolare ed estensione extraepatica	Child-Pugh A-B
D (EC terminale) PST 3-4	Altro	Child-Pugh C

PST: Performance Status Test

Lo *score* proposto da Chevret et al. (1999) fornisce una semplice classificazione per la valutazione della sopravvivenza in pazienti affetti da EC. Utilizzando un *data base* di 761 pazienti, l'analisi multivariata identificava 5 variabili correlate alla prognosi. Lo score classifica i pazienti in 3 gruppi con decrescente tasso di sopravvivenza ad un anno.

Il sistema di stadiazione del tumore epatico secondo Chevret et al.

Parametri	Score			
	0	1	2	3
Indice di Karnofsky	≥ 80			< 80
Bilirubina (μmol/L)	< 50			> 50
Fosfatasi alcalina (ULN)	< 2		> 2	
Alfa-fetoproteina (μg/l)	< 35		> 35	
Ostruzione portale (determinata ecograficamente)	no	si		

Il CUPI (*Chinese University Prognostic Index*) è un indice prognostico elaborato su una coorte di 926 pazienti cinesi (Leung et al., 2002), che combina TNM, parametri clinici e bioumorali. Il CUPI si è dimostrato

superiore alla stadiazione di Okuda, TNM e CLIP nel predire la sopravvivenza, ma non è stato confermato in pazienti occidentali.

Il sistema di stadiazione del tumore epatico secondo CUPI

Stadio TNM	Score
I e II	- 3
IIIa e IIIb	- 1
IVa e IVb	0
Paziente asintomatico	- 4
Ascite	3
Alfa-fetoproteina \geq 500 ng/ml	2
Bilirubina totale (μ mol/l)	
< 34	0
34-51	3
\geq 52	4
Fosfatasi alcalina \geq 200 unità/l	3

Rischio	Punteggio
Basso	< 1
Medio	2-7
Alto	> 8

Un ulteriore *scoring system* multidimensionale di recente pubblicazione è il JIS (*Japanese Integrated Staging*) (Kudo et al., 2003). Questo score prognostico, che si basa su una combinazione tra una versione giapponese del TNM e le caratteristiche della cirrosi secondo Child-Pugh, è stato validato su di una coorte di oltre 4.000 pazienti giapponesi affetti da EC (Kudo et al., 2004). In tale studio il JIS è risultato più efficace del CLIP. Il disegno dello score tuttavia sembra adattarsi più alla stratificazione prognostica di pazienti a destino terapeutico non chirurgico visto il valore differenziativo attribuito alle dimensioni del nodulo con cut-off a 2 cm, come rimarcato in una recente review di Wildi (2004).

Il sistema TNM (*Tumour Node Metastasis*), è giunto nel 2002 ormai alla sua sesta revisione da parte dell'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC) (Greene et al., 2002). I criteri di classificazione prendono in considerazione le caratteristiche del tumore primario, la presenza di metastasi linfonodali e quella delle metastasi a distanza e stratificano i pazienti in 4 gruppi. Il principale limite di questa stadiazione è di non

includere parametri di funzione epatica e di richiedere indagini invasive. Attualmente è utilizzato in combinazione con altri criteri, come Child-Pugh per la valutazione della funzionalità epatica.

Il sistema di stadiazione del tumore del fegato secondo TNM

Stadio	Tumore (T)	Linfonodi (N)	Metastasi (M)
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
IIIA	T3	N0	M0
IIIB	T4	N0	M0
IIIC	Qualsiasi T	N1	M0
IV	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1

Calcolo dei fattori TNM

T1	Singola lesione senza invasione vascolare
T2	Singola lesione con invasione vascolare, o noduli multipli, tutti <5 cm
T3	Noduli multipli >5 cm o interessamento tumorale della maggior parte della vena porta o delle vene epatiche
T4	Lesione singola o multipla con invasione diretta degli organi adiacenti oltre che della cistifellea, o con perforazione del peritoneo viscerale
N0	Assenza di metastasi regionali ai linfonodi
N1	Metastasi regionali ai linfonodi
M0	Assenza di metastasi a distanza
M1	Metastasi a distanza

L'orientamento della comunità degli epatologi è di utilizzare sistemi di stadiazione diversificati in relazione alla prognosi, trattamento e stadio della malattia (Bruix et al., 2001). La sorveglianza ecografica e l'attuale approccio terapeutico hanno notevolmente migliorato la prognosi dei pazienti con EC (Sangiovanni et al., 2004). Allo stato attuale, lo *score* CLIP è l'unica classificazione validata in maniera prospettica in differenti pazienti ed aree geografiche. La sua capacità prognostica e

discriminante sembra superiore ad altre classificazioni. Essendo, però, limitata dalla bassa sensibilità per tumori piccoli, non è accurata per guidare la scelta del trattamento.

La stadiazione BCLC, validata prospetticamente in USA e Italia, facilita la categorizzazione dei pazienti in relazione al trattamento ed in particolare è dotata di buona sensibilità nell'identificare pazienti candidati alle terapie curative (Grieco et al., 2005; Marrero et al., 2005). L'obiettivo di una stadiazione universalmente accettata è molto ambizioso e potenzialmente utile per migliorare l'accuratezza della prognosi nel singolo paziente, favorire la selezione dei pazienti alle diverse terapie ed infine per identificare gruppi omogenei dei pazienti per confronti di efficacia terapeutica.

Sintesi dei vantaggi e svantaggi delle diverse classificazioni

Score	Semplicità	Accuratezza prognostica	Validazione prospettica	Confronto prospettico con altri score	Valutazione funzione epatica
Okuda	+++	Bassa	Si	Si	Si
TNM	+	Bassa	Si	Si	No
CLIP	+++	Alta	Si	Si	Si
BCLC	++	Alta	No	No	Si
French	++	Buona	No	No	Si
CUPI	+	Alta	No	Si	Si

8.0 STORIA NATURALE

Prima dell'avvento delle attuali raffinate tecniche di diagnosi, che consentono di identificare l'epatocarcinoma (EC) molto precocemente, la storia naturale di questo tumore coincideva con la sua fase clinica. Pertanto, anche nel mondo occidentale essa non differiva molto da quella riportata nei Paesi in via di sviluppo, dove la diagnosi viene generalmente posta alla comparsa di sintomi ed è caratterizzata da un decorso rapidamente fatale. Oggi, la conoscenza della storia naturale dell'EC si è estesa alla fase preclinica; ciò ha modificato radicalmente le concezioni del passato ed ha permesso di cogliere le diversità nell'evoluzione della malattia in relazione ai fattori che la determinano.

In effetti, l'EC ha una lunga storia naturale che si compone di varie fasi. La *fase molecolare* precede e sottende la comparsa di un fenotipo cellulare neoplastico; in essa si verifica un graduale accumulo di mutazioni genetiche e di fenomeni epigenetici che orientano la cellula verso la trasformazione neoplastica (vedi capitolo 2). La cellula capostipite del clone neoplastico, come suggerito dagli studi di cancerogenesi sperimentale, può essere un epatocita, un biliocita o una cellula staminale epatica (D'Errico et al., 1996). Nell'uomo, la durata di questa fase non è nota. Una parte rilevante della storia dell'EC si svolge nella *fase preclinica* che, a sua volta, comprende un primo periodo, in cui la neoplasia è troppo piccola (<1 cm) per essere identificata con le tecniche di diagnosi per immagini ed un secondo periodo in cui il tumore è identificabile, ma resta asintomatico (Figura 1). L'ultima fase è quella *clinica (sintomatica)* che, nei pazienti con epatopatia cronica, inizia allorché l'EC raggiunge un diametro di 4.5-8 cm (Yuen et al., 2000; Trevisani et al., 2003).

La storia naturale del piccolo (<5 cm) EC asintomatico è oggi abbastanza delineata: il tempo medio di raddoppiamento del volume del tumore varia, nei diversi studi, da 112 a 204 giorni e per i singoli noduli da 30 a 600 giorni (Tabella 1). Questa notevole variabilità è il risultato sia del diverso grado di attività citoproliferativa che delle variazioni di questa nel tempo; infatti, in un terzo dei noduli la crescita ha un andamento lineare, in un terzo assume una cinetica iperbolica (inizialmente molto lenta seguita da un'accelerazione) ed in un terzo presenta una cinetica opposta, parabolica (Barbara et al., 1992). Allo scopo di ricostruire l'intera fase preclinica ci si può avvalere dello studio di Cheng et al. (2002).

Figura 1 Potenziali cellule progenitrici e fasi della storia naturale del carcinoma epatocellulare. Ad ogni tappa corrisponde un aspetto fenotipico del tumore

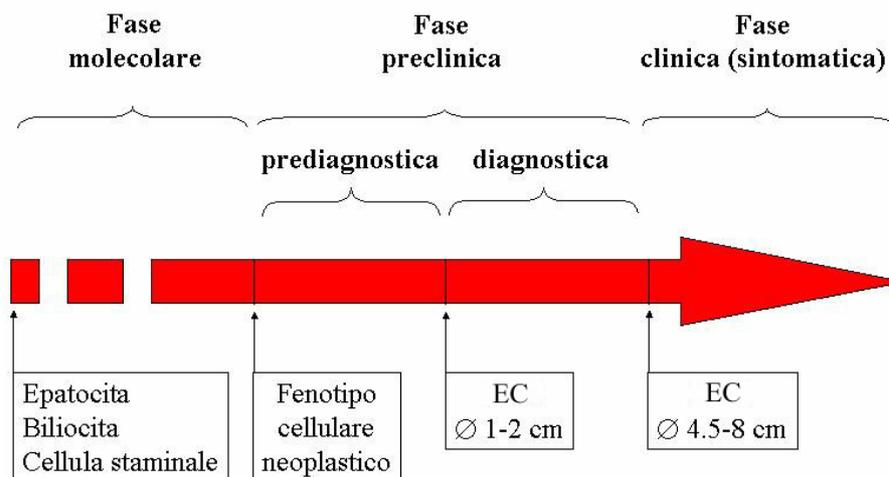


Tabella 1 Tempi di raddoppiamento del volume del piccolo epatocarcinoma

Autore/anno	EC (n.)	Media (giorni)	Intervallo (giorni)
Yoshino, 1983	17	119	48-140
Sheu, 1985	31	136	29-398
Ebara, 1986	21	195	30-585
Okazaki, 1989	15	102	41-305
Barbara, 1992	59	204	27-606
Okada, 1993	27	112	34-420

Questi autori hanno ipotizzato che la crescita dell'EC possa essere descritta con due modelli matematici: quello gompertziano (il cui andamento è rappresentabile con una S italiana) e quello iperbolico. Utilizzando i dati disponibili sul tempo di raddoppiamento del volume dell'EC, il modello gompertziano prevede che il tempo necessario ad una cellula neoplastica per formare un tumore di 5 cm sia di 350 mesi (intervalli di confidenza al 95%: 120-550 mesi), mentre un nodulo di

1 cm ne impiegherà 150 (C.I. 95%: 53-248 mesi). Invece, il modello di crescita rapida esponenziale prevede per lo stesso nodulo un tempo medio di 48 mesi (C.I. 95%: 17-79 mesi).

Pertanto, alcuni tumori possono impiegare anni prima di raggiungere una dimensione tale (1-2 cm) da essere identificati, mentre altri possono palesarsi a distanza di pochi mesi da un precedente accertamento negativo. Inoltre, alcuni pazienti possono albergare il tumore per diversi anni prima che questo diventi sintomatico.

Fattori che determinano la storia naturale

Velocità di crescita ed aggressività biologica dell'EC sono determinate sia dalle caratteristiche della neoplasia che da fattori extratumorali. Sebbene non in tutte le casistiche (Barbara et al., 1992), i tumori a rapida crescita hanno una prognosi peggiore di quelli a lenta crescita (Okazaki et al., 1989).

Fattori tumorali

Grado di differenziazione e tipo istologico. Grado di anaplasia cellulare e tipo istologico condizionano la velocità di crescita (Barbara et al., 1992), la tendenza all'invasione microvascolare (Esnaola et al., 2002) e la propensione a sviluppare metastasi (Antony, 1973; Trevisani et al., 1995).

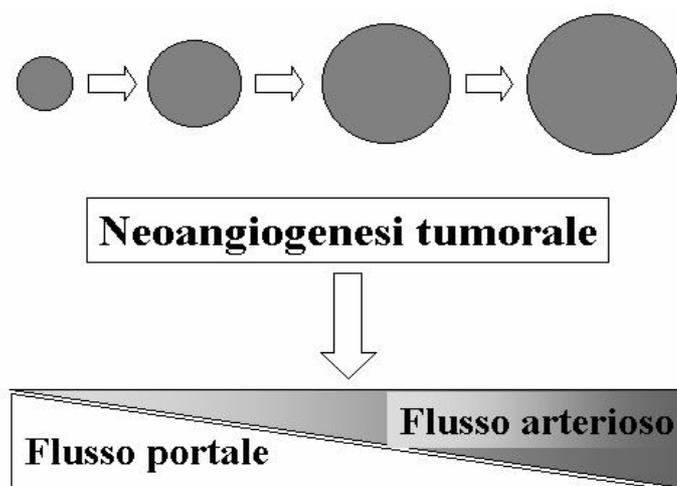
Nel tumore a crescita espansiva, grado di differenziazione cellulare e dimensioni sono correlati: l'EC nasce come tumore ben differenziato (i noduli <2 cm risultano quasi sempre ben differenziati), ma nel corso del suo accrescimento, per il sommarsi di nuove mutazioni genomiche, compaiono cloni cellulari indifferenziati, dotati di marcata attività proliferativa e ridotta coesione intercellulare, che ne aumentano l'aggressività biologica (Nakanuma et al., 1986; Sugihara et al., 1992). L'invasione microvascolare è generalmente rilevabile dopo che il tumore ha raggiunto un diametro di 2 cm, ma è presente anche prima in un quarto dei casi (Esnaola et al., 2002). Nell'EC multifocale non è stata, invece, osservata una relazione fra numero di noduli e grado di atipia del nodulo indice sottoposto a biopsia (Trevisani et al., 1995).

Tipo di crescita. La modalità di crescita del nodulo rispetto al tessuto adiacente (espansiva con compressione del parenchima circostante o infiltrante, caratterizzata dall'insinuarsi di elementi neoplastici nelle trabecole epatiche o anche nei sinusoidi) condiziona il formarsi di una

capsula tumorale e può influenzare la prognosi dopo resezione (Grigioni et al., 1990).

Neoangiogenesi. L'EC è un tumore ipervascolarizzato e la neoangiogenesi è un processo fondamentale per il suo accrescimento. Infatti, all'aumentare delle sue dimensioni, la perfusione della massa neoplastica viene assicurata, in misura crescente, da neovasi atipici di tipo arterioso (processo di "arterializzazione" del nodulo) mentre si riduce il contributo fornito dal sistema portale (Figura 2). La neovascolarizzazione arteriosa conferisce all'EC un comportamento patognomonico alle indagini radio-ecografiche che impiegano un mezzo di contrasto (vedi capitolo 5) e fornisce il presupposto biologico per i trattamenti chemioterapici intra-arteriosi e la terapia anti-angiogenica. Inoltre, il grado di destrutturazione vascolare del tumore ne predice l'aggressività. Uno studio prospettico ha dimostrato una relazione fra densità dei microvasi neoplastici e probabilità di recidiva del tumore resecato (Poon et al., 2002).

Figura 2 Con l'aumentare delle dimensioni del nodulo la neoangiogenesi tumorale determina una progressiva "arterializzazione" del tessuto neoplastico, riducendo di pari passo il contributo fornito dal sistema portale. Questo fenomeno conferisce all'epatocarcinoma un comportamento patognomonico alle indagini radio-ecografiche che impiegano un mezzo di contrasto e fornisce il presupposto biologico per i trattamenti chemioterapici intra-arteriosi loco-regionali e la terapia anti-angiogenica



Marcatori bio-istologici. Una caratteristica bioistologica capace di conferire all'EC una particolare aggressività è la mutazione del recettore per gli estrogeni, normalmente presente nell'epatocita. Tale mutazione fa sì che l'attività recettoriale non risenta della stimolazione estrogenica e si associa ad un fenotipo tumorale caratterizzato da rapida crescita e prognosi peggiore (Villa et al., 2000).

Infine, l'aggressività biologica dell'EC può essere predetta dall'analisi di altri marcatori bio-istologici quali gli indici di citoproliferazione, i regolatori del ciclo cellulare e dell'apoptosi, l'attività telomerasica e le molecole di adesione (vedi capitolo 5).

Fattori extratumorali

Risposta immunitaria. La risposta immunitaria dell'ospite condiziona la storia naturale di ogni neoplasia e l'EC non sfugge a questa regola. Infatti, il tumore presenta una crescita rapida ed una maggiore tendenza alla diffusione metastatica nei pazienti immunodepressi, quali i soggetti sottoposti a trapianto di fegato (Roayeie et al., 2004). Inoltre, aggressività biologica e tendenza alla recidiva dopo resezione sono inversamente proporzionali ad alcuni parametri di immunocompetenza, quali la densità dell'infiltrato linfocitario presente nel nodulo (Wada et al., 1998; Yin et al., 2003) e l'attività delle cellule "natural killer" dell'ospite (Taketomi et al., 1998).

Sesso. Il sesso maschile è un sicuro fattore di rischio per la comparsa di EC in corso di epatopatia cronica (Tanaka et al., 2000). Alcuni studi (Falkson et al., 1988; Trevisani et al., 2002), ma non altri (Llovet et al., 1999, El Serag et al., 2001), indicano che l'appartenenza al sesso maschile condiziona sfavorevolmente anche la prognosi. Maggior rischio oncologico e maggiore aggressività dell'EC nel maschio potrebbero essere ricondotti all'azione promuovente l'oncogenesi del testosterone (Tanaka et al., 2000; Rao et al., 2002).

Età. Molti studi identificano nell'età avanzata un fattore prognostico sfavorevole. In realtà, non esistono evidenze di una maggiore aggressività biologica dell'EC nell'anziano; questo effetto sembra piuttosto derivare dall'impatto sfavorevole dell'età sull'attesa di vita, sulla gravità della concomitante epatopatia, sulla presenza di comorbidità e sulle possibilità di terapia.

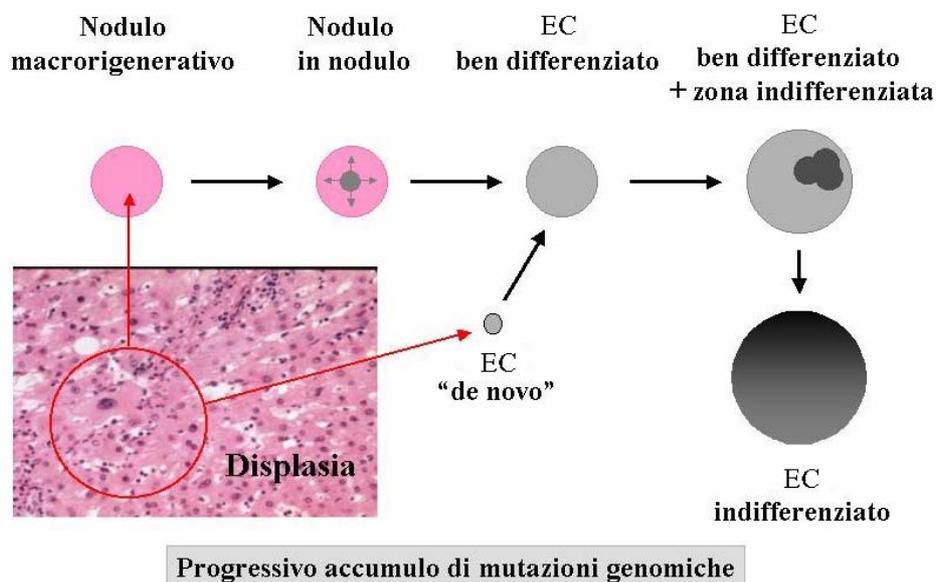
Tappe istologiche della carcinogenesi

Nel mondo occidentale ed in Giappone, più dell'80% degli EC insorgono in un fegato cirrotico. In questi fegati, il tumore può svilupparsi nel contesto di un macronodulo rigenerativo (MR: nodulo con diametro >0.5 cm e ben distinguibile dal parenchima circostante, con architettura istologica del nodulo cirrotico), configurando una carcinogenesi “*nodulo in nodulo*”, oppure “*de novo*” in un'area del fegato macroscopicamente simile al parenchima circostante. MR e tessuto circostante sovente presentano alterazioni citologiche, quali la displasia a grandi o piccole cellule, o una rigenerazione irregolare (Nakanuma et al., 1986). Sia la cancerogenesi “*nodulo in nodulo*” che quella “*de novo*” prevedono un modello di progressivo accumulo di mutazioni, “promosse” dallo stimolo proliferativo, che includono lo sbilanciamento allelico, la perdita di eterozigosi e l'instabilità microsatellitare (Yeh et al., 2001).

Gli MR, la cui prevalenza nel fegato cirrotico si aggira intorno 25% (Theise et al., 1992, Borzio et al., 2003), vengono classificati in grande nodulo rigenerativo senza displasia (LRN, *large regenerative nodule*), nodulo a basso grado di displasia (LGDN, *low-grade dysplastic nodule*) e nodulo ad alto grado di displasia (HGDN, *high-grade dysplastic nodule*) (International Working Party, 1995). Il rischio di trasformarsi in EC aumenta col grado di displasia: durante un follow-up medio di 33 mesi Borzio et al. (2003) hanno osservato un tasso di trasformazione del 22% per i LRN del 25% per i LGDN e del 63% per gli HGDN. L'80% degli EC che compaiono in fegati con MR sono frutto della trasformazione di uno di questi. Circa il 15% dei MR può invece scomparire durante il follow-up (Borzio et al., 2003). Gli MR possono anche essere classificati come monoclonali e policlonali; i primi, derivati dall'espansione clonale di un'unica cellula, hanno un maggior rischio di degenerazione (Paradis et al., 1998).

Sotto l'aspetto istopatologico, la cancerogenesi “*nodulo in nodulo*” è caratterizzata dalla comparsa di un nido di cellule francamente neoplastiche nel contesto di un MR; tale nido, accrescendosi, trasforma il nodulo cirrotico in EC ben differenziato, nel contesto del quale, con il progredire della crescita, compariranno zone di maggiore atipia cellulare (Nakanuma et al., 1986) (Figura 3).

Figura 3 Tappe istologiche della carcinogenesi epatica “*nodulo in nodulo*” (all’interno di un nodulo macrorigenerativo) e “*de novo*” (in un’area del fegato macroscopicamente simile al parenchima circostante). In entrambi i casi, la displasia cellulare spesso precede la comparsa di cellule francamente neoplastiche



Fase clinica

Presentazione alla diagnosi

La presentazione clinica dell’EC è determinata da tre elementi: coesistenza di cirrosi, aggressività biologica del tumore e precocità di diagnosi. Le differenze a carico di questi aspetti rendono ragione delle diversità di presentazione clinica dell’EC nelle diverse aree geografiche del mondo, mentre, probabilmente, i fattori etnici hanno un ruolo ancillare.

Il tumore che insorge su fegato cirrotico nasce sovente come lesione unica, a crescita “espansiva” o “rimpiazzante” (Nakanuma et al., 1986), talora circondata da una pseudocapsula di tessuto fibroso, prodotta dall’addensamento e dalla collagenizzazione del reticolo stromale del tessuto circostante che, a loro volta, sono promossi dalla compressione

esercitata dalla massa tumorale. Tuttavia, le moderne tecniche di diagnosi per immagini rilevano un tumore multifocale in più di un terzo dei casi. La multifocalità è ancora oggi fortemente sottostimata nel fegato cirrotico: lo studio anatomopatologico di 30 fegati con EC espuntati dimostrò che l'accurata valutazione radiologica precedente il trapianto aveva colto la multicentricità del tumore solo in 15 dei 24 organi (62%) con EC multiplo (Rizzi et al., 1994). La multifocalità può essere frutto sia di una disseminazione intra-epatica per via portale della lesione madre sia di una carcinogenesi sincrona multicentrica. Quest'ultima forma di carcinogenesi è più frequente nei pazienti con infezione da HBV, nei quali rende ragione del 50% delle forme multifocali (Sheu et al., 1993). Nella genesi della multifocalità potrebbero essere in gioco anche fattori etnici, essendo più frequente nei pazienti caucasici rispetto a quelli giapponesi, e l'eziologia del danno epatico, risultando più comune nei soggetti con malattia ad eziologia multipla.

Nei pazienti caucasici, inoltre, l'infezione da HBV (da solo e, soprattutto, in associazione con l'HCV) rappresenta un fattore di rischio per la comparsa di EC a crescita infiltrante, la cui frequenza, comunque, è <10% dei casi (Benvegnù et al., 2001).

In Italia, secondo un recente studio multicentrico (Trevisani et al., 2002), il 45% degli EC che insorgono in corso di epatopatia cronica viene oggi diagnosticato in fase asintomatica, grazie a programmi di sorveglianza basati sulla ripetizione semestrale o annuale dell'ecografia epatica e del dosaggio dell'AFP; i rimanenti casi giungono alla diagnosi, in uguale proporzione, o casualmente (accertamenti clinici effettuati per altre motivi) o per la comparsa di sintomi riconducibili al tumore. Nel paziente con cirrosi i segni e sintomi che più comunemente si accompagnano alla diagnosi di EC sono, in ordine decrescente: epatomegalia, dolore, ittero, ascite, astenia-malessere, febbre, calo ponderale, emorragia digestiva, e l'encefalopatia epatica (Trevisani et al., 1995). Più del 60% degli EC diagnosticati in corso di sorveglianza si colloca nello stadio precoce (nodulo unico ≤ 5 cm o non più di 3 noduli ciascuno ≤ 3 cm, assenza di invasione vascolare e metastasi) secondo i criteri di Milano (Mazzaferro et al., 1996), mentre tale percentuale si riduce al 31% nei casi identificati al di fuori della sorveglianza. Circa l'80% degli EC mostra un grado di differenziazione intermedio (II o III di Edmonson) (Trevisani et al., 1995).

I tumori che insorgono in un fegato senza o con minimi segni istologici di sofferenza ed in assenza di una storia clinica di epatopatia (dal 9 al

54% dei casi, a seconda delle aree geografiche), sono quasi invariabilmente diagnosticati tardivamente perché al di fuori di programmi di sorveglianza. Si presentano come lesioni di grandi dimensioni, monofocali e sintomatiche. Questi tumori avrebbero una crescita accelerata e di tipo infiltrante, con più frequente riscontro alla diagnosi di invasione delle strutture vascolari e di metastasi (Antony, 1973; Trevisani et al., 1995). Tuttavia, tutto ciò potrebbe rappresentare un artefatto, frutto di una diagnosi tardiva, in quanto altri studi (Nzeako et al., 1996) riportano un grado di anaplasia cellulare simile all'EC del fegato cirrotico, una più frequente presenza di capsula, una minore propensione all'invasione vascolare venosa ed una simile frequenza di invasione biliare e metastasi.

Decorso clinico e prognosi

Lo stadio del tumore rappresenta un fattore prognostico di fondamentale importanza. Dimensioni e numero dei noduli, presenza di invasione dei vasi venosi (più spesso dei rami portali, ma talora anche delle vene sovraepatiche), metastasi e manifestazioni sistemiche ("sindrome costituzionale": anoressia, malessere generale e calo ponderale) sono, insieme alla funzione epatica residua, i principali elementi su cui si basano i più affidabili sistemi prognostici (vedi capitolo 7) e le scelte terapeutiche (vedi capitolo 9) per l'EC che insorge in corso di epatopatia cronica.

Esistono poche informazioni sulla prognosi dei pazienti con EC *non trattato*, soprattutto per i tumori diagnosticati in stadio precoce. In 22 pazienti orientali cirrotici (un terzo dei quali con cirrosi avanzata) con EC <3 cm il tasso di sopravvivenza a 1, 2 e 3 anni è risultato pari a 91%, 55% e 13%, rispettivamente (Ebara et al., 1986). In 39 pazienti italiani con EC <5 cm (15 dei quali con tumore multifocale fino a 3 noduli), i corrispondenti valori erano 81%, 56% e 21% (Barbara et al., 1992); tuttavia, considerando solo i casi con cirrosi inizialmente ben compensata, la sopravvivenza dei pazienti rimaneva elevata anche a 2 anni (82% vs. 36% dei casi in classe B-C di Child-Pugh). Se non trattati, i pazienti caucasici con EC inoperabile hanno sopravvivenze a 1, 2, 3 e 5 anni del 54-72%, 40-41%, 28-38% e 20%, rispettivamente (Llovet et al., 1999; Villa et al., 2000). Fra questi, coloro che non presentano sindrome costituzionale, invasione vascolare e metastasi hanno una sopravvivenza nettamente migliore (a 3 anni: 50% vs. 8% dei casi con almeno uno di tali aspetti). Nello stadio terminale, caratterizzato da un tumore occupante >50% con invasione macrovascolare, metastasi e

compromissione clinica generale, la sopravvivenza è di qualche settimana o pochi mesi (Nagasue et al., 1984; CLIP, 1998; Llovet et al., 1999).

Come già ricordato, la funzione epatica residua rappresenta un altro elemento prognostico cruciale, cosicché tutti i più attendibili sistemi prognostici per l'EC includono la sua quantificazione (vedi capitolo 7).

Il 30-70% degli EC secerne alfa-fetoproteina (AFP), elevandone i livelli circolanti; nella metà di questi casi si osserva un parallelismo fra incremento dell'AFP e dimensioni tumorali (Ebara et al., 1986). Anche il tempo di raddoppiamento dell'AFP si correla con quello del volume del nodulo (Sheu et al., 1985). Elevati livelli circolanti di AFP rappresentano un predittore indipendente di prognosi sfavorevole (CLIP, 1998; Trevisani et al., 2002). Infine, nei pazienti resecati, un'AFP elevata in fase pre-operatoria aumenta il rischio di recidiva neoplastica da carcinogenesi multicentrica metacrona (Kumada et al., 1997).

Le complicanze più frequentemente osservabili durante la progressione del tumore sono l'ascite, l'encefalopatia epatica, le infezioni batteriche e le emorragie digestive; inoltre, la metà dei pazienti liberi da dolore alla diagnosi sviluppa tale sintomo nei tre anni successivi (Llovet et al., 1999).

Nonostante la tendenza ad invadere il microcircolo ed i vasi venosi, l'EC tende a rimanere confinato nel fegato. Lo studio spagnolo già citato ha dimostrato che, nei 3 anni successivi alla diagnosi di EC inoperabili, circa un terzo dei pazienti presentava invasione dei vasi venosi, ma solo il 22% una diffusione metastatica (Llovet et al., 1999). La sede di metastatizzazione più comune è il polmone, seguito da linfonodi regionali, scheletro e ghiandole surrenali (Antony, 1973; Trevisani et al., 1995; Nzeaco et al., 1996).

Cause di morte e variazioni della mortalità nell'ultimo ventennio

La causa di morte più frequente è la progressione della neoplasia (circa il 60% dei casi in tutte le casistiche europee); le altre cause più comuni di decesso sono l'insufficienza epatica (7-30%), il sanguinamento digestivo (7-10%), le infezioni (2%), l'embolia polmonare (1%) (Llovet et al., 1999; Trevisani et al., 2003; Sangiovanni et al., 2004). La rottura del tumore con emoperitoneo è un evento quasi invariabilmente mortale, ma raro nelle casistiche occidentali.

Nei soggetti con EC insorto su fegato non cirrotico la causa di morte è quasi sempre rappresentata dalla progressione della neoplasia.

Nell'ultimo ventennio si è assistito ad un continuo affinamento delle tecniche diagnostiche, dei criteri di selezione per le diverse terapie e dei trattamenti per l'EC. Ciononostante, uno studio retrospettivo statunitense comprendente oltre 7000 pazienti non selezionati ha rilevato che il tasso di sopravvivenza a 5 anni rimane insoddisfacente (periodo 1977-81: 2%, periodo 1992-96: 5%) (El Serag et al., 2001). Gli autori attribuiscono tale risultato alla scarsa applicabilità delle terapie radicali o efficaci, a causa dell'avanzato stadio tumorale e/o grado di compromissione funzionale epatica alla diagnosi. Questo scenario non corrisponde a quello proposto da un'esperienza più controllata, iniziata nel 1987 presso un centro di riferimento per l'EC: lo studio, nel quale sono stati arruolati e regolarmente sorvegliati 417 pazienti con cirrosi ben compensata, ha dimostrato un netto miglioramento della prognosi nell'ultimo quinquennio (mortalità media annuale nei tre quinquenni: 45, 37 e 10%, rispettivamente) per i 112 soggetti che svilupparono l'EC, frutto del decremento di mortalità annuale registrato fra i 68 casi trattabili (34, 28 e 5%, rispettivamente) (Sangiovanni et al., 2004).

9.0 TERAPIA

9.1 Algoritmo terapeutico

L'algoritmo terapeutico descritto in questo paragrafo rappresenta solo un possibile approccio al paziente con EC seguito da diversi centri internazionali, ma sicuramente non universalmente convalidato.

Negli ultimi 20 anni si è assistito ad un aumento della sopravvivenza dei pazienti affetti da epatocarcinoma (EC), grazie sia ai programmi di sorveglianza, che hanno permesso la diagnosi precoce, sia ad un miglioramento delle strategie terapeutiche (Bruix et al., 2001).

Attualmente, la sopravvivenza a 5 anni di un paziente con EC in stadio precoce, trattato con intento radicale, è di circa il 70 %, mentre quando la malattia è in stadio intermedio-avanzato, senza possibilità di trattamento efficace, la sopravvivenza a 3 anni è ridotta al 10-50 % (Ferlay et al., 1998; Bruix et al., 2002).

La scelta del trattamento dell'EC deve tenere conto di vari fattori che influenzano la prognosi e che sono rappresentati da:

- numero e dimensione dei noduli tumorali, invasione portale;
- presenza o assenza di cirrosi;
- grado di deterioramento della funzione epatica.

I pazienti con EC diagnosticato ad uno stadio precoce sono candidati a trattamenti potenzialmente curativi, in grado di eradicare il tumore e di prolungare la sopravvivenza. Tali trattamenti sono:

- la resezione chirurgica;
- il trapianto di fegato;
- le tecniche ablativo percutanee.

Tuttavia, solo il 30-40% dei pazienti sono candidati a tali terapie, per lo stadio avanzato della malattia al momento della diagnosi e per la presenza di co-morbilità (Bruix et al., 2002).

La rimanente quota di pazienti viene indirizzata verso approcci palliativi, con lo scopo di rallentare la progressione della malattia e quindi aumentare la sopravvivenza.

I trattamenti palliativi, la cui efficacia è stata valutata con studi randomizzati e studi non controllati, includono: la chemio-embolizzazione, la chemioterapia sistemica od intra-arteriosa, l'irradiazione interna con lipiodol 131I, ormoni, immunoterapia, interferone (Lin et al., 1988; Castells et al., 1995; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995; Lo et al., 1996; Raoul

et al., 1997; Bruix et al., 1998; Ferlay et al., 1998; Pelletier et al., 1998; Llovet et al., 2000; Llovet et al., 2002).

È stato sviluppato un algoritmo terapeutico basato sull'estensione della neoplasia e sullo stato di funzione del fegato (Figura 1).

Nel caso di riscontro di **nodulo singolo** <5 cm, le opzioni terapeutiche sono:

Fegato non cirrotico

- *Resezione chirurgica.* È la principale opzione terapeutica (Bismuth et al., 2000). Purtroppo, pochissimi pazienti con fegato sano vengono diagnosticati in fase precoce per l'assenza di sintomi e di programmi di sorveglianza.
- *Trapianto di fegato.* Può essere proposto in casi selezionati, che presentino un tumore non resecabile.

Fegato cirrotico

- *Resezione chirurgica.* È la terapia di scelta (sopravvivenza a 5 anni del 70%) per i pazienti con buona funzionalità epatica (Child Pugh A), bilirubina normale e modesta ipertensione portale (gradiente pressorio venoso epatico <10 mmHg, assenza di varici) (Bruix et al., 1998; Fong et al., 1999; Llovet et al., 1999; Arii et al., 2000; Yamamoto et al., 2001). Solo il 5-10% dei pazienti risponde a tali criteri di selezione, e la scelta della resezione espone al rischio di recidive neoplastiche non più trattabili con trapianto per stadio del tumore od avanzamento dell'età del paziente.
- *Trapianto di fegato.* È l'opzione terapeutica in pazienti con funzionalità epatica compromessa e/o ipertensione portale o che presentino un nodulo in posizione non resecabile, aventi età <60 anni senza malattie associate (quali ad esempio cardiopatie) che costituiscono una controindicazione.

Sono riportate percentuali di sopravvivenza >70% a 5 anni e una percentuale di recidive <15% (Mazzaferro et al., 1996; Llovet et al., 1998; Bismuth et al., 2000; Jonas et al., 2001; Yamamoto et al., 2001). Tuttavia, questi risultati sono gravati dalla carenza di donatori che comportano una lunga permanenza in lista di attesa ed una possibile progressione della malattia.

Negli Stati Uniti è stato proposto un nuovo sistema di distribuzione degli organi ai pazienti in lista di attesa denominato MELD score (*Model for End-Stage Liver Disease*) (Freeman et al., 2002). Questo sistema, che dà priorità ai pazienti con EC al fine di ridurre la

percentuale di *drop-out*, è attualmente applicato in un grande numero di centri nel mondo, Italia inclusa.

Recentemente, in molti centri i pazienti in lista di attesa vengono sottoposti a terapie adiuvanti (ablazione percutanea, chemio-embolizzazione) che mirano a rallentare la progressione del tumore.

Fino ad ora, non è stata dimostrata l'efficacia di queste terapie in termini di sopravvivenza e sono necessari studi controllati.

Il trapianto da donatore vivente è un'alternativa al trapianto da cadavere nei pazienti con EC, soprattutto quando il tempo di attesa nella lista da donatore cadavere è prolungato (Sarasin et al., 2001).

- *Ablazione percutanea*. È la terapia d'elezione in pazienti non resecabili oppure in attesa di trapianto, per rallentare la progressione della malattia.

L'iniezione percutanea di etanolo (PEI) sotto guida ecografica è la tecnica più utilizzata ed è considerata il *gold standard* per il trattamento dell'EC di piccole dimensioni. Ha il vantaggio di essere di facile esecuzione, con percentuale di complicanze bassa. È in grado di ottenere la necrosi tumorale completa nel 70-80% degli EC solitari di dimensioni inferiori o uguali a 3 cm e sono state dimostrate percentuali di sopravvivenza a 5 anni del 50% in pazienti in classe A di Child-Pugh (Livraghi et al., 1995; Bruix et al., 2002).

Alternativa alla PEI è l'ablazione del nodulo tumorale mediante radiofrequenza (RFA), tecnica che determina la necrosi tumorale avvalendosi del calore, utilizzando elettrodi che vengono inseriti all'interno della lesione tumorale e attraverso i quali passa energia ad alta frequenza. Con la RFA è sufficiente un numero di trattamenti inferiore per ottenere la stessa percentuale di risposta della PEI; la metodica ha maggiore efficacia nei noduli maggiori di 3 cm, mentre più numerosi risultano essere gli effetti collaterali e il costo. (Rossi et al., 1996).

- *Chemio-embolizzazione endoarteriosa (TACE)*. La TACE può essere proposta nei pazienti:
 - non resecabili;
 - non trapiantabili;
 - in lista di trapianto come terapia adiuvante;
 - non proponibili per l'ablazione percutanea per la posizione del nodulo (superficiale, sottodiaframmatico, pericolecistico).

Nel caso di riscontro di **nodulo singolo >5 cm**, le opzioni terapeutiche sono:

Fegato non cirrotico

- *Resezione chirurgica*. I buoni risultati ottenuti in questi pazienti con un nodulo maggiore di 5 cm dipendono probabilmente dall'assenza di cirrosi, che permette un'estesa resezione del fegato, senza ridurre la sopravvivenza.

Fegato cirrotico

- *Terapie sequenziali: TACE-PEI-RFA*. Questi trattamenti sono applicati in maniera sequenziale allo scopo di ridurre la massa tumorale (TACE) e di aggredire successivamente il tumore residuo con PEI o RFA.

Nel caso di EC multinodulare, le strategie terapeutiche dipendono dal numero e dalle dimensioni dei noduli.

≤ 3 noduli ≤ 3 cm

Fegato non cirrotico

- *Trapianto di fegato*
- *PEI/RFA*
- *TACE*

Fegato cirrotico

- *Trapianto di fegato*. Rappresenta la migliore opzione terapeutica in quanto il trapianto è in grado di curare sia la neoplasia che la malattia che la induce (Mazzaferro et al., 1996). È applicabile nei casi sopra descritti. Frequentemente nel caso di tumori multipli vengono proposti trattamenti loco-regionali ai pazienti in lista di attesa, allo scopo di rallentare la progressione della neoplasia
- *PEI/RFA*
- *TACE*

> 3 noduli > 3 cm

Fegato non cirrotico e fegato cirrotico

- *TACE*. La TACE è l'opzione più utilizzata per l'EC non resecabile, soprattutto se multifocale. La TACE non ha dimostrato beneficio in termini di sopravvivenza, se non in due studi recenti (Pelletier et al., 1990; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995; Lo et al., 1996; Bruix et al., 1998; Pelletier

et al., 1998; Llovet et al., 2002). La TACE pertanto sembra una possibile opzione terapeutica nei pazienti cirrotici con tumore multifocale inoperabile e buon compenso epatico (Child-Pugh A-B), per evitare il rischio di insufficienza epatica. È possibile l'uso di RF in combinazione o sequenza alla TACE per ridurre la progressione del tumore.

EC con invasione vascolare

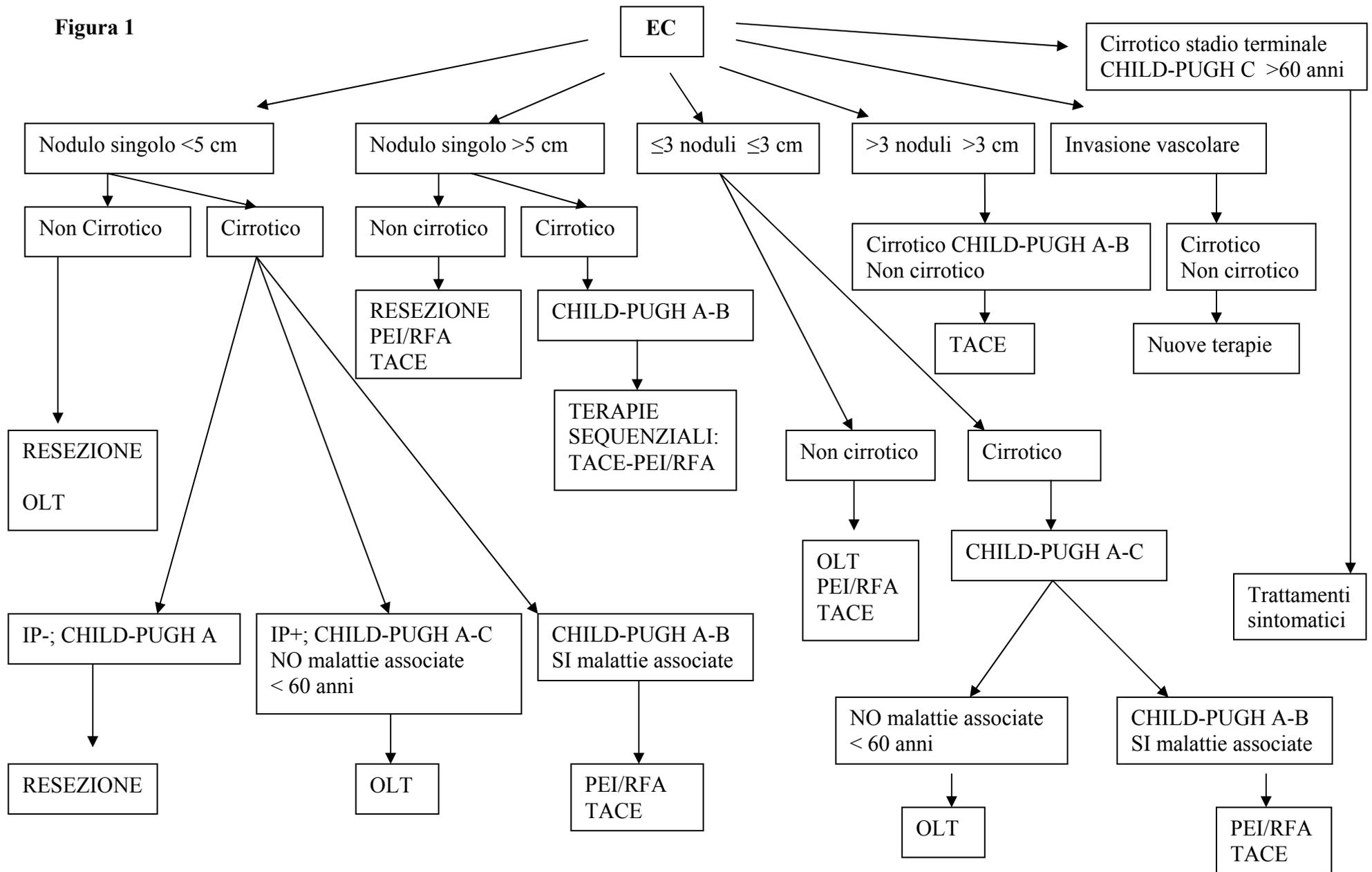
Fegato non cirrotico e fegato cirrotico

- *Nuove terapie.* Questo gruppo di pazienti non può trarre giovamento da alcuna delle terapie tradizionali e può essere indirizzato a Centri che propongono studi clinici controllati con nuove proposte terapeutiche.

EC in paziente cirrotico, stadio terminale

- *Terapia sintomatica.* Questi pazienti non possono trarre giovamento da alcun trattamento e possono solamente essere sottoposti a terapie di supporto e sintomatiche.

Figura 1



Legenda

- | | | | |
|------------|---------------------------|-------------|---------------------------------------|
| EC | Epatocarcinoma | RFA | Ablazione con radiofrequenza |
| OLT | Trapianto di fegato | TACE | Chemio-embolizzazione trans-arteriosa |
| PEI | Alcolizzazione percutanea | IP | Ipertensione portale |

9.2 Terapia loco-regionale

RFA ed alcolizzazione

Le terapie percutanee loco-regionali consentono l'introduzione di un agente lesivo direttamente nel contesto (*in situ*) del tessuto neoplastico. E' sottinteso che queste terapie presentano indicazioni solo per patologie confinate ad un singolo organo, quale appunto l'epatocarcinoma in stadio non avanzato.

Le terapie loco-regionali possono basarsi sull'impiego di mezzi in grado di distruggere il tessuto per via chimica, come l'alcol etilico (PEI, *Percutaneous Ethanol Injection*) o l'acido acetico oppure per via fisica (termica), come il laser o la radiofrequenza (RFA, *Radio-Frequency Ablation*). La PEI è stata la prima a venire proposta; sulla scorta del suo razionale e dei suoi risultati sono state in seguito messe a punto le altre. In questo capitolo verranno prese in considerazione principalmente la PEI, che di queste è ancora la più diffusa e codificata e la RFA, i cui risultati più recenti ne fanno prevedere un'applicazione sempre più ampia.

Modalità d'azione

PEI

L'alcol agisce sia diffondendo all'interno delle cellule e causando un'immediata disidratazione delle proteine citoplasmatiche con conseguente necrosi coagulativa seguita da fibrosi, sia entrando nel circolo ematico e provocando la necrosi delle cellule endoteliali e l'aggregazione di piastrine con conseguente trombosi di piccoli vasi seguita dall'ischemia del tessuto neoplastico. Due caratteristiche di questo tumore favoriscono l'azione tossica dell'etanolo: l'ipervascolarizzazione e la differente consistenza tra tessuto neoplastico e cirrotico. Poiché il tessuto neoplastico ha una consistenza più molle del tessuto cirrotico circostante, l'etanolo diffonde e rimane all'interno di esso più facilmente e più selettivamente mentre, nello stesso tempo, l'ipervascolarizzazione facilita la sua uniforme distribuzione all'interno della ricca rete di vasi neoplastici. La PEI, nel trattamento dei tumori epatici, è stata ideata indipendentemente all'università di Chiba in Giappone e all'ospedale di Vimercate (Milano) in Italia. Il primo articolo su una rivista internazionale è apparso nel 1986 (Livraghi et al., 1986). La PEI è solitamente eseguita sotto guida ecografica, poiché la possibilità del controllo in tempo reale permette una esecuzione più

veloce, la centratura precisa dell'ago nel bersaglio, il monitoraggio continuo della distribuzione dell'etanolo e la determinazione della quantità appropriata da iniettare in ogni seduta.

La PEI può essere eseguita con più sedute in regime ambulatoriale (tecnica convenzionale) o, quando il tumore è più voluminoso, con una singola seduta in anestesia generale, con paziente ospedalizzato (Livraghi et al., 1993). Generalmente si ricorre alla prima procedura negli epatocarcinomi in stadio precoce (*early* secondo la classificazione di Barcellona; Llovet et al., 1999), cioè con noduli singoli di dimensioni <5 cm o con un massimo di 3 noduli di dimensioni <3 cm ed alla seconda procedura negli epatocarcinomi in stadio "intermedio", purché il tumore, a focolaio singolo o multiplo, non superi il 30% dell'intero volume epatico. Si rimanda agli articoli specifici per quanto riguarda la tecnica ed i materiali (Livraghi et al., 1993; Shiina et al., 1993; Livraghi, Giorgio et al., 1995).

RFA

Il trattamento di termoablazione sfrutta la conversione dell'energia di un'onda elettromagnetica in calore. Viene utilizzato un generatore che converte la normale energia fornita dalla corrente elettrica a 90 Hz, in energia elettromagnetica a 500 KHz, cioè nella banda della RFA. La corrente, di tipo alternato, viene collegata ad un elettrodo attivo a forma di ago che viene inserito nel tumore, cosicché il corpo diventa parte del circuito elettrico, e viene dispersa con un elettrodo passivo a forma di piastra, che è applicato alla cute del paziente. In questo modo si produce, soprattutto intorno alla punta esposta dell'ago-elettrodo, un riscaldamento di tipo resistivo, dovuto all'agitazione ionica degli elettroliti tissutali, che seguono i cambi di direzione della corrente alternata. In pratica, il calore è generato per mezzo dell'impedenza (resistenza) che il tessuto circostante oppone al flusso di corrente, per cui il calore non è generato sull'estremità dell'elettrodo, ma all'interno del tessuto. Il calore prodotto, che quando supera 50° centigradi provoca la necrosi coagulativa del tessuto, è dato dalla differenza tra il calore generato intorno alla estremità dell'elettrodo ed il calore disperso, la cui entità dipende dalla conduttività del tessuto e dalla dissipazione per convezione dovuta alla circolazione sanguigna. In presenza di una omogeneità fisica ed elettrica, il calore generato intorno all'estremità non isolata dell'elettrodo è regolato dalla distanza dalla punta, dall'intensità della corrente e dalla durata dell'applicazione. Utilizzando la tecnologia iniziale, che è stata messa a punto nell'uomo nel 1993,

si otteneva un'area di necrosi abbastanza riproducibile, ma che non superava 1.6 cm di diametro (Rossi et al., 1993). Due avanzamenti tecnologici hanno reso possibile aumentare sensibilmente l'area di necrosi, con diametri compresi tra 3 e 5 cm. Il primo utilizza un elettrodo espandibile che, una volta posizionato nel tumore, si sfocchia in numerosi uncini che si dispongono "ad ombrello" all'interno o intorno al bersaglio (Rossi et al., 1988). Il secondo utilizza un elettrodo a perfusione fredda con punta esposta variabile da 2 a 3 cm (Goldberg et al. 1996; Solbiati et al., 1997). Questo elettrodo permette di evitare i precoci incrementi di impedenza legati alla carbonizzazione che autolimitano la propagazione del campo elettrico. Come per la PEI, il trattamento con RFA viene generalmente eseguito sotto guida ecografica, con paziente cosciente se il tumore è di piccole dimensioni o in anestesia generale quando più avanzato. Tre studi di autori differenti hanno dimostrato una maggiore efficacia locale della RFA nei confronti della PEI. Infatti, nei tumori fino a 3 cm, mentre la PEI ha ottenuto una necrosi completa in 80-81-94% dei casi, la RFA l'ha rispettivamente ottenuta in 90-92-100% dei casi (Livraghi et al., 1999; Ikeda et al., 2001; Lencioni et al., 2003).

La RFA ha presentato una maggiore efficacia anche nei tumori di maggiori dimensioni, senza presentare gli effetti collaterali che si osservano dopo PEI (Livraghi, Goldberg et al., 2000). Per quanto riguarda la tecnica ed il materiale si rimanda agli articoli specifici (Rossi et al., 1988; Solbiati et al., 1997; Livraghi, 1999; Livraghi, Goldberg et al., 2000; Lencioni et al., 2003).

Scelta della procedura

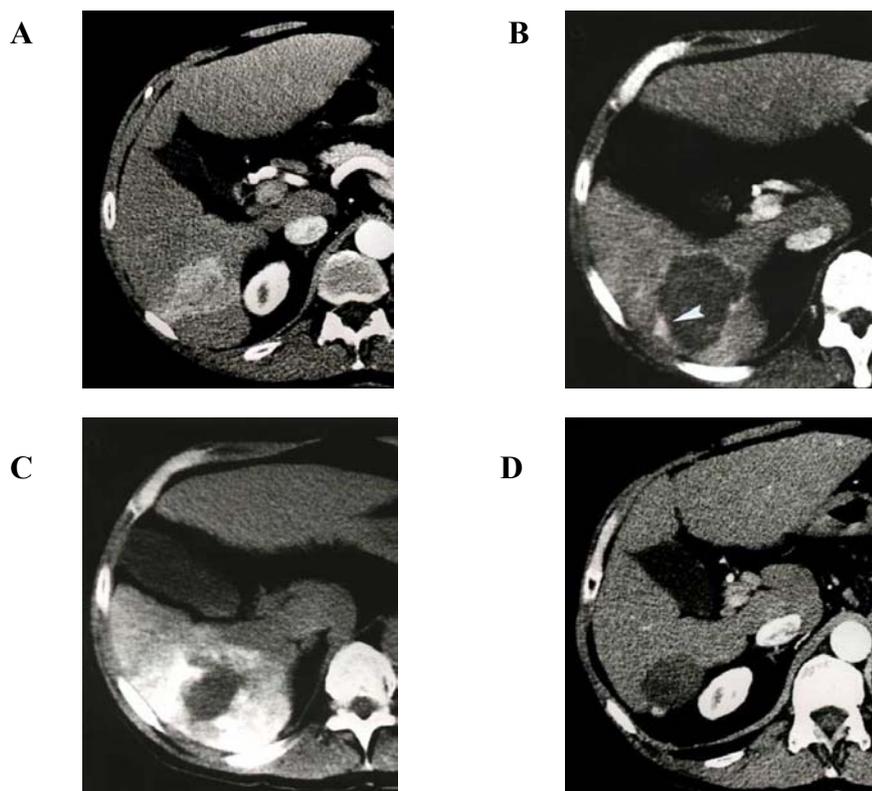
Quando entrambe le metodiche sono disponibili, la RFA viene ora generalmente preferita alla PEI. La PEI viene utilizzata nei casi a rischio per la RFA, come nei noduli situati in sede sottoglissoniana giustapposti ad anse intestinali per la possibilità di perforazione delle stesse o, se contigui ad importanti vie biliari, per evitarne la stenosi (Livraghi et al., 2003). Ad esse può venire abbinata o preferita la chemio-embolizzazione (TACE) selettiva, in particolare quando il tumore non è riconoscibile all'ecografia, quando persistono aree di tessuto vitale non ritrattabili con l'ablazione percutanea, o in presenza di satellitosi (Livraghi et al., 2004).

Valutazione dell'efficacia terapeutica

Per valutare la risposta terapeutica, cioè per determinare se il tumore è diventato completamente necrotico o se persistono al suo interno aree di

tessuto neoplastico, viene utilizzata una combinazione di indagini ed il dosaggio di marcatori serologici. Queste sono le stesse a cui si ricorre nella stadiazione iniziale e durante i controlli. Poiché le indagini sono molte e alcune di esse comparabili, si preferisce ricorrere nella routine solo all'ecografia (recentemente con i mezzi di contrasto di seconda generazione) e soprattutto alla TC spirale con tecnica bifasica, cioè durante la fase arteriosa e portale e ricorrere alle altre (RM, angiografia) o alla biopsia solo nei rari casi di dubbia interpretazione. La risposta viene giudicata completa quando la TC mostra la totale scomparsa di *enhancement* all'interno della lesione e quando tale quadro viene confermato nel tempo. La mancanza di *enhancement* significa assenza di vascolarizzazione dovuta alle manifestazioni fibronecrotiche che hanno sostituito il tessuto neoplastico (Figura 2). Se le aree di tessuto rimasto vitale sono, per le piccole dimensioni, oltre i poteri di risoluzione attuale, diventeranno facilmente identificabili nelle indagini successive per la presenza di un incremento volumetrico e di *enhancement*. Anche i marcatori vengono utilizzati per la valutazione di efficacia, ma negli epatocarcinomi in fase precoce essi sono frequentemente normali. Vengono dosate l'alfa-fetoproteina e la des-gamma-carbossi-protrombina, in quanto spesso complementari tra loro. Una risposta completa evidenziata con tecniche di immagini non seguita da una normalizzazione dei marcatori, sta ad indicare che tessuto neoplastico non evidenziato o non ancora evidenziabile sta crescendo in sede extra lesionale. Inoltre, un aumento del dosaggio durante i controlli suggerisce sempre una ripresa locale di malattia o la comparsa di nuove lesioni. Il controllo con ecografia, TC e con i marcatori viene solitamente effettuato un mese dopo il trattamento e quindi ogni 4-6 mesi.

Figura 2 Epatocarcinoma singolo, infiltrante per crescita extranodulare, di cm 6.7, giudicato inoperabile per l'elevato valore delle transaminasi, in paziente con cirrosi HCV correlata



- A:** la TC eseguita in fase arteriosa dimostra il tumore situato nel VI segmento, prima del trattamento.
- B:** il controllo eseguito il giorno seguente il trattamento con RFA (5 inserzioni con elettrodo “a perfusione fredda”) dimostra il conseguimento di una necrosi (assenza di *enhancement*) quasi completa del tumore, eccettuata una piccola area periferica di tessuto ancora vitale, ipervascolarizzata (freccia), non riconoscibile all’ecografia. Per questa ragione il paziente è stato sottoposto il giorno seguente a TACE segmentaria.
- C:** la TC senza mezzo di contrasto eseguita dopo la terapia dimostra un soddisfacente infarcimento di Lipiodol nell’area interessata.
- D:** la TC eseguita in fase arteriosa a 2 anni dal trattamento combinato dimostra una necrosi completa del tumore. L’immagine infatti conferma l’assenza di *enhancement* dell’area trattata con RFA e il completo infarcimento di Lipiodol nel piccolo residuo di malattia trattato col TACE segmentaria.

Razionale

L'EC generalmente coesiste con una epatopatia cronica, di solito di origine virale e meno frequentemente di natura alcolica, che negli stadi più avanzati condiziona la prognosi più della patologia neoplastica. E' sottinteso pertanto che se la prognosi è maggiormente condizionata dalla patologia neoplastica, la terapia non deve peggiorare la funzionalità epatica. Le terapie di ablazione percutanea non danneggiano il tessuto epatico, al contrario degli interventi di chirurgia resettiva maggiore o della TACE convenzionale, eseguita su tutto l'ambito epatico.

L'EC, essendo una patologia d'organo, è un tumore multicentrico nei tempi dovuti. Pertanto il primo nodulo, di solito evidenziato durante un programma di sorveglianza ecografica, è solo il preludio ad altri. Secondo uno studio recente, la multicentricità è già comunque presente nel 50% dei casi ancora allo stadio precoce ed il 93% dei pazienti operati per tumore in situ (<2 cm) ha presentato altri noduli entro 5 anni (Nakashima et al., 2001). Per tale ragione ogni terapia locale, chirurgica o non, può risultare solo palliativa e porsi come scopo soltanto il miglioramento della sopravvivenza. A causa della multicentricità e dei problemi legati alla rresezione (solo 1.6% dei pazienti giapponesi è stato sottoposto ad un secondo intervento) (Arii et al., 2001), l'EC abbisogna durante la sua evoluzione di più interventi terapeutici, possibilmente ripetibili, semplici, a basso rischio ed a basso costo. La mortalità a seguito di un trattamento di ablazione percutanea è un evento raro. In due studi multicentrici, su 1066 pazienti trattati con PEI (Di Stasi et al., 1997) e su 1610 pazienti trattati con RFA (Livraghi et al., 2003), la percentuale di mortalità è stata rispettivamente di 0.09% e 0.3% e delle complicanze maggiori di 3.2% e 2.1%. Alcune analisi hanno riportato un costo variabile da 759 a circa 1.000 dollari per la PEI ambulatoriale, e da 27.000 a 30.000 dollari per la resezione chirurgica (Kotoh et al., 1994; Livraghi, Giorgio et al., 1995).

Risultati

La PEI, concepita per trattare i pazienti non operabili, ha guadagnato nel corso degli anni sempre più consensi tanto da venire oggi spesso preferita alla resezione. La notevole diffusione della PEI ha aperto un confronto con i chirurghi, che nel corso degli ultimi anni avevano migliorato la tecnica resettiva ed il post-operatorio, tanto che oggi, in alcuni centri di riferimento, la mortalità legata all'intervento è anche inferiore all'1% (Torzilli et al., 1999). Sebbene sia sottinteso che la resezione, se anatomica, assicura la completa rimozione del tumore,

differenti studi di comparazione tra PEI e chirurgia hanno dimostrato una sostanziale sovrapposibilità delle sopravvivenze a lungo termine. Due studi retrospettivi multicentrici, uno italiano (Livraghi, Bolondi et al., 1995) ed uno giapponese (Ryu et al., 1997), entrambi riguardanti l'EC allo stadio precoce in pazienti in classe Child A, hanno riportato rispettivamente una sopravvivenza a 3 anni del 79% e del 71% ed a 5 anni del 47% e del 53%. Uno studio prospettico di un singolo centro, riguardante tumori singoli o multipli fino ad un massimo di tre noduli <3 cm, ha riportato una sopravvivenza del 59% per la PEI e del 61% per la resezione (Yamamoto et al., 2001).

Lo studio più recente e più numeroso riportato dal *Liver Cancer Study Group* del Giappone, riguardante tumori singoli in situ (<2 cm) in classe Child A, ha riportato una sopravvivenza a 5 e 10 anni del 60% e del 42% in 2809 pazienti trattati con PEI e del 57% e del 31% in 13.020 pazienti resecati (*Liver Cancer Study Group of Japan 2003*).

Detta equivalenza è probabilmente attribuibile ad un bilanciamento dei vantaggi e svantaggi delle due metodiche. Da una parte la chirurgia che offre un migliore controllo locale del tumore, dall'altra la PEI che presenta una minore percentuale di mortalità e morbidità, un minor danno del tessuto non neoplastico ed è ripetibile sui nuovi noduli. Inoltre occorre tenere presente l'effetto di appiattimento su entrambe le curve di sopravvivenza da parte dei casi con storia naturale aggressiva, poco responsiva a qualsiasi trattamento.

Due recenti studi che analizzano il risultato della PEI per l'EC precoce, tuttavia, dimostrano risultati più scadenti a 5 anni, con sopravvivenze che si collocano intorno al 30-40% (Andriulli et al., 2004; Sala et al., 2004).

Sopravvivenza a 3-5 anni di pazienti Child A con EC precoce, trattati con PEI

Autore	Anno	Diametro (cm)	N° pazienti	3 anni (%)	5 anni (%)
Livraghi	1995	< 5	293	79	47
Ebara	1995	< 3	112	67	56
Ryu	1997	< 3	110	71	53
Lencioni	1997	< 3	70	89	63
Yamamoto	2001	< 3	39	82	59

Indicazioni

Non esistono dati basati sulle prove capaci di fornire linee guida universalmente accettate per una comune strategia terapeutica, in particolare per quanto riguarda i tumori “border-line”, per i quali i centri di riferimento adottano scelte dettate dalla propria esperienza.

Per quanto riguarda l’EC in stadio “precoce”, la Conferenza di Barcellona del 2000, organizzata dalla Società Europea di Epatologia, ha riconosciuto come terapie curative il trapianto epatico, la resezione parziale ed i trattamenti di ablazione percutanea. Basandosi sull’assunto che la resezione è in grado di fornire maggiori garanzie di efficacia locale, essa sarebbe da preferire alla PEI o alla RFA nei casi di tumore singolo, purché in assenza di ipertensione portale e di bilirubina anormale (Bruix et al., 2001). Questi due fattori sono infatti risultati determinanti sulla prognosi, come dimostrato da uno studio in cui la sopravvivenza a 5 anni è stata del 25% in loro presenza e del 74% in loro assenza (Llovet, Funster et al., 1999).

Per quanto riguarda l’EC in stadio “intermedio” (tumore multinodulare o >5 cm senza invasione vascolare e con buon PST), le linee guida della Conferenza di Barcellona (Bruix et al., 2001) suggeriscono di utilizzare a scopo palliativo la TACE e due studi randomizzati pubblicati successivamente hanno avvalorato questo indirizzo (Llovet et al., 2002; Lo et al., 2002). In questo stadio, seppure in pazienti selezionati, sia la PEI che la RFA (o la TACE selettiva) possono ottenere un controllo locale della neoplasia superiore a quella delle terapie intra-arteriose, senza aggiungere il danno del parenchima sano (Murakami et al., 1994; Livraghi, Meloni et al., 2000).

E’ tuttavia fondamentale ricordare che la molteplicità di presentazioni della malattia, che dipendono dalla sede, dimensioni, grado di vascolarizzazione, tipo, grado di differenziazione, stato di funzionalità epatica, età, sottintendono una scelta personalizzata della strategia terapeutica (Livraghi et al., 2004), difficilmente attuabile seguendo le rigide *flow-chart* ufficiali. Lo stesso paziente, o anche lo stesso tumore, può venire trattato con diverse modalità terapeutiche, sia al primo approccio sia durante il *follow-up* che, nei pazienti più responsivi, può protrarsi per molti anni.

In conclusione, esclusi i pazienti candidati al trapianto o alla resezione anatomica, la maggioranza dei pazienti con EC in stadio “precoce” ed una selezione dei pazienti in stadio “intermedio”, sono candidati alla PEI, alla RFA o alla TACE selettiva.

Chemio-embolizzazione

La chemio-embolizzazione (TACE, *transcatheter arterial chemoembolization*) è una procedura di radiologia interventistica consistente nell'iniezione di un farmaco chemioterapico emulsionato con un mezzo di contrasto oleoso (Lipiodol Ultrafluido o LUF) nei rami arteriosi afferenti all'EC cateterizzati selettivamente mediante accesso percutaneo transfemorale. Essi vengono successivamente embolizzati con particelle di Spongostan che provocano un'occlusione temporanea, venendo riassorbite in circa due settimane. Il presupposto all'impiego della TACE si basa sull'accumulo selettivo e persistente del LUF nell'EC, che è vascularizzato prevalentemente da rami dell'arteria epatica, contrariamente al parenchima epatico normale, che riceve la maggior parte dell'apporto ematico dalla vena porta. Tale fenomeno, verosimilmente correlato all'alterazione del tessuto reticoloendoteliale e del flusso linfatico che si instaura nella neoplasia, è stato osservato sperimentalmente e successivamente sfruttato ai fini diagnostici e terapeutici, utilizzando il LUF come veicolo di farmaci chemioterapici (Nakakuma et al., 1983; Nakakuma et al., 1985; Ohishi et al., 1985). L'"impregnazione" del tessuto neoplastico da parte dell'emulsione oleosa consente di ottenere una concentrazione locale del farmaco notevolmente superiore a quella raggiungibile con la chemioterapia sistemica, riducendo gli effetti collaterali, mentre l'azione terapeutica viene potenziata dall'ischemia del tessuto neoplastico provocata dal LUF e dalla successiva embolizzazione (Konno, 1990). Negli ultimi anni, numerosi studi retrospettivi ed alcuni studi clinici randomizzati hanno evidenziato i favorevoli risultati della TACE, senza dimostrare tuttavia un significativo aumento della sopravvivenza rispetto a quella dei pazienti trattati conservativamente (Lin et al., 1988; Pelletier et al., 1990; Madden et al., 1993; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995; Bruix et al., 1998; Pelletier et al., 1998; Ramsey et al., 2002). Tale beneficio, che consente di confermare la reale efficacia della procedura, è stato recentemente dimostrato da due studi clinici randomizzati e controllati, nonché da due meta-analisi di studi clinici precedenti (Cammà et al., 2002; Llovet et al., 2002; Lo et al., 2002; Llovet et al., 2003). In questo capitolo esporremo sinteticamente le indicazioni, la tecnica, i risultati ed i possibili futuri sviluppi della procedura.

Indicazioni

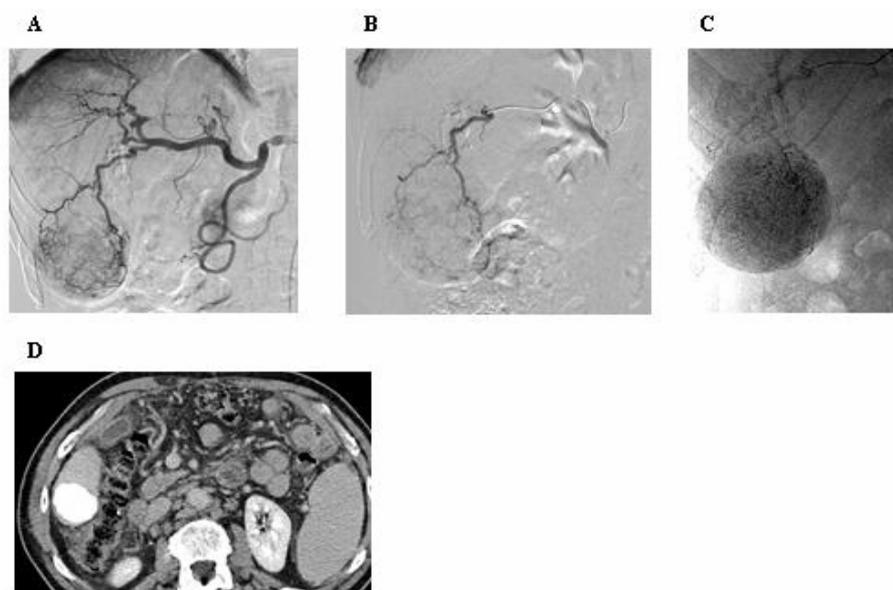
Attualmente esiste un generale consenso sull'impiego della TACE nei pazienti con EC non operabile e non trattabile con alcoolizzazione e termoablazione, considerate come terapie radicali. La selezione dei pazienti è tuttavia complicata dalla coesistenza della cirrosi epatica, la cui evoluzione influisce anche sui risultati nonché sulle possibili complicanze della procedura. Sembra pertanto opportuno impiegare criteri di selezione che considerino, oltre alla stadiazione del tumore, anche quella dell'epatopatia, come quelli adottati dal gruppo di Barcellona (Llovet et al., 1999; Cammà et al., 2002; Llovet et al., 2002; Llovet et al., 2003). Secondo questi Autori la TACE è indicata nei pazienti con tumori in stadio B e C, singoli >5 cm o multinodulari con almeno 3 noduli >3 cm. Sono ritenute controindicazioni l'età >75 anni, l'epatopatia avanzata con classe C di Child-Pugh, l'encefalopatia, l'ascite refrattaria, l'invasione vascolare, gli shunts portosistemici, il flusso portale epatofugo, le localizzazioni extraepatiche, l'insufficienza renale, la piastrinopatia <50000, l'attività protrombinica <50%, la leucopenia <3000, una frazione di eiezione cardiaca <50%. Benché queste indicazioni possano sembrare troppo restrittive, bisogna considerare che la TACE è una procedura invasiva che, oltre alle complicanze correlate al cateterismo arterioso, può comportarne altre, anche di notevole gravità, provocate dall'azione dei farmaci chemioterapici e dell'ischemia sul parenchima epatico e sugli organi adiacenti, come la colecisti, lo stomaco ed il duodeno. La TACE è stata impiegata anche come trattamento adiuvante prima del trapianto e della resezione epatica, per controllare la crescita del tumore e prevenire la comparsa di foci latenti, nonché per ridurre neoplasie altrimenti non resecabili (Lu et al., 1999; Richard et al., 2000; Zhang et al., 2000). La sua associazione con l'alcoolizzazione percutanea ha inoltre evidenziato una valida azione sinergica, consentendo il trattamento di neoplasie fino ad 8 cm con minori effetti collaterali e con un aumento della sopravvivenza comparabile a quella ottenuta con la resezione chirurgica (Bartolozzi et al., 1995; Allgaier et al., 1998).

Tecnica

Come per tutte le procedure interventistiche, i pazienti devono essere digiuni da almeno otto ore, ma possono bere fino a due ore prima, onde evitare un'eccessiva disidratazione. La somministrazione di farmaci gastroprotettori, antidolorifici ed antiemetici prima e durante la TACE riduce l'entità e la durata degli effetti collaterali che insorgono subito

dopo e possono perdurare per alcuni giorni, costituendo la cosiddetta sindrome post-embolizzazione. Non viene routinariamente impiegata una profilassi antibiotica. Durante la procedura devono essere costantemente monitorati i parametri vitali (ECG, PO₂, PA), deve essere mantenuto un adeguato accesso venoso e vanno rigorosamente osservate le norme di asepsi. Si esegue dapprima l'angiografia selettiva del tronco celiaco e dell'arteria mesenterica superiore mediante cateterismo transfemorale con introduttore e cateteri da 4 French, onde ridurre il rischio di sanguinamento locale e ridurre i tempi della compressione emostatica. L'esame preliminare "panoramico" è indispensabile per evidenziare le eventuali varianti anatomiche, piuttosto frequenti in questo distretto, come l'origine del ramo destro dell'arteria epatica dalla mesenterica superiore, del sinistro dall'arteria gastrica e dell'arteria epatica direttamente dall'aorta. E' inoltre importante identificare l'origine dei rami arteriosi gastroduodenali e soprattutto dell'arteria cistica, in quanto la loro embolizzazione accidentale può provocare complicanze ischemiche ed aggravare la sindrome post-embolizzazione. Negli EC superficiali e nei trattamenti ripetuti vanno attentamente ricercati eventuali circoli collaterali extraepatici afferenti alla neoplasia attraverso le arterie freniche, surrenaliche o intercostali. La presenza di shunts artero-venosi nel contesto dell'EC costituisce una controindicazione alla TACE, che tuttavia può essere eseguita dopo la loro embolizzazione preliminare. Nelle fasi tardive viene valutata la pervietà della vena porta e delle sue diramazioni intra-epatiche, nonché l'eventuale inversione del flusso portale con presenza di circoli collaterali epatofughi. Successivamente, il catetere viene avanzato nell'arteria epatica, eseguendo uno studio accurato delle sue diramazioni intra-epatiche e della fase di impregnazione parenchimale, per evidenziare la sede delle lesioni tumorali e la loro vascolarizzazione. In caso di EC estesi o plurifocali interessanti un solo lobo, la TACE viene eseguita mediante iniezione nel ramo arterioso lobare, attraverso lo stesso catetere diagnostico. I cateteri idrofilici da 4 French consentono generalmente un agevole cateterismo selettivo dei rami lobari, anche se molto tortuosi e di piccolo calibro. In caso di lesioni singole di minori dimensioni, è indicato il cateterismo superselettivo dei rami afferenti mediante microcateteri introdotti nel catetere da 4 French. Con questa tecnica viene eseguita una TACE segmentaria o subsegmentaria, che consente di trattare le lesioni neoplastiche, risparmiando il parenchima epatico adiacente (Figura 3).

Figura 3



- A:** Paziente di 70 anni con EC singolo nel VI segmento. L'arteriografia selettiva dell'arteria epatica evidenzia la sede della lesione ed i rami arteriosi afferenti, nettamente ipertrofici.
- B:** Si esegue il cateterismo superselettivo del ramo afferente con microcatetere Progreat da 2,7 French e si esegue la TACE.
- C:** L'immagine angiografica non sottratta ripresa dopo la procedura evidenzia l'impregnazione del nodulo neoplastico da parte della miscela radiopaca di LUF e farmaco.
- D:** La TC con mezzo di contrasto eseguita dopo 30 giorni evidenzia la completa devascularizzazione della lesione che è omogeneamente impregnata dal LUF.

E' importante sottolineare la necessità di cateterizzare tutti i rami afferenti alla neoplasia, pena la sua incompleta embolizzazione, anche se tale tecnica comporta una maggiore complessità di esecuzione ed un maggiore onere finanziario per il costo elevato dei microcateteri. E' interessante notare che l'iniezione intra-arteriosa di lidocaina immediatamente prima della TACE (100 mg al 2%) riduce significativamente l'entità del dolore che insorge e persiste dopo la procedura (Lee et al., 2001). Per quanto riguarda i farmaci chemioterapici ed il loro dosaggio, esiste in letteratura una grande variabilità: sono stati impiegati la doxorubicina, la mitomicina C, il

cisplatino e l'epirubicina, soli o variamente associati. La dose del farmaco e del LUF viene generalmente determinata in base alle dimensioni complessive dei noduli neoplastici, ma anche all'estensione del parenchima trattato (TACE lobare o segmentaria), nonché ad indici di funzionalità epatica, quali la bilirubinemia (Ohishi et al., 1985; Lin et al., 1988; Konno, 1990; Pelletier et al., 1990; Madden et al., 1993; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995; Bruix et al., 1998; Pelletier et al., 1998; Llovet et al., 2002; Lo et al., 2002; Ramsey et al., 2002). La miscela, preparata emulsionando uguali volumi di farmaco in soluzione e di LUF attraverso due siringhe collegate da un rubinetto, viene iniettata lentamente, controllando mediante fluoroscopia la sua progressione nei rami afferenti alla neoplasia ed evitando il più possibile il reflusso in quelli adiacenti. Successivamente viene eseguita l'embolizzazione con le particelle di Spongostan, anch'esse emulsionate finemente con mezzo di contrasto idrosolubile ed iniettate lentamente fino ad ottenere l'obliterazione dei rami arteriosi con arresto completo del flusso. Dopo la procedura, i pazienti restano ricoverati per alcuni giorni, in base al decorso clinico e all'entità della sindrome post-embolizzazione, trattata al bisogno con antidolorifici, antiemetici ed antibiotici in caso di rialzo termico $>38^{\circ}$ persistente. Esiste un generale consenso sull'opportunità di ripetere la TACE a distanza di tempo variabile, fino ad ottenere la completa devascularizzazione delle lesioni neoplastiche. Sembra quindi più indicato impiegare un agente emboligeno riassorbibile come lo Spongostan, che consente di eseguire le procedure successive attraverso i rami afferenti ricanalizzati. L'eventuale persistenza di tessuto neoplastico, generalmente localizzato alla periferia delle lesioni, viene evidenziata dalle metodiche di *imaging* come la TC e/o la RM. Nel corso del trattamento devono essere esclusi i pazienti che sviluppino controindicazioni alla TACE per l'evoluzione dell'EC e/o della concomitante cirrosi. E' pertanto indispensabile un accurato controllo periodico delle condizioni cliniche e del quadro ematochimico. Nel recente lavoro del gruppo di Barcellona la TACE è stata ripetuta dopo due mesi e successivamente ogni sei, con un numero medio di 2,8 procedure/paziente. I controlli clinici ed ematochimici sono stati eseguiti ogni tre mesi, quelli di imaging, mediante ecografia e TC con mezzo di contrasto, ogni sei mesi (Llovet et al., 2002).

Risultati

Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della TACE, evidenziando la riduzione della crescita tumorale con minore incidenza di infiltrazione vascolare, la necrosi del tessuto neoplastico e la riduzione del livello di alfa-fetoproteina. Questa risposta "oggettiva" al trattamento è stata riscontrata in una percentuale variabile dal 16% al 55% dei pazienti (Llovet et al., 2002). In particolare, le tecniche di *imaging* possono evidenziare la riduzione delle dimensioni dei noduli neoplastici, la loro impregnazione da parte del LUF e la percentuale di necrosi del tessuto neoplastico, variabile dal 60% al 100% (Ramsey et al., 2002). La valutazione comparativa dei risultati è tuttavia ostacolata dalla notevole variabilità dei criteri di selezione dei pazienti e delle modalità di esecuzione. Negli studi pubblicati sono state infatti eseguite iniezioni lobari e segmentarie, con diverso dosaggio di vari farmaci e del LUF, con agenti emboligeni riassorbibili o permanenti, con intervallo di tempo variabile fra le procedure.

I favorevoli risultati sulla sopravvivenza riportati dagli studi retrospettivi sono stati inoltre smentiti dagli studi clinici randomizzati e controllati con gruppi di pazienti trattati conservativamente (Lin et al., 1988; Pelletier et al., 1990; Madden et al., 1993; Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995; Bruix et al., 1998; Pelletier et al., 1998). Solo recentemente gli studi di Lo e di Llovet hanno dimostrato un significativo aumento di sopravvivenza nei pazienti trattati, rispetto a quella dei gruppi di controllo (Llovet et al., 2002; Lo et al., 2002) (Tabella 1).

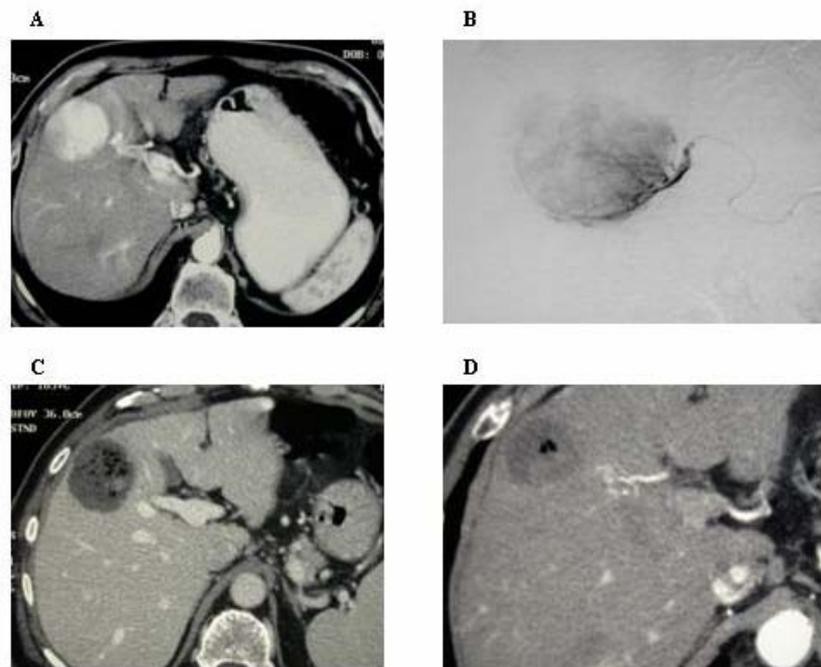
Tabella 1 Sopravvivenza a due anni dei pazienti con epatocarcinoma non resecabile trattati con embolizzazione transcatetere arterioso

Autore (anno)	Rx	Pazienti No.	Sopravvivenza		p
			Trattati	Controlli	
Trinchet (1995)	TACE	96	38 %	26 %	ns
Bruix (1998)	TAE	80	49 %	50 %	ns
Pelletier (1998)	TACE	73	24 %	25 %	ns
Lo (2002)	TACE	80	31 %	11 %	=0.002
Llovet (2002)	TACE	75	63 %	27 %	=0.009

Anche le meta-analisi di studi clinici precedenti hanno confermato i favorevoli risultati della procedura sulla sopravvivenza (Cammà et al., 2002; Llovet et al., 2003). Tali risultati, come ipotizzato dagli stessi Autori, sono verosimilmente riferibili ai rigorosi criteri di selezione dei pazienti ed al mantenimento dei risultati nel tempo mediante la ripetizione della procedura, con una media di 2,8 TACE per paziente. In particolare, nello studio di Llovet (Llovet et al., 2002), su 903 pazienti osservati, solo 112 (12%) sono stati inclusi nello studio clinico, in base a criteri di selezione notevolmente ristretti: il 70% dei pazienti era in classe A di Child-Pugh e l'81% era portatore di una neoplasia in stadio intermedio. Anche la minore gravità delle complicanze è verosimilmente correlata ai criteri di selezione: benché verificatesi nel 27,5% dei casi, esse hanno comportato la sospensione del trattamento in meno del 10% dei pazienti, contrariamente alla maggiore incidenza di insufficienza epatica fino al 50% riportata in altri studi (Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire, 1995). Per quanto riguarda le complicanze della TACE, che comprendono, oltre ad insufficienza epatica, shock settico, colecistiti, ascessi epatici, embolia polmonare, emorragia gastrointestinale e stenosi biliari ischemiche, è importante sottolineare che la loro incidenza e gravità dipende anche dalla tecnica di esecuzione della procedura. Oltre alla scrupolosa osservanza delle norme di asepsi e ad una tecnica di cateterismo il più possibile accurata, sono assai importanti le modalità di iniezione della miscela oleosa. Quando è consentito dal numero, dalle dimensioni e dalla localizzazione dei noduli neoplastici, è preferibile eseguire una TACE segmentaria o subsegmentaria, che comporta una minore compromissione del parenchima epatico normale e riduce la gravità della sindrome post-embolizzazione, come dimostrato anche dalla nostra esperienza (Matsui et al., 1993; Matsuo et al., 1993; Saccheri et al., 2002). Infine, per quanto riguarda i possibili sviluppi della metodica, è stato recentemente introdotto un nuovo agente emboligeno permanente, costituito da microsfere di un polimero di sodio acrilato e alcool vinilico, aventi calibro di dimensioni variabili da 40 a 1200 micron, che aumentano da 2 a 3,5 volte in sospensione con mezzo di contrasto e con plasma. I dati sperimentali e clinici hanno evidenziato un'efficace embolizzazione periferica, con buona corrispondenza fra il calibro delle particelle impiegate e quello dei vasi oblitterati, senza significative reazioni dei tessuti adiacenti (Laurent et al., 1996; Bendzus et al., 2000). Il loro impiego preliminare senza farmaci in sei pazienti con EC di grandi dimensioni (diametro medio 8,2 cm), ha evidenziato nei tumori

resecati un'elevata percentuale di necrosi, per occlusione dei vasi tumorali, senza danni ischemici sul parenchima epatico adiacente (Figura 4). Inoltre, si è verificata una minima sintomatologia dolorosa, senza deterioramento della funzionalità epatica (Osuga et al., 2002). L'impiego di questo nuovo agente emboligeno sembra riportare in auge la semplice embolizzazione (TAE), i cui risultati sono inferiori alla TACE nello studio di Llovet (Llovet et al., 2002). Saranno tuttavia necessari ulteriori e più approfonditi studi clinici per validare questa nuova opportunità terapeutica.

Figura 4 Paziente di 69 anni con cirrosi post alcolica



- A:** TC con mezzo di contrasto evidenzia EC di circa 6 cm in IV segmento.
- B:** Cateterismo superselettivo del ramo afferente con microcatetere per embolizzazione con microsferi (40-100 micron).
- C:** TC dopo 1 settimana: completa devascularizzazione della lesione con bolle gassose secondarie alla necrosi.
- D:** TC dopo 1 mese: riduzione dell'area di necrosi senza segni di recidiva.

9.3 Terapia sistemica

L'EC viene generalmente considerato una neoplasia chemio-resistente. Infatti, con la maggior parte dei regimi mono e polichemioterapici, i tassi di risposta risultano inferiori e le remissioni durevoli non molto frequenti. Ciò sembra essere dovuto alla sovraespressione del gene della *multiple drug resistance* (MDR) e del suo prodotto, la p-glicoproteina nell'EC. Pertanto, anche in pazienti ben selezionati, il tasso di risposta ai regimi chemioterapici con agenti singoli o con associazioni di farmaci è inferiore al 20-30% e spesso uguale a zero.

Monochemioterapia

L'antimetabolita 5-fluorouracile (5-FU) è stato il primo agente chemioterapico ad essere utilizzato nel trattamento dell'EC. Nonostante le diverse dosi, schemi e durate di trattamento utilizzati nei vari studi, i tassi di risposta globale bassi ($\approx 10\%$) ed il breve tempo della sopravvivenza mediana (da 3 a 5 mesi) hanno scoraggiato l'ulteriore utilizzo del 5-FU come agente singolo (Friedman, 1983). In tempi successivi, nel trattamento di questa neoplasia, al 5-FU sono stati aggiunti diversi farmaci quali il leucovorin, l'interferone-alfa (IFN- α), la doxorubicina, l'amsacrina, la farmorubicina, l'etoposide, il mitoxantrone, l'IFN- β , l'ifosfamida, la pirazoloacridina (PZA) ed il cisplatino, che sono stati usati da soli o in varie combinazioni (Melia et al., 1981; Friedman, 1983; Melia et al., 1983; Hochster et al., 1985; Lai et al., 1988; Capizzi et al., 2000). Tra tutti questi farmaci, la doxorubicina sembra essere l'agente singolo più attivo con un tasso di risposta del 25% ed un vantaggio in termini di sopravvivenza rispetto all'assenza di trattamento (Lai et al., 1988). Inoltre, gli analoghi della doxorubicina come la farmorubicina e gli antrachinoni come il mitoxantrone consentono di ottenere tassi di risposta attorno al 20% (Hochster et al., 1985). Sono state anche descritte alcune remissioni complete, ma queste sono raramente di lunga durata. La doxorubicina è il farmaco più ampiamente utilizzato sia come agente singolo che in combinazione, perché considerato il più attivo. Tuttavia, da una revisione di 13 studi pubblicati in letteratura, il tasso di risposta globale è risultato di circa il 20% con una sopravvivenza media di soli 4 mesi (Nerenstone et al., 1988). Uno studio prospettico condotto ad Hong Kong, in cui 60 pazienti sono stati randomizzati a ricevere o la doxorubicina o un trattamento palliativo, è stato osservato un aumento della sopravvivenza da 7.5 settimane per il braccio di controllo a 10.6 settimane per il braccio con

doxorubicina (Lai et al., 1988). Tuttavia, questi dati non sono stati confermati da una revisione sistematica di altri 5 studi randomizzati con la doxorubicina (Mathurin et al., 1998). La tossicità dose limitante della doxorubicina è principalmente cardiaca e midollare. Pertanto, il trattamento con la doxorubicina è controindicato nei pazienti con concomitante malattia cardiaca e ridotta riserva midollare. Inoltre, il dosaggio delle antracicline (doxorubicina e farmorubicina) dovrebbe essere ridotto in presenza di una precaria funzionalità epatica (bilirubina totale superiore di due volte i valori normali).

Polichemioterapia

Nonostante il trattamento polichemioterapico abbia dimostrato un più alto tasso di risposta, le remissioni di lunga durata ed il miglioramento in termini di sopravvivenza restano scarsi. La maggior parte dei regimi polichemioterapici utilizzati comprendono la combinazione di doxorubicina e cisplatino e non esistono, ad oggi, dati che dimostrino la superiorità della combinazioni di farmaci rispetto al farmaco singolo. Per entrambi, la risposta obiettiva è in genere parziale (>50% di regressione nel prodotto dei diametri del tumore) e la durata della remissione è breve. Inoltre, risulta difficile confrontare l'attività tra i diversi regimi perché la maggior parte degli studi clinici sono studi di fase II ed in questi studi sono stati utilizzati criteri di risposta differenti e diverse sono le caratteristiche dei pazienti. Tuttavia, la scarsa chemiosensibilità dell'EC è dimostrata dal fatto che, anche per i pazienti ben selezionati, il tasso di risposta obiettivo atteso per i vari regimi di mono o polichemioterapia, risulta approssimativamente del 15%-20%. Ciononostante, è probabile che il tasso di risposta alla maggior parte dei trattamenti con farmaci singoli o con combinazioni di farmaci, per quanto basso, possa avere ugualmente un impatto significativo sulla sopravvivenza dei pazienti responsivi.

In una revisione della letteratura di studi controllati e randomizzati, sei studi che prevedevano la doxorubicina contro regimi non contenenti doxorubicina hanno dimostrato l'esistenza di un tasso di sopravvivenza ad un anno più alto per i regimi contenenti la doxorubicina, ma la differenza tra i due trattamenti si riduceva drasticamente a due anni (Simonetti et al., 1997). Gli autori di questa revisione hanno, dunque, concluso che la terapia sistemica nel trattamento dell'EC risulta, in generale, inefficace.

In definitiva, dunque, la chemioterapia sistemica non dovrebbe essere raccomandata come terapia standard per l'EC al di fuori di studi

controllati. Inoltre, nessun beneficio derivante dalla chemioterapia sembra essere probabile, anche in pazienti con buon *performance status* e buona funzionalità del fegato (bilirubina totale inferiore di due volte i limiti superiori). Tra i fattori prognostici è stato segnalato che l'assenza di trombosi venosa della vena porta ed un'età inferiore a 60 anni sarebbero entrambi predittori di risposta del tumore (Okada, 1998). Infine, utilizzando una combinazione di gemcitabina, amifostine e cisplatino, Capizzi et al. hanno riportato una buona risposta clinica e di laboratorio in 6 dei 7 pazienti con EC che avevano già splenomegalia e varici esofagee (Capizzi et al., 2000). Altri autori, con la stessa combinazione, ma senza amifostine hanno ottenuto una risposta parziale nel 25% ed una stazionarietà di malattia nel 58% dei casi (Fuloria et al., 2000).

La risposta maggiore dopo la combinazione PIAF

La maggior parte degli studi con farmaci singoli o associazioni nel trattamento sistemico dell'EC, hanno riportato risposte di scarso rilievo e di breve durata. Inoltre, caratteristica comune di questi studi è stata l'assenza di remissioni complete. Tuttavia, un *case report* ed uno studio di fase II nel 1999 hanno descritto una remissione patologica completa dopo trattamento con due combinazioni simili, costituite da cisplatino, interferone ricombinante- α 2b, doxorubicina e 5-FU (Patt et al., 1999; Leung et al., 2000). Questo regime, denominato PIAF, ha riportato la risoluzione di una metastasi polmonare ed una risposta maggiore nel tumore locale. In quest'ultimo caso, il paziente è stato successivamente operato per rimuovere la lesione residua al fegato ed è stata dimostrata istologicamente una remissione patologica completa. Lo studio di fase II, che ha utilizzato la stessa combinazione di farmaci lievemente modificata, condotto su 50 pazienti con EC inoperabile, ha riportato una risposta obiettiva del 26% (tutte le risposte erano parziali) ed una durata mediana della sopravvivenza di 8.9 mesi (Patt et al., 2001).

Nonostante questa nuova combinazione sia risultata efficace in pazienti selezionati, questo regime è considerato abbastanza tossico. Infatti, si sono verificate due morti per sepsi neutropenica tra 50 pazienti trattati con regime PIAF, una leucopenia di grado 3 o maggiore è stata riscontrata nel 34% dei pazienti ed una trombocitopenia nel 22%. L'impatto sulla sopravvivenza del regime PIAF è ancora sconosciuto. Pertanto, l'utilizzo della chemioterapia di associazione per l'epatocarcinoma inoperabile non è ancora raccomandato al di fuori di studi clinici.

Tamoxifene

L'utilizzo del tamoxifene basato sulla presenza di recettori per estrogeni nel 33% degli EC ha dimostrato un'assenza di risposta obiettiva in uno studio di fase II, con durata di malattia stabile da 5 a 13 mesi ed un tempo di sopravvivenza mediana di 6 mesi dall'inizio della terapia (Engstrom et al. 1990). Altri due studi hanno dimostrato che rispetto al placebo, il tamoxifene non prolunga la sopravvivenza dei pazienti con cirrosi ed EC avanzato (CLIP 1998; Riestra et al., 1998). Pertanto, questo farmaco viene oggi considerato inefficace e dunque non indicato nel trattamento di questa neoplasia.

Interferone ed associazioni con interferone

L'interferone- α ha un'attività antivirale, antiangiogenica ed antitumorale ed è stato dimostrato che è in grado di ridurre l'incidenza dell'EC nei pazienti con pregressa epatite virale, specialmente in quelli con titolo sierico HBV più elevato (Ikeda et al., 1998). In uno studio recente su tre gruppi di pazienti, in cui il gruppo I riceveva un'associazione di cisplatino intrarterioso (HIA) ed IFN- α sistemico, il gruppo II cisplatino HIA ed il gruppo III soltanto una terapia di supporto, il tasso di risposta parziale del gruppo I è risultato più alto di quello del gruppo II (33% versus 14%; $P=.05$). Il tasso di sopravvivenza ad 1 anno del gruppo I (27%) era più alto di quello del gruppo II (9%) o del gruppo III (0%; $P=.05$ e $P=.01$, rispettivamente). Il tempo di sopravvivenza mediana del gruppo I (19 settimane) era significativamente più lungo di quello del gruppo II (11 settimane) o del gruppo III (5 settimane) ($P=.05$ e $P=.01$, rispettivamente). Questi risultati suggeriscono che l'associazione di farmaci comprendente il cisplatino HIA in infusione ed IFN- α sistemico può essere utilizzato come trattamento palliativo in pazienti affetti da epatocarcinoma che presentano un coinvolgimento vascolare o metastasi extraepatiche (Chung et al., 2000).

Altri Autori hanno trattato 10 pazienti affetti da EC avanzato e cirrosi con un'associazione di 5-FU una volta la settimana e IFN- α tre volte la settimana. Questi pazienti cirrotici hanno manifestato una notevole tossicità che comprendeva mucosite ed effetti collaterali ematologici e neurologici. Inoltre, non c'è stata alcuna risposta antitumorale prolungata. La sopravvivenza mediana di questi pazienti pesantemente trattati è stata di 10 mesi.

Capecitabina

La capecitabina, una fluoropirimidina orale, è un profarmaco sviluppato per convertirsi metabolicamente in 5-FU all'interno delle cellule del tumore. La timidina fosforilasi (dThdPase) è l'enzima che metabolizza la doxifluridina (5'-deossi-5-fluorouridina), un metabolita intermedio della capecitabina, in farmaco attivo 5-FU, mentre la diidropirimidina deidrogenasi (DPD) è un enzima che catabolizza il 5-FU in molecole inattive. La sensibilità dei tumori alla fluoropirimidina si correla coi livelli di questi enzimi presenti nelle cellule neoplastiche (Mori et al., 2000).

Lozano et al. dell'Università del Texas al M.D. Anderson Cancer Center (Lozano et al., 2000) hanno recentemente studiato 55 pazienti con carcinoma epatobiliare inoperabile trattati con capecitabina orale alla dose di 2,000 mg/m² somministrata in due dosi quotidianamente per 14 giorni. Il 16% dei pazienti ha risposto alla terapia. Il tempo medio alla progressione è stato di 6.3 mesi, con un tasso di sopravvivenza ad 1 anno del 67%. Sebbene il 37% dei pazienti presentasse come effetto collaterale la *hand-foot syndrome* (eritrodissiestesia palmo-plantare), il trattamento è stato generalmente ben tollerato, anche dai pazienti con cirrosi. Un'analisi aggiornata dei dati indica un tasso di risposta del 13% (95% C.I., da 4% al 23%) in 31 pazienti con EC, un tasso di risposta del 6% (95% C.I., da 21% al 79%) in 16 pazienti con colangiocarcinoma ed un tasso di risposta del 50% (95% C.I. da 21% al 79%) in 8 pazienti affetti da cancro alla cistifellea.

Dunque, in pazienti con EC o carcinoma alla cistifellea, la capecitabina mostra una certa attività, ma sono necessari ulteriori studi per meglio valutare la capecitabina da sola o in associazione nel trattamento dell'EC associato alla cirrosi epatica.

UFT

L'UFT è una combinazione del profarmaco 5-FU (tegafur) e l'uracile in un rapporto molare di 1:4. Il tegafur viene convertito in 5-FU dai microsomi del fegato. La degradazione del 5-FU in metaboliti inattivi viene inibita dall'uracile, consentendo più alti livelli del composto attivo all'interno delle cellule tumorali. Dopo che è stata dimostrata l'attività dell'UFT in altre patologie maligne gastrointestinali in studi di fase I (Pazdur, 1997; Pazdur, 1997), Mani et al. (1999) hanno testato il farmaco in 16 pazienti con EC avanzato, inoperabile. L'UFT ed il leucovorin sono stati somministrati quotidianamente in tre dosi al giorno per 28 giorni, ed il trattamento è stato ripetuto ogni 35 giorni. Tre

pazienti hanno presentato malattia stabile durata dai 17 ai 22 mesi dall'inizio di questa terapia e non sono state osservate risposte complete o parziali. Pertanto, fino a quando studi ulteriori non avranno dimostrato l'effettiva attività di questo farmaco nel trattamento dell'EC se ne sconsiglia l'utilizzo.

Sviluppi futuri: gli agenti anti-angiogenici

L'angiogenesi è il processo di formazione di nuovi vasi sanguigni necessario per la crescita tumorale (Folkman, 1995). Diverse molecole, con proprietà regolatorie in senso positivo e negativo, sono coinvolte nel processo di angiogenesi. Il fattore di crescita endoteliale (VEGF) ed il fattore di crescita fibroblastico basale (bFGF) sono i mitogeni più specifici e potenti delle cellule endoteliali. L'EC è caratterizzato da un'angiogenesi patologica considerevole, potenzialmente correlabile ai livelli aumentati del siero di VEGF e bFGF che sono stati anche associati ad una prognosi peggiore in alcuni studi. Recentemente, Chow et al. (1997) hanno mostrato che l'espressione di VEGF è correlato, in maniera significativa, con un più alto indice proliferativo ed una evidenza ultrasonografica della trombosi della vena porta. Tuttavia, l'espressione di VEGF non è stato correlato con il profilo biochimico del fegato, con il livello dell'AFP, col grado istologico, col sesso del paziente o con lo stadio clinico della cirrosi. Gli studiosi hanno quindi concluso che l'espressione di VEGF può caratterizzare la progressione verso una maggiore proliferazione nell'epatocarcinogenesi. Il blocco della neo-vascularizzazione dell'EC è stato utilizzato come target terapeutico in alcuni studi sperimentali (Diaz-Flores et al., 1994; Ahmed et al., 1996; Eisen et al., 2000). Kin et al. (2000) hanno recentemente valutato gli effetti degli inibitori dell'angiogenesi come il TNP-470 nell'EC. Nei topi, gli EC trattati con TNP-470 erano più piccoli e meno frequenti rispetto a quelli dei topi non trattati. Anche la vascolarità del tumore nei topi trattati con TNP-470 era significativamente più bassa di quella dei topi non trattati. Inoltre, la frequenza di apoptosi nelle cellule di EC nei topi trattati con TNP-470 era più elevata di quella del gruppo di controllo. Questi risultati indicano che il TNP-470 sopprime la progressione dell'EC nei topi, inibendo l'angiogenesi e suggeriscono che il TNP-470 possa avere un ruolo terapeutico nell'EC in un futuro non lontano. Inoltre, come dimostrato in altre neoplasie, le associazioni di questi agenti antiangiogenici con i trattamenti convenzionali antineoplastici, come la chemioterapia, la radioterapia, l'immunoterapia o la chirurgia potrebbero indurre dei benefici.

La talidomide è un agente antiangiogenico ed immunomodulatore che inibisce il processo di codificazione delle molecole peptidiche codificato dall'mRNA, compresi il fattore- α della necrosi del tumore ed il fattore angiogenico VEGF (Eisen et al., 2000). Patt et al. (2000) hanno condotto uno studio di fase II sulla talidomide nei pazienti con EC. I risultati preliminari indicano un tasso di risposta parziale pari al 5%, un 5% di risposte minori ed un 45% di malattia stabile. La tossicità più comune è sembrata essere la sonnolenza. La stabilità della malattia era associata ad un incremento dell'AFP e ad una sopravvivenza più lunga anche tra i pazienti la cui malattia successivamente progrediva. Gli autori hanno concluso che la talidomide può essere presa in considerazione in combinazione con altri farmaci anche nel trattamento di pazienti con cirrosi epatica grave (Patt et al., 2000).

Octreotide

L'octreotide è un analogo della somatostatina con attività antimitotica verso una varietà di tumori neuroendocrini. Reubi et al. (1999) hanno studiato campioni di tessuto di 59 casi di EC ed hanno trovato che il 41% esprimeva i recettori della somatostatina e che questi mostravano un'elevata affinità con la somatostatina e l'octreotide.

In uno studio randomizzato su 58 pazienti con EC avanzato, Kouroumalis et al. (1998) hanno confrontato gli effetti dell'octreotide subcutaneo (250 μ g due volte al giorno) verso nessun trattamento.

I pazienti trattati avevano una sopravvivenza mediana più lunga (13 mesi versus 4 mesi, $P=0.002$) ed un migliore tasso di sopravvivenza globale di 6 e 12 mesi (75% versus 37% e 56% versus 13%, rispettivamente).

Una diminuzione dei livelli dell'AFP a 6 mesi era anche associata al trattamento con l'octreotide (Kouroumalis et al. 1998). Uno studio in Honk-Kong non ha invece confermato l'efficacia di octeotride a lungo rilascio sulla sopravvivenza dei pazienti con EC (Yuen et al., 2002).

Conclusioni

Il trattamento sistemico dell'EC è attualmente caratterizzato da una bassa percentuale di risposte, responsabile la resistenza intrinseca che caratterizza le cellule di questa neoplasia. La chemioterapia sistemica viene suggerita nel trattamento dei pazienti sintomatici, con buona funzione epatica e midollare. I nuovi farmaci con meccanismo anti-angiogenico sono molto promettenti ed è probabile che in associazione ai farmaci classici riescano a migliorare il trattamento di questa neoplasia.

9.4 Terapia chirurgica

Resezione

La chirurgia – nelle forme della resezione o del trapianto (*Orthotopic Liver Transplantation, OLT*) – rappresenta il trattamento d'elezione dell'EC (Mazzaferro et al., 1996; Torzilli et al., 1999) costituendo il cosiddetto *gold standard* rispetto a cui le altre modalità di trattamento debbono essere paragonate. L'OLT, tuttavia, presenta non pochi limiti costituiti dalla scarsità di organi disponibili, dai lunghi tempi di attesa in lista, con inerente rischio di avanzamento di malattia, dalle complicanze proprie del trapianto e della terapia immunosoppressiva, nonché dalle problematiche relative alla recidiva di malattia neoplastica e virale post-trapianto. Perfino per i pazienti che corrispondono rigorosamente ai criteri Milano, il rischio di recidiva neoplastica a 5 anni è compreso tra 10% ed il 15% e principalmente correlato con la presenza di satellitosi neoplastica microscopica nel fegato nativo (Plessier et al., 2004).

Per tali ragioni, la resezione epatica continua a rivestire un ruolo fondamentale nell'approccio terapeutico all'EC. La chirurgia resettiva a sua volta presenta numerosi limiti e cioè tassi di morbidità, che appaiono strettamente proporzionali all'estensione della resezione ed allo stato di compenso funzionale preoperatorio secondo la classificazione di Child-Pugh, e recidiva di malattia. La mortalità post-operatoria precoce (entro 30 giorni) è compresa tra il 3.5% ed il 21% in una revisione delle maggiori casistiche internazionali comprendenti almeno 50 pazienti (media $10,6 \pm 5,9\%$) (Jaeck et al., 2004) ed aumenta proporzionalmente all'estensione della resezione, alla presenza di cirrosi, all'eziologia della cirrosi (Belghiti et al., 2002) (con un aumento per la cirrosi alcolica e quella HCV-correlata) ed al periodo storico preso in considerazione (Grazi et al., 2001). Le cause di morte sono principalmente rappresentate da insufficienza epatica acuta, sepsi od emorragia digestiva (Jaeck et al., 2004). La morbidità operatoria è compresa tra il 16% ed il 61% (media $38,5 \pm 15,0\%$) e rappresentata prevalentemente da ascite e da insufficienza epatica transitoria (Lise et al., 1998; Grazi et al., 2001; Belghiti et al., 2002). Nel medio e lungo termine la recidiva di malattia neoplastica rappresenta la causa di decesso del 74% dei pazienti cirrotici sottoposti a resezione epatica per EC con intento curativo (Jaeck et al., 2004) e la recidiva intraepatica di EC interessa dal 52% al 74% dei pazienti resecati, a seconda della lunghezza del periodo di follow-up (Jaeck et al., 2004). Il tasso globale di sopravvivenza a 5 anni nelle

maggiori casistiche europee appare in media del $32,2 \pm 13,2\%$ ($8 \div 51\%$), mentre il tasso di sopravvivenza a 5 anni libero da malattia è in media del $25,8 \pm 6,6\%$ ($16,7 \div 32\%$) (Jaeck et al., 2004). I fattori prognostici associati con favorevoli tassi di sopravvivenza globale sono rappresentati da assenza di cirrosi, presenza di buon compenso funzionale (Child A) nei pazienti cirrotici, bassi livelli preoperatori di alfa-fetoproteina (AFP), diametro del tumore inferiore ai 3 cm, assenza di satellitosi, grado di differenziazione buono o moderato, assenza di invasione vascolare, presenza di capsula peritumorale e margine di resezione indenne. I fattori prognostici associati con assenza di recidiva tumorale sono lo stadio di Child, i livelli preoperatori di AST e ALT, le dimensioni ed il numero di noduli tumorali, l'assenza di satellitosi, i margini di resezione indenni, l'assenza di invasione vascolare e l'eventuale chemio-embolizzazione preoperatoria (Jaeck et al., 2004).

La resezione dell'EC precoce

La prognosi dell'EC precoce sottoposto a trattamento con intento curativo appare assai più favorevole di quanto non generalmente percepito (Tabella 2).

Tabella 2 Resezione chirurgica dell'epatocarcinoma in cirrosi: correlazione tra sopravvivenza e volume del tumore (Arii et al., 2000)

Stadio	N pazienti	Sopravvivenza ad 1 anno	Sopravvivenza a 5 anni
Stadio I, EC <2 cm	1318	96 %	72 %
Stadio I, EC 2-5 cm	2722	95 %	58 %
Stadio II, EC <2 cm	502	92 %	55 %
Stadio II, EC 2-5 cm	1548	95 %	58 %

In un recente studio di Llovet et al. (1999), i tassi di sopravvivenza ad 1, 2, e 3 anni dei pazienti con neoplasia in fase iniziale – definita come un nodulo singolo ≤ 5 cm o 3 noduli di diametro ≤ 3 cm; malattia asintomatica; assenza di invasione vascolare e/o di localizzazione extraepatica – e sottoposti a trattamento con intento curativo mediante resezione chirurgica, trapianto o trattamento percutaneo, appaiono dell'80, 65 e 50%, rispettivamente, mentre scendono al 29, 16 e 8% nei

pazienti con stadio avanzato – inteso come malattia sintomatica; e/o presenza di invasione vascolare, e/o localizzazione extraepatica, e/o dimensioni massime del tumore >5 cm. Oggi, l'introduzione di programmi di *screening* per l'EC nei pazienti affetti da cirrosi consente di diagnosticare molte neoplasie in fasi precoci rispetto al passato. In tal modo, sempre maggiore è il numero di pazienti che giungono alla diagnosi in fasi asintomatiche o paucisintomatiche di malattia e che possono avvantaggiarsi dell'intero spettro di opzioni chirurgiche.

L'estensione della resezione epatica eseguibile in pazienti cirrotici non è definibile a priori, in quanto correlata alla gravità della malattia cirrotica (grado di fibrosi), alla sua eziologia (registrando risultati più sfavorevoli per le cirrosi alcolica ed HCV-correlata) ed al compenso funzionale pre-operatorio (Grazi et al., 2001; Belghiti et al., 2002; Jaeck et al., 2004). In generale, in presenza di una funzione epatica conservata (Child-Pugh A), il paziente può essere sottoposto ad epatectomia regolata se la quantità di parenchima da asportare è ridotta ovvero se la neoplasia è di piccole dimensioni e risiede in una porzione atrofica del parenchima epatico, oppure se essa è di grandi dimensioni e la porzione di parenchima da asportare è minima per consentire una radicalità chirurgica (Capussotti et al., 1994). In entrambi i casi, si consiglia di non asportare una porzione di parenchima superiore al 20%. Nei casi in cui la sede od il numero delle formazioni neoplastiche non consentano un'epatectomia regolata con sacrificio di non più del 20% di parenchima, numerosi autori consigliano di eseguire una resezione limitata - segmentaria o subsegmentaria - che permetta un margine indenne di almeno 10 mm. Inoltre, in considerazione della prevalente modalità di diffusione portale dell'EC, è consigliabile che la resezione epatica avvenga nel rispetto dell'anatomia segmentaria. La semplice tumorectomia è da sconsigliare, in quanto essa non garantisce un sufficiente margine indenne tra il piano di resezione ed il parenchima epatico adiacente. L'efficacia della embolizzazione venosa pre-operatoria al fine di stimolare la rigenerazione epatica ed aumentare l'entità della resezione epatica è assai ridotta nei pazienti cirrotici (Wakabayashi et al., 1997), stante la ridotta capacità rigenerativa del parenchima cirrotico (Nagasue et al., 1987). Non è da escludere la possibilità che lo stimolo rigenerativo induca sviluppo di lesioni neoplastiche occulte nel parenchima epatico controlaterale alla sede di embolizzazione. Quando ci si attiene al rispetto di tali criteri clinici e dei suddetti principi chirurgici, i tassi di sopravvivenza conseguibili con la

resezione chirurgica sono sovrapponibili a quelli del trapianto secondo i criteri di Milano.

Il trattamento delle recidive

Il 50% circa delle recidive di EC in pazienti già sottoposti a resezione si presenta nelle forme di un nodulo solitario o di neoplasie oligonodulari (≤ 3). I tassi di morbi-mortalità operatoria in tali pazienti sono simili a quelli osservati per i pazienti sottoposti a resezione primaria, purché siano rispettati i medesimi criteri di selezione (stadio precoce BCLC) ed i tassi di sopravvivenza appaiono del 30-40% a 5 anni (Farges et al., 1998; Shimada et al., 1998). Nel caso in cui la recidiva sia multifocale o il paziente si trovi in stadi intermedi-avanzati di malattia secondo la classificazione BCLC o la localizzazione non consenta un reintervento con margini indenni e bassa morbilità, il paziente può essere avviato a trattamento loco-regionale mediante chemio-embolizzazione, alcolizzazione o radiofrequenza, sulla base di una selezione caso-per-caso (Tsao et al., 2000). Un approccio recentemente descritto per tale categoria di pazienti con recidiva di EC post-resezione primaria è rappresentato dal cosiddetto OLT di salvataggio (*salvage OLT*). Il razionale di tale opzione terapeutica risiede nella considerazione che alcuni pazienti selezionati possono, all'atto della recidiva, presentare ancora i criteri di trapiantabilità. Recentemente, Belghiti et al. (2003) hanno riportato che la sopravvivenza a lungo termine di 18 pazienti sottoposti ad OLT dopo resezione chirurgica per recidiva di EC è sovrapponibile a quella di 70 pazienti sottoposti a OLT primario per EC. La sopravvivenza a 5 anni dopo l'OLT era del 61% e del 59%, rispettivamente nel gruppo di OLT primario ed in quello di salvataggio; la mortalità a 30 giorni era del 5,6% vs il 5,7%, mentre il tasso di morbilità del 56% vs il 51%. Tuttavia, gli Autori riportano un tasso di reinterventi superiori nell'OLT di salvataggio, suggerendo che tale opzione è tecnicamente più difficile dell'OLT in assenza di chirurgia resettiva precedente. A differenza di quanto riportato da Belghiti, uno studio analogo di Adam et al. (2003) su 17 pazienti riferisce tassi di mortalità operatoria e di sopravvivenza a lungo termine assai più sfavorevoli per i pazienti sottoposti ad OLT dopo recidiva di EC. La questione, quindi, sull'opportunità di sottoporre ad OLT i pazienti affetti da ripresa di malattia dopo resezione appare ancora lungi dall'essere risolta e non esiste allo stato attuale alcuna evidenza conclusiva a supporto di tale pratica.

La resezione dell'EC di grandi dimensioni

Nonostante i favorevoli risultati ottenuti dalla resezione chirurgica nei pazienti della classe precoce della classificazione BCLC, i pazienti con EC di grandi (>5 cm) e molto grandi (>7 cm) dimensioni ed in compenso funzionale (Child A) si avvantaggiano della chirurgia in quanto assai scarse sono le possibilità di trattamento alternativo. In una recente casistica di 55 pazienti cirrotici sottoposti a resezione epatica maggiore per EC di grandi dimensioni od in fase avanzata per presenza di invasione vascolare portale macroscopica, Capussotti et al. (2004) riferiscono favorevoli tassi di sopravvivenza. In particolare, la quasi totalità di tali pazienti apparteneva alla classe Child A; le dimensioni medie degli EC erano di $66,6 \pm 29,2$ mm; 7 pazienti erano affetti da EC >10 cm e 13 presentavano trombosi portale macroscopica. La mortalità post-operatoria precoce dovuta ad insufficienza epatica acuta, emoperitoneo e sepsi secondaria a perforazione duodenale è stata del 5,5%. La morbilità operatoria è stata del 30,9% e principalmente dovuta ad ascite, polmonite od insufficienza epatica transitoria. Tutti i pazienti con EC >10 cm sono stati sottoposti a resezione radicale con tassi di sopravvivenza globale del 51,4% a 3 anni e del 17,1% a 5 anni. Il tasso di sopravvivenza dei pazienti con trombosi portale è stato del 18,5% a 3 e 5 anni. Tali dati sembrano supportare l'evidenza che, in casi di buon compenso funzionale, la chirurgia rappresenta l'unica possibilità di trattamento per pazienti con EC di grandi dimensioni. La presenza di trombosi portale macroscopica, sia pure non costituisca una controindicazione assoluta alla procedura chirurgica e consenta la realizzazione di una procedura radicale, è accompagnata da risultati meno favorevoli.

La resezione dell'EC nell'ambito di un approccio multimodale

I pazienti con malattia oligonodulare (≤ 3) della classe precoce della classificazione BCLC - e che secondo tale protocollo sono candidabili esclusivamente a procedure loco-regionali - possono avvantaggiarsi della combinazione della strategia chirurgica con le moderne opzioni loco-regionali, quali l'ablazione per radiofrequenza (*Radiofrequency Ablation, RFA*), l'alcolizzazione o la chemio-embolizzazione, in modo sequenziale o sincrono alla resezione chirurgica. In tali pazienti, l'obiettivo della chirurgia è piuttosto quello di consentire un controllo locale della patologia neoplastica, in funzione del grado di compenso funzionale, piuttosto che di conseguire una presupposta radicalità. Per tale ragione, al pari di altri Autori (Tsao et al., 2000), pazienti con

patologia oligonodulare in classe A di Child trovano indicazione all'eventuale associazione della resezione chirurgica con RFA od alcolizzazione, in funzione delle caratteristiche delle lesioni neoplastiche, delle loro dimensioni e localizzazione (in prossimità o meno di strutture vascolari maggiori). Parimenti, la recidiva oligonodulare di EC dopo trattamento chirurgico in pazienti in condizioni di buon compenso funzionale può essere trattata mediante l'utilizzo sequenziale delle metodiche loco-regionali combinate con la chirurgia.

Conclusioni

La resezione chirurgica gioca ancor oggi un ruolo importante nella terapia dell'EC. Pur rappresentando l'OLT il trattamento ideale per pazienti con EC di piccole dimensioni (≤ 5 cm) insorto in cirrosi ed in assenza di invasione vascolare, l'opzione trapiantologica non è sempre perseguibile per le limitazioni imposte dalla scarsità dei donatori, dai tempi di attesa in lista, dalla morbilità propria del trapianto e della terapia immunosoppressiva, nonché dai risultati più sfavorevoli dei pazienti affetti da recidiva HCV. La resezione appare principalmente indicata in pazienti allo stadio precoce della classificazione BCLC, HCV positivi, in buon compenso biochimico (bilirubina < 1 mg) e con bassi valori di ipertensione portale (HVPG < 10 mmHg). La resezione trova la sua collocazione anche nei pazienti affetti da EC di grandi dimensioni, purché in buon compenso funzionale (Child A). I pazienti con stadio precoce di malattia oligonodulare (≤ 3) possono avvantaggiarsi di un trattamento chirurgico nell'ambito di un algoritmo terapeutico multimodale che preveda, caso per caso, l'associazione sequenziale o la combinazione sincrona della resezione con le moderne modalità loco-regionali (RFA, alcolizzazione, chemio-embolizzazione).

Trapianto e criteri di selezione

Il trapianto di fegato si è dimostrato un'efficace terapia dell'epatocarcinoma (EC) i cui buoni risultati dipendono, in gran parte, da un'adeguata selezione dei pazienti. Dal 1998, per la selezione dei pazienti con EC al trapianto di fegato, vengono largamente utilizzati, a livello internazionale, i criteri di Milano (Mazzaferro et al., 1996).

Tali criteri indicano che dovrebbero essere accettati come candidati per trapianto di fegato solo pazienti con EC che, allo studio per immagini, risultino avere:

- nodulo singolo ≤ 5 cm;
- non più di 3 noduli di dimensioni ciascuno ≤ 3 cm.

In accordo ai suddetti criteri, le indicazioni al trapianto di fegato sono:

- EC non resecabile in paziente con cirrosi epatica di qualunque etiologia, (ad esempio: nodulo, la cui resezione sacrificerebbe il lobo destro esponendo il paziente ad alto rischio di insufficienza epatica post-resettiva);
- EC non resecabile in assenza di malattia di fegato;
- EC in paziente con cirrosi epatica e ridotta funzione parenchimale;
- EC multifocale.

Le controindicazioni assolute al trapianto di fegato, oltre a quelle valide per le altre indicazioni (Carithers, 2000), sono costituite dalla presenza di:

- invasione macroscopica della vena porta e delle sovraepatiche;
- malattia extra-epatica.

La diagnosi iniziale di EC deve essere confermata da due studi di immagini (ecografia, angiografia, TC o RM) o da uno studio per immagini positivo per lesione ipervascolare, in presenza di alfa-fetoproteina >400 $\mu\text{g/L}$ (Bruix et al., 2001). Una volta posta la diagnosi, è necessario effettuare TC del torace e scintigrafia ossea per escludere localizzazioni extra-epatiche. Dopo l'inserimento in lista d'attesa per trapianto, la TC addome o l'RM devono essere ripetute ogni 3 mesi, la TC torace ogni 6 mesi e, qualora le precedenti indagini dimostrassero progressione di malattia, la scintigrafia ossea. Va ricordato che le metodiche di *imaging*, anche se si sono notevolmente affinate negli ultimi anni, raggiungono complessivamente una sensibilità dell'88% per le lesioni principali ed una sensibilità del 22-41% per noduli satelliti. Circa il 20-30% dei tumori intraepatici, soprattutto quelli inferiori al centimetro, non sono diagnosticabili con alcuna tecnica. La RM raggiungerebbe un'accuratezza diagnostica nella caratterizzazione di lesioni principali e noduli satelliti, superiore (50%) all'ecografia (33%) e alla TC (25%), ma i dati a riguardo sono ancora limitati (Yao et al, 2001).

I criteri di Milano sono stati recentemente incorporati nell'*American Liver Tumor Study Group Modified Tumor-Node-Metastasis* (TNM) *staging* per il trapianto di fegato, perché il tradizionale pTNM non aveva potere prognostico tale da consentire la stratificazione dei pazienti

secondo il rischio di ripresa dell'EC nel post-trapianto (American Liver Tumor Study Group, 1998; Llovet et al., 1998). I nuovi criteri TNM sono:

- T1** ≤ 1.9 cm
- T2** un nodulo 2-5 cm; 2 o 3 noduli, almeno uno >3 cm
- T3** 1 nodulo > 5 cm, due o tre noduli almeno uno ≤ 3 cm
- T4 a** quattro o più noduli di qualunque diametro
- T4 b** qualsiasi T con invasione vascolare intraepatica (vena porta/sovrappatiche)

Dal 1998 al 2002 la classificazione UNOS (*United Network of Organ Sharing*) ha stratificato i pazienti con insufficienza epatica cronica nelle 3 classi: 2A, 2B e 3, stabilendo la priorità di allocazione d'organo sul CPT (*Child-Pugh-Turcotte*) score e sul tempo d'attesa in lista (*United Network for Organ Sharing: Annual report and the OPTN waiting list*). I pazienti con EC, classificati negli stadi T1 e T2 secondo i criteri di Milano, rientravano nella categoria 2B. Con questo sistema di allocazione, il rischio di *drop out* per i pazienti con EC era intorno al 40% per anno. Nel Febbraio 2002, con l'evidenza della limitata utilità del CPT score nell'indicare la severità di malattia e nel discriminare i pazienti più gravi, l'UNOS ha stabilito la priorità d'allocazione degli organi per tutti i potenziali candidati nella lista d'attesa, utilizzando il MELD (*Model for End Stage Liver Disease*). Il MELD è un sistema a punteggi da 6 a 40, calcolato sui valori dell'*International Normalized Ratio* (INR), creatinina e bilirubina sulla base di un'equazione reperibile in Internet (<http://www.mayoclinic.org/gi-rst/mayomodel6.html>), capace di predire la mortalità a 3 mesi utilizzando variabili standardizzate, facilmente riproducibili ed oggettive (Wiesner et al., 2003) (Figura 5).

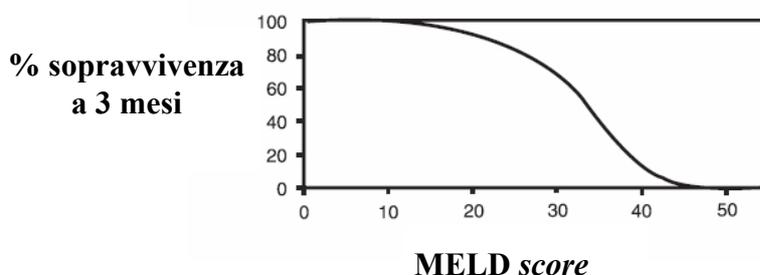
Molti dei pazienti con EC, al momento dell'inserimento in lista d'attesa, hanno funzionalità epatica conservata e basso rischio di mortalità secondo il MELD calcolato sui parametri di laboratorio (MELD clinico). Con l'obiettivo di ridurre quindi il rischio di *drop out* per progressione dell'EC, il MELD score è stato "aggiustato" al fine di eguagliare il rischio di progressione con il rischio di mortalità. Inizialmente fu assegnato un punteggio di 24 ai pazienti con tumore in stadio T1, corrispondente ad una mortalità attesa a 3 mesi del 15% ed un punteggio di 29 all'EC in stadio T2 riflettendo una mortalità del 30% a 3 mesi.

Questo sistema di attribuzione del punteggio MELD venne modificato circa un anno dopo, in seguito alla verifica che la percentuale di *drop out* nell'era MELD non era cambiata rispetto al periodo precedente, la

probabilità di pazienti con EC di essere trapiantati entro tre mesi era del 90% e la mortalità in lista d'attesa dei pazienti con cirrosi e MELD superiore a 25 era aumentata. In seguito, a tale modifica venne deciso di assegnare 24 punti al T2 e 20 punti al T1. La situazione attuale, in vigore dal novembre 2003, prevede che il T1 non sia più considerato come elemento di calcolo del MELD ed i pazienti con EC in T1 mantengano esclusivamente il MELD clinico (Yao et al., 2004). Questi pazienti devono essere soggetti a monitoraggio trimestrale della progressione del tumore, per eventuale modifica del punteggio assegnato.

In Italia, a conclusione dei lavori della Commissione sul trapianto di fegato dell'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF), il sistema MELD è stato indicato come il criterio da utilizzare per la gestione delle liste d'attesa (Trapianto di fegato non urgente dell'adulto, A.I.S.F.2004).

Figura 5 Rappresentazione grafica della sopravvivenza pre-trapianto secondo il *Meld score*



Risultati

I dati attualmente disponibili evidenziano che la sopravvivenza a 5 anni di pazienti con EC, che rientrano nei criteri di Milano, è superiore al 70% con un tasso di recidiva, nello stesso periodo, inferiore al 15% (Tabella 3).

Tabella 3

Trapianto di fegato	Numero di pazienti	Sopravvivenza attuariale %	
		1 anno	5 anni
Autori			
Mazzaferro et al. 1996	48	84	74*
Llovet et al. 1998	58	84	74
Bismuth et al. 1999	45	82	74
Llovet et al. 1999	79	86	75
<i>Intention-to-treat analysis</i>	87	84	69
Jonas et al. 2001	120	90	71
Yao et al. 2001	64	87	73

* *Sopravvivenza a 4 anni*

I buoni risultati ottenuti con il trapianto, rispettando i criteri di Milano, hanno spinto alcuni Centri a valutare la possibilità di trapiantare pazienti con tumore a stadi più avanzati. Il gruppo dell'Università di San Francisco (UCSF) ha recentemente riportato che, in una coorte di 70 pazienti, la sopravvivenza a 5 anni dopo trapianto di fegato per EC singolo ≤ 6.5 cm o per ≤ 3 noduli con la lesione più grande ≤ 4.5 cm e diametro totale ≤ 8 cm (criteri UCSF) era del 74%, mentre si riduceva al 50% nei pazienti trapiantati con EC oltre tali limiti. E' stato anche calcolato che, l'espansione dei criteri di Milano ai criteri UCSF, includerebbe il 23% dei pazienti altrimenti esclusi dal trapianto (Yao et al., 2001; Yao et al., 2002).

Questi ed altri dati disponibili in letteratura indicano l'opportunità di rivedere i criteri di trapiantabilità per EC, anche tenendo conto delle nuove e più accurate tecniche di diagnostica per immagini. L'espansione oltre i criteri di Milano nella pratica clinica dovrebbe comunque avvenire nel contesto di studi controllati.

Dall'analisi multivariata di Iwatsuki et al. (2000), i fattori che più accuratamente predicono la sopravvivenza libera da EC, dopo trapianto, sono la distribuzione lobare, la dimensione del tumore e l'invasione vascolare. Anche il grado istologico sembra influenzare negativamente la prognosi (Molmenti et al., 2002).

Un discreto numero di contributi scientifici dimostrano che il *grading* e l'invasione vascolare microscopica rappresentano *markers* diretti dell'aggressività biologica tumorale e quindi del rischio di ricorrenza

post trapianto rispetto ai criteri di Milano (Klintman, 1998; Jonas et al., 2001; Tamura et al., 2001). Di questi 2 parametri, solo il grading è potenzialmente valutabile preoperatoriamente mediante agobiopsia ecoguidata.

Negli ultimi anni, sono stati fatti importanti passi in avanti nella caratterizzazione degli aspetti patogenetici dell'EC e sempre più va affermandosi l'idea che sia necessario studiare le caratteristiche molecolari del tumore per poterne valutare adeguatamente la prognosi. L'uso delle tecnologie di *microarrays*, che consentono lo studio dell'espressione di migliaia di geni contemporaneamente, ha portato all'identificazione di sottoclassi di EC, distinte per *clusters* genici e comportamenti biologici, che si sono dimostrate associate a sopravvivenze diverse (Lee et al., 2004). E' prevedibile che ulteriori studi, attraverso l'analisi sistematica dell'espressione genica, permetteranno di definire meglio i diversi profili genici dell'EC associati con la recidiva e le metastasi intraepatiche, fornendo in tal modo informazioni rilevanti per la selezione dei pazienti da trapiantare o da sottoporre ad eventuali trattamenti adiuvanti nel post-trapianto, perché ad alto rischio di ripresa.

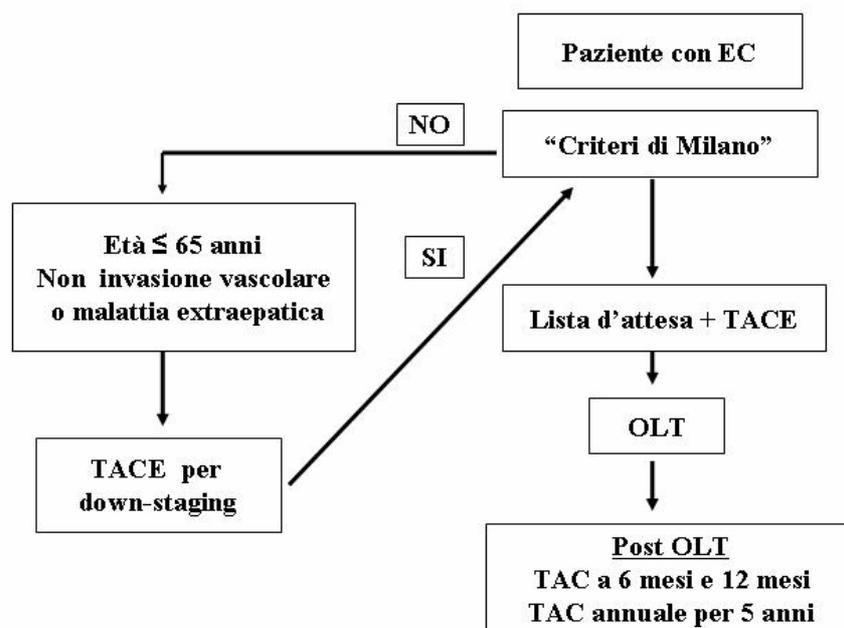
Down-staging e trattamento dell'EC in lista d'attesa

Una volta che un paziente con EC sia stato inserito in lista d'attesa per trapianto, sorge l'esigenza di rallentare la progressione del tumore evitando così il superamento dei criteri di trapiantabilità nel periodo di attesa.

Una metanalisi del 2003 del gruppo di Barcellona ha evidenziato l'efficacia della chemio-embolizzazione intrarteriosa (TACE/TAE) nel prolungare la sopravvivenza dei pazienti con EC non resecabile (sopravvivenza a 2 anni del 41% versus il 27% in assenza di trattamento), (Llovet, Bruix 2003). Questa evidenza rappresenta la base per la pratica clinica, che vede numerosi Centri trattare pazienti con EC in attesa di trapianto mediante trattamento intra-arterioso dell'arteria epatica.

La TACE può venire utilizzata anche per trattare pazienti con EC più avanzati dei criteri di Milano, con l'obiettivo di ridurre le dimensioni del tumore (*down-staging*) riportandolo all'interno di tali criteri e quindi della trapiantabilità. In Figura 6 è riportato l'algoritmo in uso all'ISMETT di Palermo per il trattamento dei pazienti con EC in relazione al trapianto di fegato (Graziadei et al, 2003; Llovet, Burroughs et al, 2003; Vizzini et al, 2004).

Figura 6 Algoritmo del trattamento dei pazienti con EC in lista d'attesa in uso presso il centro ISMETT di Palermo



OLT = *Orthotopic Liver Transplantation*

Il gruppo di Milano ha recentemente descritto l'efficacia e la sicurezza della termoablazione nel trattamento di pazienti con EC in attesa di trapianto di fegato e questa è un'altra possibile metodica per perseguire l'obiettivo di ritardare la progressione o ottenere il *down-staging* del tumore (Mazzaferro et al., 2004).

Come affermato da Bruix (2003) tuttavia, il vero problema è quello di stabilire quali siano i criteri di esclusione minimi (*drop out*) dei pazienti in lista. In altre parole, è giusto escludere i pazienti il cui tumore progredisce oltre i criteri di Milano durante l'attesa in lista oppure bisogna utilizzare come criteri assoluti di esclusione solo l'invasione vascolare macroscopica e la diffusione extraepatica di malattia? E' evidente che la prima opzione garantisce ottime sopravvivenze post-trapianto, ma con elevati tassi di *drop out* pre-trapianto (bassa sopravvivenza *intention to treat*), mentre la seconda opzione deve essere ancora verificata in modo numericamente significativo.

Il trapianto da donatore vivente (LDLT)

Nonostante recentemente si siano affermate strategie e tecniche, quali l'uso di donatori marginali e lo *split liver*, per aumentare la disponibilità di organi da cadavere, lo squilibrio tra domanda e disponibilità rimane grave (Gridelli et al., 2000). Questo ha portato a considerare sempre più spesso la possibilità di ricorrere al trapianto di fegato da donatore vivente. È ampiamente dimostrato che i risultati migliori del trapianto da donatore vivente sono ottenibili in pazienti con funzionalità epatica ancora discretamente conservata, quali appunto i pazienti con EC.

Per essere avviati al trapianto di fegato da donatore vivente, i pazienti devono essere preliminarmente inseriti in lista d'attesa per trapianto da cadavere. Ciò, almeno in Italia, significa che i criteri di trapiantabilità per EC dovrebbero essere gli stessi per il trapianto da vivente e da cadavere.

Il trapianto da donatore vivente è un'alternativa proponibile a circa il 20% dei pazienti candidati al trapianto (Renz et al., 2000) e da una recente analisi di costo-efficacia è stato dimostrato che i benefici di questo tipo di trapianto per EC si manifestano quando si prevede un tempo d'attesa in lista superiore a 7 mesi (Sarasin et al., 2001). Sino ad oggi, sono stati realizzati nel mondo circa 3000 trapianti da vivente, ma mancano ancora studi specifici sui risultati a lungo termine nei pazienti con EC.

10.0 DIREZIONI FUTURE

L'EC associato a cirrosi epatica è una delle neoplasie più frequenti nell'uomo, per il quale è stato registrato un incremento di incidenza correlato principalmente all'infezione da virus della epatite C, ma anche ad altre epatopatie croniche emergenti nel mondo occidentale (Bugianesi et al., 2002).

In passato, la sua prognosi è sempre stata considerata pessima: la diagnosi clinica si realizzava di solito quando la neoplasia era ormai in stadio avanzato con una sopravvivenza stimata in mesi. L'approccio chirurgico era spesso impossibile o riguardava una stretta minoranza di casi con un vantaggio sulla sopravvivenza solo in casi selezionati.

Tuttavia, verso la fine degli anni '80, qualcosa sembrò cambiare; il crescente impiego della ecotomografia per una valutazione non invasiva delle epatopatie croniche portò a riconoscere questo tipo di neoplasia in fasi più precoci rispetto a quelle già associate a sintomi clinici; il trattamento chirurgico effettuato su tumori in fase meno avanzata fu pertanto seguito da un miglioramento prognostico.

Un ulteriore importante passo avanti nella gestione di questa malattia si ebbe con l'applicazione del trapianto epatico, limitato ad un ristrettissimo numero di pazienti per la carenza di organi da utilizzare e con lo sviluppo di tecniche non chirurgiche (chemio-embolizzazione transarteriosa, alcolizzazione, radiofrequenza ed altre) che hanno sensibilmente allargato il numero dei pazienti trattabili.

Le tecniche di ablazione percutanea (alcolizzazione, radiofrequenza e microonde) hanno rappresentato negli ultimi 15 anni la vera novità nel trattamento di questo tipo di neoplasia (Kudo, 2004), mentre non sono stati sintetizzati farmaci efficaci per il suo trattamento.

La radioterapia è utile solo per il trattamento delle metastasi ossee mentre, a livello epatico, sono state sviluppate finora limitate esperienze con acceleratore lineare di protoni e con iniezione intra-arteriosa di Lipiodol associato a radionuclidi (Lau et al., 1999; De Ruyck et al., 2004).

La sopravvivenza per pazienti portatori di EC associato a cirrosi e sottoposti ad uno dei trattamenti citati può essere oggi stimata attorno al 50-60% a 5 anni e superiore al 75% per quelli sottoposti a trapianto epatico.

I campi in cui la ricerca è oggi impegnata a trovare nuove soluzioni per i problemi aperti possono essere così sintetizzati:

- 1) *Screening* efficace (diagnosi precoce non invasiva mediante markers predittivi di rischio elevato).
- 2) Incremento del numero dei pazienti trapiantabili (più organi a disposizione, *split liver*, *living-donor* affinché si possa modificare la limitazione per età).
- 3) Maggiore induzione della necrosi locale (riduzione delle recidive locali dopo ablazione e possibilità di ottenere maggiore necrosi per le lesioni >3cm).
- 4) Riduzione delle recidive a distanza (carcinogenesi “*de novo*”) con farmaci che alterano la differenziazione cellulare (derivati dell’acido retinoico); farmaci che stimolano le difese immunitarie (alfa-Timosina, Interferone, vaccini NK o T cell, Dendritic cells e CD8 T cell stimulators, altri).
- 5) Nuovi chemioterapici e farmaci inibitori di neovascolarizzazione per rallentare la progressione o a meccanismo ormonale.
- 6) Farmaci che rallentano la progressione delle forme avanzate.

Screening

Le linee guida dell’ultima Conferenza Monotematica della EASL tenutasi a Barcellona nel 2000 consigliano lo *screening* per l’EC mediante controllo ecotomografico associato al dosaggio di AFP ogni 6 mesi nei pazienti con cirrosi epatica (Bruix et al., 2001).

Alcuni studi circa l’efficacia di uno *screening* di questo tipo indicherebbero un modesto vantaggio nei confronti della scoperta occasionale di EC (Bolondi et al., 2001; Sangiovanni et al., 2004), pertanto un miglioramento dello *screening* potrebbe passare attraverso una selezione più accurata dei soggetti a rischio.

Sono state proposte alcune indagini sulla displasia epatocellulare come fattore predittivo di rischio neoplastico (van Dekken et al., 2003), tuttavia per la loro invasività, non sono utilizzabili su vasta scala.

Nuovi markers sierologici quali sottofamiglie dell’AFP (Sato et al., 1996), la proteina 2 veicolante il fattore di crescita insulino simile (IGFBP-2) (Ranke et al., 2003), il fattore di crescita I insulino simile (Mazziotti et al., 2002) e la parte solubile NH2 terminale del Glipicano (sGPC3) (Hippo et al., 2004) potrebbero essere validati in futuro come indicatori precoci di EC da utilizzare a livello di *screening* non invasivo.

Trapianto epatico

L'aumento del numero di organi disponibili per il trapianto passa attraverso una più matura coscienza civile della popolazione o attraverso disposizioni legislative, che esulano dai contenuti di questo aggiornamento. Un più ampio utilizzo della tecnica dello *split liver* e del trapianto da donatore vivente possono ovviare, ma solo in minima parte, alla attuale carenza di organi.

Nuovi criteri per una migliore selezione dei pazienti con EC da sottoporre al trapianto potrebbero derivare dalla valutazione di nuovi marcatori molecolari quali l'indice di proliferazione MIB-1 e l'espressione di E-caderina e di beta-catenina nucleare (Fiorentino et al., 2004).

Necrosi locale da tecniche di ablazione percutanea

I limiti attuali alla ablazione percutanea riguardano essenzialmente il volume di tessuto neoplastico da necrotizzare. I risultati migliori sono ottenuti infatti nel caso di lesioni di piccole dimensioni (fino a 3 cm di diametro): nel 80-95% dei casi è stata raggiunta necrosi totale dopo una sola seduta di radiofrequenza. Lesioni più grandi richiedono in genere più sedute, ognuna delle quali con multiple esposizioni; la percentuale di necrosi totale è stimabile attorno al 71% per lesioni di tipo espansivo da 3 a 5 cm di diametro e al 25 % per quelle superiori a 5 cm (Livraghi et al., 2000). Si tenga conto inoltre, che nell'esperienza del Gruppo del prof. Rizzetto le recidive locali (espressione di necrosi incompleta) sono almeno il 20% ad 1 anno, già con le lesioni inferiori a 3 cm.

La possibilità di ottenere necrosi più estese, a costo di una maggiore percentuale di complicanze per interessamento di visceri vicini, potrebbe essere raggiunta con modifiche delle apparecchiature (nuovi aghi e generatori), miglioramenti della tecnologia delle microonde (riduzione del calibro degli aghi), modificazioni della tecnica come radiofrequenza in condizioni iperbariche (Rossi A, comunicazione personale) o modelli matematici che migliorino la performance nella scelta delle inserzioni (Chen et al., 2004).

Una sperimentazione pilota che ha utilizzato la tecnica della radiofrequenza associata alla somministrazione endovenosa di doxorubicina veicolata da liposomi ha portato ad un incremento della necrosi delle lesioni trattate (Goldberg et al., 2002) e necessita di una verifica su casistiche allargate.

Riduzione della differenziazione cellulare

Acido poliprenoico. Un derivato aciclico dell'acido retinico, l'acido poliprenoico, è stato proposto alcuni anni fa per la prevenzione di nuove lesioni nei pazienti con EC già trattato nella sede primaria (Muto et al., 1996). Dopo tale segnalazione, non sono stati pubblicati altri lavori significativi sull'argomento.

Questo farmaco è stato recentemente proposto nella prevenzione dell'insorgenza del EC nei pazienti con cirrosi epatica. Infatti, la somministrazione orale di retinoide aciclico avrebbe prevenuto la ricorrenza di EC associata alla scomparsa nel siero di una sottofamiglia di alfa-fetoproteina (*lectin-reactive* AFP) che viene considerata un marker di cloni latenti di carcinoma. Il meccanismo d'azione sarebbe da ricercare nel ripristino di recettori per l'acido retinico, che è correlato con alcuni dei meccanismi di apoptosi (Yasuda et al., 2002); anche l'apoptosi indotta dagli interferoni sarebbe ripristinata dal retinoide aciclico. La chemoprevenzione del EC potrebbe pertanto, diventare un'importante tappa nella gestione di questi pazienti (Kojima et al., 2004).

Interferone. L'uso di interferone per la prevenzione di recidive nei pazienti già trattati con successo per una precedente localizzazione è stato proposto sulla base di studi retrospettivi e di piccoli studi pilota. In genere, il piccolo numero di casi trattati non ha permesso finora di addivenire a conclusioni scientificamente provate anche se i risultati di vari lavori sono tendenzialmente concordanti e pertanto promettenti (Kudo, 2004; Lin et al., 2004; Yoshida et al., 2004).

Sono in corso di attuazione studi prospettici controllati che coinvolgono molti centri specializzati e basati su un numero adeguato di osservazioni che potranno dare una risposta definitiva a questa proposta terapeutica.

Gene-based cancer vaccini, cellule dendritiche e linfociti. La possibilità di identificare antigeni tumorali specifici ed una maggiore conoscenza dei meccanismi coinvolti nell'immunologia del fegato e dei tumori potrebbero portare a vaccini anti-tumorali. Sono in corso trials clinici di fase I e II su vaccini peptidici e immunoterapia con cellule dendritiche (Geissler et al., 2003).

L'interesse per le cellule dendritiche ed i linfociti nei pazienti con EC è andato aumentando negli ultimi anni. Uno studio pubblicato nel 2003 ha evidenziato che sia la sopravvivenza che l'intervallo libero da malattia sono significativamente migliori nei pazienti con EC, che presentano nel tessuto neoplastico un importante infiltrato di cellule dendritiche associato ad infiltrato linfocitario (Yin et al., 2003).

E' stato dimostrato che le stesse terapie percutanee (alcolizzazione e radiofrequenza) possono essere fattori promoventi l'infiltrazione di cellule dendritiche nella settimana successiva all'intervento di ablazione. Farmaci potenzialmente in grado di stimolare e rinforzare le reazioni immunologiche di questo tipo (alfa1-timosina, interferone, NKT cell, dendritic cells e CD8 T cell stimulators, altri) sono oggetto di studio.

Farmaci chemioterapici ed altri

L'EC è da sempre classificato come un tumore chemioresistente e anche negli ultimi anni non sono stati prodotti farmaci che abbiano modificato questa situazione.

Alcuni studi pilota sulla efficacia della capecitabina, un farmaco simile al tegafur, somministrabile per via orale ed utilizzato per il carcinoma del colon, non hanno dimostrato una risposta apprezzabile rispetto alla terapia conservativa.

Al di là della chemioterapia convenzionale sono stati proposti altri approcci, quali la riduzione della neovascolarizzazione tipica di questa neoplasia con farmaci come il talidomide, ma gli studi finora effettuati non hanno prodotto risultati incoraggianti anche se in casi isolati di pazienti in fase avanzata è stata osservata una risposta parziale (Wang et al., 2004).

L'utilizzazione di farmaci anti-recettori degli estrogeni (tamoxifene ed altri) è stata abbandonata dopo la pubblicazione di studi randomizzati e controllati, che non hanno dimostrato vantaggi. Sono descritti singoli pazienti con EC che hanno risposto in modo convincente al trattamento ormonale. Non esiste evidenza che i farmaci antagonisti per i recettori della somatostatina (octeotride, lanreotide) abbiano attività anti-EC (Samonakis et al., 2002; Yuen et al., 2003).

Farmaci per il rallentamento delle forme avanzate

L'osservazione che in molti casi il EC si dimostra auxotrofico per l'arginina ha indotto a tentare trattamenti per ridurre l'arginina plasmatica al fine di rallentare la crescita del tumore. Poiché l'enzima arginina deiminasi è in grado di degradare l'arginina, sono stati eseguiti studi di fase I/II con arginina deiminasi coniugata con glicol polietilenico (Park, 2003). In una serie di 19 pazienti sottoposti a tale trattamento, la riduzione di arginina a livelli non più rilevabili è stata bene tollerata e ha determinato una risposta completa o parziale in circa la metà dei casi (Izzo et al., 2004).

11.0 BIBLIOGRAFIA

EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

- Adami H-O, Hsing AW, McLaughlin JK, et al. Alcoholism and liver cirrhosis in the etiology of primary liver cancer. *Int J Cancer* 1992; 51: 898-902
- Beasley RP, Hwang L-Y, Lin C-C, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. *Lancet* 1981; 2: 1129-1133
- Bosetti C, La Vecchia C, Lipworth L, McLaughlin K. Occupational exposure to vinyl chloride and cancer risk: A review of the epidemiologic literature. *Eur J Cancer Prev* 2003; 12: 427-430
- Chen ZM, Liu BQ, Boreham J, Wu YP, Chen JS, Peto R. Smoking and liver cancer in China; case-control comparison of 36,000 liver cancer deaths vs. 17,000 cirrhosis deaths. *Int J Cancer* 2003; 107: 106-112
- Colombo M, de Franchis R, Del Ninno E, et al. Hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991; 325: 675-680
- Donato F, Boffetta P, Puoti M: A meta-analysis of epidemiological studies on the combined effect of hepatitis B and C virus infections in causing hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1998; 75: 347-354
- Hsing AW, Guo W, Chen J, et al. Correlates of liver cancer mortality in China. *Int J Epidemiol* 1991; 20: 54-59
- Kuper HE, Tzonou A, Kaklamani E, Hadziyannis S, Tasopoulos N, Laggiou P, Trichopoulos D, Stuver S. Hepatitis B and C viruses in the etiology of hepatocellular carcinoma; a study in Greece using third-generation assays. *Cancer Causes Control* 2000; 11: 171-175
- La Vecchia C, Lucchini F, Franceschi S, Negri E, Levi F. Trends in mortality from primary liver cancer in Europe. *Eur J Cancer* 2000; 36: 909-915
- La Vecchia C, Negri E, Cavalieri D'Oro L, Franceschi S. Liver cirrhosis and the risk of primary liver cancer. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7: 315-320
- La Vecchia C, Negri E, Decarli A, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Northern Italy. *Int J Cancer* 1988; 42: 872-876
- La Vecchia C, Negri E, Pelucchi C. The rise and fall in primary liver cancer mortality in Italy. *Digestive Liver Dis* 2002; 34: 169-171

- Levi F, Lucchini F, Negri E, Boyle P, La Vecchia C. Cancer mortality in Europe, 1995-1999, and an overview of trends since 1960. *Int J Cancer* 2004; 110: 155-169
- Lingao AL, Domingo EO, Nishioka K. Hepatitis B virus profile of hepatocellular carcinoma in the Philippines. *Cancer* 1981; 48: 1590-1595
- Linsell CA, Peers FG. Field studies on liver cell cancer. In: *Origins of Human Cancer*, Hiatt HH, Watson JD, Winsten JA (eds.). Book A. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1977: 549-556.
- McGlynn KA, Tsao L, Hsing AW, Devesa SS, Fraumeni JF Jr. International trends and patterns of primary liver cancer. *Int J Cancer* 2001; 94: 290-296
- Nomura A, Stemmermann GN, Wasnich RD. Presence of hepatitis B surface antigen before primary hepatocellular carcinoma. *JAMA* 1982; 247: 2247-2249
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J cancer* 2001; 94: 153-156
- Schreiber WM, Kato H, Robertson JD. Primary carcinoma of the liver in Hiroshima and Nagasaki, Japan. *Cancer* 1970; 26: 69-75
- Simonetti RG, Camma C, Fiorello F, Cottone M, Rapicetta M, Marino L, Fiorentino G, Craxi A, Ciccaglione A, Giuseppetti R, et al.. Hepatitis C virus infection as a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. A case-control study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 97-102
- Stroffolini T, Chiaramonte M, Tiribelli C et al. Hepatitis C virus infection, HBsAg carrier state and hepatocellular carcinoma: Relative risk and population attributable risk from a case-control study in Italy. *J Hepatol* 1992; 16: 360-363
- Tabor E, Kobayashi K. Hepatitis C virus, a causative infectious agent of non-A, non-B hepatitis: Prevalence and structure: Summary of a Conference on Hepatitis C Virus as a Cause of Hepatocellular Carcinoma. *J Natl Cancer I* 1992; 84: 86-90
- Trichopoulos D, Day NE, Kaklamani E et al. Hepatitis B virus, tobacco smoking and ethanol consumption in the etiology of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1987; 39: 45-49
- Trichopoulos D, MacMahon B, Sparros L et al. Smoking and hepatitis B-negative primary hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer I* 1980; 65: 111-114

- Trichopoulos D, Tabor E, Gerety RJ et al. Hepatitis B and primary hepatocellular carcinoma in a European population. *Lancet* 1978; 2: 1217-1219
- Tsukuma H, Hiyama T, Oshima A et al. A case-control study of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan. *Int J Cancer* 1990; 45: 213-236
- WHO, IARC. Hormonal contraception and Post-menopausal Hormonal Therapy. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum* 1999; 72
- Yu H, Harris RE, Kabat GC et al. Cigarette smoking, alcohol consumption and primary liver cancer: A case-control study in the USA. *Int J Cancer* 1988; 42: 325-328
- Yu MC, Mack T, Hanisch R et al. Hepatitis, alcohol consumption, cigarette smoking, and hepatocellular carcinoma in Los Angeles. *Cancer Res* 1983; 43: 6077-6079
- Zavitsanos X, Hatzakis A, Kaklamani E et al. Association between hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma using assays based on structural and nonstructural hepatitis C virus peptides. *Cancer Res* 1992; 52: 5364-5367

PATOGENESI E BASI GENETICHE

- Block TM, Mehta AS, Fimmel CJ, Jordan R. Molecular viral oncology of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2003; 22: 5093-5107
- Borzio M, Fargion S, Borzio F, Fracanzani AL, Croce AM, Stroffolini T, Oldani S, et al. Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol* 2003; 39: 208-214
- Bruix J, Boix L, Sala M, Llovet JM. Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2004; 5: 215-219
- Buendia MA. Genetic alterations in hepatoblastoma and hepatocellular carcinoma: common and distinctive aspects. *Med Pediatr Oncol* 2002; 39: 530-535
- Chirillo P, Pagano S, Natoli G, Puri PL, Burgio VL, Balsano C, Levrero M. The hepatitis B virus X gene induces p53-mediated programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8162-8167
- Colombo M, Sangiovanni A. Etiology, natural history and treatment of hepatocellular carcinoma. *Antiviral Res* 2003; 60: 145-150

- Feitelson MA, Sun B, Satiroglu Tufan NL, Liu J, Pan J, Lian Z. Genetic mechanisms of hepatocarcinogenesis. *Oncogene* 2002; 21: 2593-2604
- Giambartolomei S, Covone F, Levrero M, Balsano C. Sustained activation of the Raf/MEK/Erk pathway in response to EGF in stable cell lines expressing the Hepatitis C Virus (HCV) core protein. *Oncogene* 2001; 20: 2606-2610
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70
- Kim JW, Wang XW. Gene expression profiling of preneoplastic liver disease and liver cancer: a new era for improved early detection and treatment of these deadly diseases? *Carcinogenesis* 2003; 24: 363-369
- Kinzler KW, Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 1996; 87: 159-170
- Koike K. Hepatocarcinogenesis in hepatitis viral infection: lessons from transgenic mouse studies. *J Gastroenterol* 2002; 37 (Suppl 13): 55-64
- Laurent-Puig P, Legoix P, Bluteau O, Belghiti J, Franco D, Binot F, Monges G, et al. Genetic alterations associated with hepatocellular carcinomas define distinct pathways of hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2001; 120: 1763-1773
- Levrero M, De Laurenzi V, Costanzo A, Gong J, Wang JY, Melino G. The p53/p63/p73 family of transcription factors: overlapping and distinct functions. *J Cell Sci* 2000; 113: 1661-1670
- Nakashima Y, Nakashima O, Tanaka M, Okuda K, Nakashima M, Kojiro M. Portal vein invasion and intrahepatic micrometastasis in small hepatocellular carcinoma by gross type. *Hepatol Res* 2003; 26: 142-147
- Paradis V, Bieche I, Dargere D, Laurendeau I, Laurent C, Bioulac Sage P, Degott C, et al. Molecular profiling of hepatocellular carcinomas (HCC) using a large-scale real-time RT-PCR approach: determination of a molecular diagnostic index. *Am J Pathol* 2003; 163: 733-741
- Park YN, Chae KJ, Kim YB, Park C, Theise N. Apoptosis and proliferation in hepatocarcinogenesis related to cirrhosis. *Cancer* 2001; 92: 2733-2738
- Paterlini-Brechot P, Saigo K, Murakami Y, Chami M, Gozuacik D, Mugnier C, Lagorce D, et al. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis occurs frequently in human liver cancers and

recurrently targets human telomerase gene. *Oncogene* 2003; 22: 3911-3916

- Roskams TA, Libbrecht L, Desmet VJ. Progenitor cells in diseased human liver. *Semin Liver Dis* 2003; 23: 385-396
- Sell S. Cellular origin of hepatocellular carcinomas. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13: 419-424
- Sirma H, Giannini C, Poussin K, Paterlini P, Kremsdorf D, Brechot C. Hepatitis B virus X mutants, present in hepatocellular carcinoma tissue abrogate both the antiproliferative and transactivation effects of HBx. *Oncogene* 1999; 18: 4848-4859
- Smith MW, Yue ZN, Geiss GK, Sadovnikova NY, Carter VS, Boix L, Lazaro CA, et al. Identification of novel tumor markers in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 859-864
- Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, Wang XW, Harris CC. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat* 2003; 21: 201-216
- Stiewe T, Tuve S, Peter M, Tannapfel A, Elmaagacli AH, Putzer BM. Quantitative TP73 transcript analysis in hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 626-633
- Theise ND, Park YN, Kojiro M. Dysplastic nodules and hepatocarcinogenesis. *Clin Liver Dis* 2002; 6: 497-512
- Wang XW, Hussain SP, Huo TI, Wu CG, Forgues M, Hofseth LJ, Brechot C, et al. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Toxicology* 2002; 181-182: 43-47
- Waris G, Siddiqui A. Regulatory mechanisms of viral hepatitis B and C. *J Biosci* 2003; 28: 311-321

PREVENZIONE

- Aufiro B, Schneider RJ. The hepatitis B virus X gene product transactivates both RNA polymerase II and III promoters. *EMBO J* 1990; 9: 497-504
- Bonino F, Oliveri F, Colombatto P, Coco B, Mura D, Realdi G, Brunetto MR. Treatment of patients with chronic hepatitis C and cirrhosis. *J Hepatology* 1999; 31(S1): 197-200
- Brechot C, Pourcel C, Louise A, Rain B, Tiollais P. Presence of integrated hepatitis B virus DNA sequences in cellular DNA in human hepatocellular carcinoma. *Nature* 1980; 286: 533-535
- Bréchet C, Thiers V, Kremsdorf D, Bertrand N, Pol S, Paterlini-Bréchet P. Persistent Hepatitis B Virus Infection in Subjects

Whithout Hepatitis B Virus Surface Antigen: Clinically Significant or Purely “Occult”? *Hepatology* 2001; 34(1): 194-203

- Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, Leandro G, Colombatto P, Gorin JM, Bonino F. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *J Hepatol* 2002; 36: 263-70
- Brunetto MR, Oliveri F, Koehler M., Zahm F, Bonino F. and the international HHC Study Group Effect of alpha IFN in progression of cirrhosis to HHC: a prospective cohort study. *Lancet* 1998; 351: 1535-39
- Cammà C, Giunta M, Andreone P, Craxì A. Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: an evidence-based approach. *J Hepatol* 2001;34:593-602.
- Chang MH, Chen CJ, Lai MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N Engl J Med.* 1997;336:1855-1859.
- Chiba T, Matsuzaki Y, Abei M, Shoda J, Tanaka N, Osuga T et al. The role of previous hepatitis B virus infection and heavy smoking in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1996; 91(6): 1195-1203
- Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, et al. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to Lamivudine. *Hepatology* 2004;40:883-891
- Fattovich G, Giustina G, Realdi G, Corrocher R, Schalm SW. Long-term outcome of hepatitis B e antigen-positive patients with compensated cirrhosis treated with interferon alfa. European Concerted Action on Viral Hepatitis (EUROHEP). *Hepatology* 1997; 26(5): 1338-42
- Fausto N. Growth factors in liver development, regeneration and carcinogenesis. *Prog Growth Factor Res* 1991; 3: 219-234
- Hagiwara H, Hayashi N, Kasahara A, Oshita M, Katayama K, Naito M, Masuzawa M, Yoshihara H, Shimizu Y, Fusamoto H, Kamada T. Long term biochemical and virological response to natural interferon-alpha in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 1001-1007
- Hsu T, Moroy T, Etiemble J, Louise A, Trepo C, Tiollais P, Buendia MA. Activaton of c-myc by woodchuck hepatitis virus infection in hepatocellular carcinoma. *Cell* 1988; 55: 627-635

- Kekule AS, Lauer U, Meyer M, Caselmann WH, Hofschneider PH, Koshy R. The preS2/s region of integrated hepatitis B virus DNA encodes a transcriptional activator. *Nature* 1990; 343: 457-460
- Kubo S, Nishiguchi S, Hirohashi K, Tanaka H, Tsukamoto T, Hamba H, Shuto T, Yamamoto T, Ikebe T, Kinoshita H. Clinical significance of prior hepatitis B virus infection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1999; 86(5): 793-798
- Liaw YF, Sung JJY, Chow WC, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004;351:1521-1531.
- Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 1998; 4(9): 1065-1067
- Nagasue N, Ito A, Yukaya H, Ogawa Y. Estrogen receptors in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1986; 57: 87-91
- Ohnishi S, Murakami T, Moriyama T, Mitamura K, Imawari M. Androgen and estrogen receptors in hepatocellular carcinoma and in the surrounding liver tissue. *Hepatology* 1986; 6: 440-443
- Oliveri F, Brunetto MR, Actis GC, Bonino F. Pathobiology of chronic hepatitis virus infection and hepatocellular carcinoma (HCC). *Ital J Gastroenterol* 1991; 23: 498-502
- Oliveri F, Colombatto P, Derenzini M, Trere` D, Papotti M, David E, Negro F, Bellati G, Ideo G, D'Acquino M, Michieletto L, Verme G, Bonino F, Brunetto MR. Hepatocellular Carcinoma: Pathogenetic implications of hepatitis Delta Virus. *Prog Clin Biol Res* 1993; 382: 165-170
- Papatheodoridis GV, Papadimitropoulos V, Hadziyiannis SJ. Effect of interferon therapy on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis: a meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:689-698.
- Paterlini P, Bréchet C. The detection of hepatitis B virus (HBV) in HBsAg negative individuals with primary liver cancer. *Dig Dis Sci* 1991; 36(8): 1122-9
- Pollicino T, Squadrito G, Cerenzia G, Cacciola I, Raffa G, Crax A, Farinati F, Missale G, Smedile A, Tiribelli C, Villa E, Raimondo G. Hepatitis B virus maintains its pro-oncogenic properties in the case of occult HBV infection. *Gastroenterology* 2004; 126: 102-10

- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, de Franchis R, Colombo M. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005-14
- Villa E, Dugani A, Moles A, Camellini L, Grottola A, Buttafuoco P, Merighi A, Ferretti I, Esposito P, Miglioli L, Bagni A, Troisi R, De Hemptinne B, Praet M, Callea F, Manenti F. Variant liver estrogen receptor transcripts already occur at an early stage of chronic liver disease. *Hepatology* 1998; 27(4): 983-988
- Wang JS, Shen X, He X, et al. Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B₁ by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:347-354

PROTOCOLLI DI SORVEGLIANZA

- Bolondi L, Benzi G, Santi V, Gaiani S, Li Bassi SL, Zironi G, et al. Links relationship between alpha-fetoprotein serum levels, tumour volume and growth rate of hepatocellular carcinoma in a western population. *Ital J Gastroenterol* 1990; 22: 190-4
- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, et al. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001; 48: 251-59
- Bruix J, Sherman M, Llovet J, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusion of the Barcelona-2000 EASL Conference. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30
- Burrel M, Llovet JM, Ayuso C, Iglesias C, Sala M, Miquel R, Caralt T, Ayuso JR, Solé M, Sanchez M, Bru C, Bruix C for the Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) Group. MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: An explant correlation. *Hepatology* 2003; 38: 1034-42
- Caturelli E, Bartolucci F, Biasini E, Vigliotti ML, Andriulli A, Siena DA, et al. Diagnosis of liver nodules observed in chronic liver disease patients during ultrasound screening for early detection of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1-9
- Chalasani N, Said A, Ness R, Hoen H, Lumeng L. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis in the United States: results of a national survey. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2224-9

- Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27(1): 273-8
- Colombo M, De Franchis R, Del Ninno E, Sangiovanni A, De Fazio C, Tommasini M et al. A prospective study of the development of hepatocellular carcinoma in Italian patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1991; 325: 675-80
- Cottone M, Turri M, Caltagirone M, et al. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with Child'A cirrhosis: a 8-years prospective study by ultrasound and alphafetoprotein. *J Hepatol* 1994; 6: 1029-34
- El Serag HB. Hepatocellular carcinoma: an epidemiologic view. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35(suppl 2): S72-8
- Everson GT. Increasing incidence and pretransplantation screening of hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2000; 6(Suppl 2): S2-10
- Freeman RB, Wiesner RH, Harper A, McDiarmid SV, Lake J, Edwards E et al. The new allocation system: moving towards evidence-based transplantation policy. *Liver Transplant* 2002; 8: 851-8
- Gaiani S, Piscaglia F, Celli N, Cecilioni L, Masi L, Rasciti L et al. Perfusional angiosonography (CnTi Esaote) with 2nd generation ultrasound contrast agent in the chracterization of nodules in cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36(suppl): 2133
- Gambarin-Gelwan M, Wolf D, Shapiro R, Schwartz ME, Min AD. Sensitivity of commonly available screening tests in detecting hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients undergoing liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1535-8
- Gebo KA, Chander G, Jenckes MW, Ghanem KG, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Screening tests for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology*. 2002; 36(Suppl): S84-92
- Marrero JA, Fontana RJ, Su GL, Conjeevaram HS, Emick DM, Lok AS. NAFLD may be a common underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology* 2002; 36: 1349-54
- Miller WJ, Baron RL, Dodd GD, Federle MP. Malignancies in patients with cirrhosis: CT sensitivity and specificity in 200 consecutive transplant patients. *Radiology* 1994; 193: 645-50
- Oka H, Kurioka N, Kim K, et al. Prospective study of early detection of hapatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Hepatology* 1990; 12: 680-7

- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, de Franchis R, Colombo M. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005-14
- Santagostino E, Colombo M, Rivi M, Rumi MG, Rocino A, Linari S, Mannucci PM, and the Study Group of the Association of Italian Hemophilia Centers. Six-month versus 12-month surveillance for hepatocellular carcinoma in 559 hemophiliacs infected with the hepatitis C virus. *Blood* 2003; 102: 78-82
- Sarasin FP, Giostra E, Hadengue A. Cost-effectiveness of screening for detection of small hepatocellular carcinoma in western patients with Child-Pugh class A cirrhosis. *Am J Med* 1996; 101: 422-34
- Solmi L, Primerano AM, Gandolfi L. Ultrasound follow-up of patients at risk for hepatocellular carcinoma: results of a prospective study on 360 cases. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1189-94
- Teefey SA, Hildeboldt CC, Dehdashti F, Siegel BA, Peters MG, Heiken JP, et al. Detection of primary hepatic malignancy in liver transplant candidates: prospective comparison of CT, MR imaging, US and PET. *Radiology* 2003; 226: 533-542
- Trevisani F, De Notariis S, Rapaccini G, Farinati F, Benvegno L, Zoli M, et al. Semiannual and annual surveillance of cirrhotic patients for hepatocellular carcinoma: effects on cancer stage and patient survival (Italian experience). *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 734-44
- Tsukuma H, Hiyama T, Tanaka S, et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. *N Engl J Med* 1993; 328: 1797-801
- Velazquez RF, Rodriguez M, Navascues CA, Linares A, Perez R, Sotorrios NG, et al. Prospective analysis of risk factors for hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis. *Hepatology* 2003; 37: 520-7
- Yang B, Zhang B, Xu Y, Wang W, Shen Y, Whang A, Xu Z. Prospective study of early detection for primary liver cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1997; 123: 357-60
- Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 2001; 33: 1394-1404

- Yuen MF, Cheng CC, Lauder IJ, et al. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330-5
- Zoli M, Magalotti D, Bianchi G, Gueli C, Marchesini G, Pisi E. Efficacy of a surveillance program for early detection of Hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1996; 78: 977-85

DIAGNOSI

Biomarcatori circolanti

- Arguedas MR, Chen VK, Eloubeidi MA, Fallon MB. Screening for hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C cirrhosis: a cost-utility analysis. *Am J Gastroenterol* 2003; 98(3): 679-90
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30
- Chang YC, Ho CL, Chen HH, Chang TT, Lai WW, Dai YC, Lee WY, Chow NH. Molecular diagnosis of primary liver cancer by microsatellite DNA analysis in the serum. *Brit J Cancer* 2002; 87(12): 1449-53
- Gebo KA, Chander G, Jenckes MW, Ghanem KG, Herlong HF, Torbenson MS, El-Kamary SS, Bass EB. Screening tests for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 2002; 36(5 Suppl 1): S84-92
- Gupta S, Bent S, Kohlwes J. Test characteristics of alpha-fetoprotein for detecting hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. A systematic review and critical analysis. *Ann Intern Med* 2003; 139(1): 46-50
- Khien VV, Mao HV, Chinh TT, Ha PT, Bang MH, Lac BV, Hop TV, Tuan NA, Don LV, Taketa K, Satomura S. Clinical evaluation of lentil lectin-reactive alpha-fetoprotein-L3 in histology-proven hepatocellular carcinoma. *Int J Biol Markers* 2001; 16(2): 105-11
- Liu Y, Wu MC, Qian GX, Zhang BH. Detection of circulating hepatocellular carcinoma cells in peripheral venous blood by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Hepatob Pancreat Dis In.* 2002; 1: 72-6
- Marrero JA, Su GL, Wei W, Emick D, Conjeevaram HS, Fontana RJ, Lok AS. Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate

hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in american patients. *Hepatology* 2003; 37(5): 1114-21

- Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstet Gynecol Surv* 2003; 58: 804-26
- Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, Monji M, Komori H, Motomura Y, Hosaka S, Beppu T, Ishiko T, Kamohara H, Ashihara H, Katagiri T, Furukawa Y, Fujiyama S, Ogawa M, Nakamura Y, Nishimura Y. Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306(1): 16-25
- Nguyen MH, Garcia RT, Simpson PW, Wright TL, Keefe EB. Racial differences in effectiveness of alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus cirrhosis. *Hepatology* 2002; 36(2): 410-7
- Nunez EA. Biological role of alpha-fetoprotein in the endocrinological field: data and hypothesis. *Tumour Biol* 1994; 15: 63-72
- Poon TC, Mok TS, Chan AT, Chan CM, Leong V, Tsui SH, Leung TW, Wong HT, Ho SK, Johnson PJ. Quantification and utility of monosialylated alpha-fetoprotein in the diagnosis of hepatocellular carcinoma with nondiagnostic serum total alpha-fetoprotein. *Clin Chem* 2002; 48(7): 1021-7
- Ryder SD. Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) in adults. *Gut* 2003; 52: 1-8
- Sugimoto H, Takeda S, Inoue S, Kaneko T, Watanabe K, Nakao A. Des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) ratio, a novel parameter measured by monoclonal antibodies MU-3 and 19B7, as a new prognostic indicator for hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2003; 23(1): 38-44
- Tang W, Miki K, Kokudo N, Sugawara Y, Imamura H, Minagawa M, Yuan LW, Ohnishi S, Makuuchi M. Des-gamma-carboxy prothrombin in cancer and non-cancer liver tissue of patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2003; 22(5): 969-75
- Tomasi TB. Structure and function of alpha-fetoprotein. *Ann Rev Med* 1977; 28: 453-65
- Weitz IC, Liebman HA. Des-gamma-carboxy (abnormal) prothrombin and hepatocellular carcinoma: a critical review. *Hepatology* 1993; 18: 990-7

- Witzigmann H, Geissler F, Benedix F, Thiery J, Uhlmann D, Tannapfel A, Wittekind C, Hauss J. Prospective evaluation of circulating hepatocytes by alpha-fetoprotein messenger RNA in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2002; 131(1): 34-43
- Wun YT, Dickinson JA. Alpha-fetoprotein and/or liver ultrasonography for liver cancer screening in patients with chronic hepatitis B. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (2): CD002799
- Yoshida S, Kurokohchi K, Arima K, Masaki T, Hosomi N, Funaki T, Murota M, Kita Y, Watanabe S, Kuriyama S. Clinical significance of lens culinaris agglutinin-reactive fraction of serum alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2002; 20(2): 305-9
- Yuen MF, Lai CL. Screening for hepatocellular carcinoma: survival benefit and cost-effectiveness. *Ann Oncol* 2003; 14(10): 1463-7

Tecniche d'immagine: ecografia

- Albrecht T, Blomley M, Bolondi L, Claudon M, Correas JM, Cosgrove D, Greiner L, Jager K, de Jong N, Leen E, Lencioni R, Lindsell D, Martegani A, Solbiati L, Thorelius L, Tranquart F, Weskott HP, Whittingam T; EFSUMB Study Group. Guidelines for the use of contrast agents in ultrasound. January 2004. *Ultraschall Med* 2004; 25: 249-256
- Bennett GL, Krinsky GA, Abitbol RJ, Kim SY, Theise ND, Teperman LW. Sonographic detection of hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules in cirrhosis: correlation of pretransplantation sonography and liver explant pathology in 200 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 75-80
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-430
- Catalano O, Lobianco R, Cusati B, Siani A. Hepatocellular carcinoma: spectrum of contrast-enhanced gray-scale harmonic sonography findings. *Abdom Imaging* 2004; 29: 341-347
- Colombo M, Sangiovanni A. The European approach to hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 12-16
- Dodd GD 3rd, Miller WJ, Baron RL, Skolnick ML, Campbell WL. Detection of malignant tumors in end-stage cirrhotic livers: efficacy

of sonography as a screening technique. *AJR Am J Roentgenol* 1992; 159: 727-733

- Gaiani S, Celli N, Piscaglia F, Cecilioni L, Losinno F, Giangregorio F, Mancini M, Pini P, Fornari F, Bolondi L. Usefulness of contrast-enhanced perfusional sonography in the assessment of hepatocellular carcinoma hypervascular at spiral computed tomography. *J Hepatol* 2004; 41: 421-426
- Kim CK, Lim JH, Lee WJ. Detection of hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules in cirrhotic liver: accuracy of ultrasonography in transplant patients. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 99-104
- Lencioni R, Cioni D, Bartolozzi C. Tissue harmonic and contrast-specific imaging: back to gray scale in ultrasound. *Eur Radiol* 2002; 12: 151-165
- Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, Donati F, Franchini C, Giusti S, Bartolozzi C. Ultrasound imaging of focal liver lesions with a second-generation contrast agent. *Acad Radiol* 2002; 9 Suppl 2: S371-374
- Libbrecht L, Bielen D, Verslype C, Vanbeckevoort D, Pirenne J, Nevens F, Desmet V, Roskams T. Focal lesions in cirrhotic explant livers: pathological evaluation and accuracy of pretransplantation imaging examinations. *Liver Transpl* 2002; 8: 749-761
- Liu WC, Lim JH, Park CK, Kim MJ, Kim SH, Lee SJ, Lee WJ, Lim HK. Poor sensitivity of sonography in detection of hepatocellular carcinoma in advanced liver cirrhosis: accuracy of pretransplantation sonography in 118 patients. *Eur Radiol* 2003; 13: 1693-1698
- Nicolau C, Catala V, Vilana R, Gilabert R, Bianchi L, Sole M, Pages M, Bru C. Evaluation of hepatocellular carcinoma using SonoVue, a second generation ultrasound contrast agent: correlation with cellular differentiation. *Eur Radiol* 2004; 14: 1092-1099
- Quaia E, Calliada F, Bertolotto M, Rossi S, Garioni L, Rosa L, Pozzi-Mucelli R. Characterization of focal liver lesions with contrast-specific US modes and a sulfur hexafluoride-filled microbubble contrast agent: diagnostic performance and confidence. *Radiology* 2004; 232: 420-430
- Rode A, Bancel B, Douek P, Chevallier M, Vilgrain V, Picaud G, Henry L, Berger F, Bizollon T, Gaudin JL, Ducerf C. Small nodule detection in cirrhotic livers: evaluation with US, spiral CT, and MRI and correlation with pathologic examination of explanted liver. *J Comput Assist Tomogr* 2001; 25: 327-336

- Shapiro RS, Katz R, Mendelson DS, Halton KP, Schwartz ME, Miller CM. Detection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: sensitivity of CT and ultrasonography. *J Ultrasound Med* 1996; 15: 497-502
- Tajima T, Honda H, Taguchi K, Asayama Y, Kuroiwa T, Yoshimitsu K, Irie H, Aibe H, Shimada M, Masuda K. Sequential hemodynamic change in hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules: CT angiography and pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 885-897
- Teefey SA, Hildeboldt CC, Dehdashti F, Siegel BA, Peters MG, Heiken JP, Brown JJ, McFarland EG, Middleton WD, Balfe DM, Ritter JH. Detection of primary hepatic malignancy in liver transplant candidates: prospective comparison of CT, MR imaging, US, and PET. *Radiology* 2003; 226: 533-542

Tecniche d'immagine: TC ed RM

- Barthia B, Ward J, Guthrie JA, Robinson PJ. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic livers: double-contrast thin-section MR imaging with pathologic correlation of explanted tissue. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 577-84
- Bartolozzi C, Donati F, Cioni D, Crocetti L, Lencioni R. MnDPDP-enhanced MRI vs dual-phase spiral CT in the detection of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Eur Radiol* 2000; 10: 1697-1702
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30
- Burrel M, Llovet JM, Ayuso C, Iglesias C, Sala M, Miquel R, Caralt T, Ayuso JR, Sole M, Sanchez M, Bru C, Bruix J; Barcelona Clinic Liver Cancer Group. MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: an explant correlation. *Hepatology* 2003; 38: 1034-42
- Choi D, Kim SH, Lim JH, Cho JM, Lee WJ, Lee SJ, Lim HK. Detection of hepatocellular carcinoma: combined T2-weighted and dynamic gadolinium-enhanced MRI versus combined CT during arterial portography and CT hepatic arteriography. *J Comput Assist Tomogr* 2001; 25: 777-85

- Colombo M, Sangiovanni A. The European approach to hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 12-6
- de Lédinghen V, Laharie D, Lecesne R, Le Bail B, Winnock M, Bernard PH, Saric J, Couzigou P, Balabaud C, Bioulac-Sage P, Drouillard J. Detection of nodules in liver cirrhosis: spiral computed tomography or magnetic resonance imaging? A prospective study of 88 nodules in 34 patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 159-165
- Kang BK, Lim JH, Kim SH, Choi D, Lim HK, Lee WJ, Lee SJ. Preoperative depiction of hepatocellular carcinoma: ferumoxides-enhanced MR imaging versus triple-phase helical CT. *Radiology* 2003; 226: 79-85
- Kato H, Kanematsu M, Kondo H, Goshima S, Matsuo M, Hoshi H, Moriyama N. Ferumoxide-enhanced MR imaging of hepatocellular carcinoma: correlation with histologic tumor grade and tumor vascularity. *J Magn Reson Imaging* 2004; 19: 76-81
- Kim T, Murakami T, Hori M, Takamura M, Takahashi S, Okada A, Kawata S, et al. Small hypervascular hepatocellular carcinoma revealed by double arterial phase CT performed with single breath-hold scanning and automatic bolus tracking. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 899-904
- Krinsky GA, Lee VS, Theise ND, Weinreb JC, Rofsky NM, Diflo T, Teperman LW. Hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules in patients with cirrhosis: prospective diagnosis with MR imaging and explantation correlation. *Radiology* 2001; 219: 445-54
- Lee KH, O'Malley ME, Haider MA, Hanbidge A. Triple-phase MDCT of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 182: 643-9
- Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, Della Pina C, Bartolozzi C. Magnetic resonance imaging of liver tumors. *J Hepatol* 2004; 40: 162-71
- Lim JH, Choi D, Cho SK, Kim SH, Lee WJ, Lim HK, Park CK, et al. Conspicuity of hepatocellular nodular lesions in cirrhotic livers at ferumoxides-enhanced MR imaging: importance of Kupffer cell number. *Radiology* 2001; 220: 669-76
- Lim JH, Choi D, Kim SH, Lee SJ, Lee WJ, Lim HK, Kim S. Detection of hepatocellular carcinoma: value of adding delayed phase imaging to dual-phase helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 179: 67-73

- Lim JH, Kim CK, Lee WJ, Park CK, Koh KC, Paik SW, Joh JW. Detection of hepatocellular carcinomas and dysplastic nodules in cirrhotic livers: accuracy of helical CT in transplant patients. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 693-8
- Murakami T, Kim T, Kawata S, Kanematsu M, Federle MP, Hori M, Okada A, Kumano S, Sugihara E, Tomoda K, Nakamura H. Evaluation of optimal timing of arterial phase imaging for the detection of hypervascular hepatocellular carcinoma by using triple arterial phase imaging with multidetector-row helical computed tomography. *Invest Radiol* 2003; 38: 497-503
- Noguchi Y, Murakami T, Kim T, Hori M, Osuga K, Kawata S, Kumano S, Okada A, Sugiura T, Nakamura H. Detection of hepatocellular carcinoma: comparison of dynamic MR imaging with dynamic double arterial phase helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 455-60
- Pauleit D, Textor J, Bachmann R, Conrad R, Flacke S, Layer G, Kreft B, et al. Hepatocellular carcinoma: detection with gadolinium- and ferumoxides-enhanced MR imaging of the liver. *Radiology* 2002; 222: 73-80
- Petersein J, Spinazzi A, Giovagnoni A, Soyer P, Terrier F, Lencioni R, Bartolozzi C, et al. Focal liver lesions: evaluation of the efficacy of gadobenate dimeglumine in MR imaging - a multicenter phase III clinical study. *Radiology* 2000; 215: 727-36
- Rode A, Bancel B, Douek P, Chevallier M, Vilgrain V, Picaud G, Henry L, et al. Small nodule detection in cirrhotic livers: evaluation with US, spiral CT, and MRI and correlation with pathologic examination of explanted liver. *J Comput Assist Tomogr* 2001; 25: 327-36
- Tajima T, Honda H, Taguchi K, Asayama Y, Kuroiwa T, Yoshimitsu K, Irie H, Aibe H, Shimada M, Masuda K. Sequential hemodynamic change in hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules: CT angiography and pathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 885-97
- Teefey SA, Hildeboldt CC, Dehdashti F, Siegel BA, Peters MG, Heiken JP, Brown JJ, McFarland EG, Middleton WD, Balfe DM, Ritter JH. Detection of primary hepatic malignancy in liver transplant candidates: prospective comparison of CT, MR imaging, US, and PET. *Radiology* 2003; 226: 533-42
- Valls C, Cos M, Figueras J, Andia E, Ramos E, Sanchez A, Serrano T, Torras J. Pretransplantation diagnosis and staging of

hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: value of dual-phase helical CT. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 182: 1011-7

Biopsia epatica percutanea

- Bret PM, Labadie M, Bretagnolle M, Paliard P, Fond A, Valette PJ. Hepatocellular carcinoma: diagnosis by percutaneous fine needle biopsy. *Gastrointest Radiol* 1988; 13(3): 253-5
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodes J; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35(3): 421-30
- Buscarini L, Fornari F, Bolondi L, Colombo P, Livraghi T, Magnolfi F, Rapaccini GL, Salmi A. Ultrasound-guided fine-needle biopsy of focal liver lesions: techniques, diagnostic accuracy and complications. A retrospective study on 2091 biopsies. *J Hepatol* 1990; 11(3): 344-8
- Caturelli E, Giacobbe A, Facciorusso D, Bisceglia M, Villani MR, Siena DA, Fusilli S, Squillante MM, Andriulli A. Percutaneous biopsy in diffuse liver disease: increasing diagnostic yield and decreasing complication rate by routine ultrasound assessment of puncture site. *Am J Gastroenterol* 1996; 91(7): 1318-21
- Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J, Sauvanet A, Vilgrain V, Terris B, Moutardier V, Farges O, Valla D. Assessment of the benefits and risks of percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2001; 35(2): 254-8
- Fornari F, Civardi G, Cavanna L, Di Stasi M, Rossi S, Sbolli G, Buscarini L. Complications of ultrasonically guided fine-needle abdominal biopsy. Results of a multicenter Italian study and review of the literature. The Cooperative Italian Study Group. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24(8): 949-55
- Fornari F, Filice C, Rapaccini GL, Caturelli E, Cavanna L, Civardi G, Di Stasi M, Buscarini E, Buscarini L. Small (< or = 3 cm) hepatic lesions. Results of sonographically guided fine-needle biopsy in 385 patients. *Dig Dis Sci* 1994; 39(10): 2267-75
- Huang GT, Sheu JC, Yang PM, Lee HS, Wang TH, Chen DS. Ultrasound-guided cutting biopsy for the diagnosis of hepatocellular carcinoma - a study based on 420 patients. *J Hepatol* 1996; 25(3): 334-8

- Kim SH, Lim HK, Lee WJ, Cho JM, Jang HJ. Needle-tract implantation in hepatocellular carcinoma: frequency and CT findings after biopsy with a 19.5-gauge automated biopsy gun. *Abdom Imaging 2000 May-Jun; 25(3): 246-50*
- Kondo F, Wada K, Nagato Y, Nakajima T, Kondo Y, Hirooka N, Ebara M, Ohto M, Okuda K. Biopsy diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology 1989; 9(5): 751-5*
- Livraghi T, Damascelli B, Lombardi C, Spagnoli I. Risk in fine-needle abdominal biopsy. *J Clin Ultrasound 1983; 11(2): 77-81*
- Longchamp E, Patriarche C, Fabre M. Accuracy of cytology vs. microbiopsy for the diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma and macroregenerative nodule. Definition of standardized criteria from a study of 100 cases. *Acta Cytol 2000; 44(4): 515-23*
- Sangalli G, Livraghi T, Giordano F. Fine needle biopsy of hepatocellular carcinoma: improvement in diagnosis by microhistology. *Gastroenterology 1989; 96(2 Pt 1): 524-6*
- Sbolli G, Fornari F, Civardi G, Di Stasi M, Cavanna L, Buscarini E, Buscarini L. Role of ultrasound guided fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Gut 1990; 31(11): 1303-5*
- Smith EH. Complications of percutaneous abdominal fine-needle biopsy. *Review Radiology 1991; 178(1): 253-8*

Diagnosi istologica e citologica

- Borzio M, Fargion S, Borzio F, et al. Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol 2003; 39: 208-214*
- Craig JR, Peters RL, and Edmondson HA. Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. In: *Atlas of Tumor Pathology*,. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology (AFIP) 1988, pp. 48-169
- D'Errico A, Baccharini P, Fiorentino M et al. Histogenesis of primary liver carcinomas: strengths and weaknesses of cytokeratin profile and albumin mRNA detection. *Hum Pathol 1996; 27: 599-604*
- Furuya K, Nakamura M, Yamamoto Y, Toge K, Otsuka H. Macroregenerative nodule of the liver. A clinicopathologic study of 345 autopsy cases of chronic liver disease. *Cancer 1988; 61(1): 99-105*
- Grigioni WF, D'Errico A, Bacci F, Carella R, Mancini AM. Small liver masses in cirrhotic patients. A clue for the morphogenesis of

human hepatocellular carcinoma. *Acta Pathol Jpn* 1998, 39(8): 520-527

- Kojiro M. The evolution of pathologic features of hepatocellular carcinoma. In: *Viruses and Liver Cancer: perspectives in medical virology*; Tabor E (Ed). Elsevier, Amsterdam; 2002, 113-122
- Kondo F, Wada K, Nagato Y, et al. Biopsy diagnosis of well-differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology* 1989; 9(5): 751-5
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-699
- Roncalli M, Roz E, Coggi G, et al. The vascular profile of regenerative and dysplastic nodules of the cirrhotic liver: implications and classification. *Hepatology* 1999; 30: 1174-1178
- Scott FR, El-Refaie A, More L, et al. Hepatocellular carcinoma arising in adenoma: value of Qbend 10 immunostaining in diagnosis of liver cell carcinoma. *Histopathology* 1996; 28: 472-474
- Sell S. Cellular origin of hepatocellular carcinomas. *Seminars in Cell & Developmental biology* 2002; 13: 419-424
- Tickoo SK, Zee SY, Obiekwe S, et al. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2002; 26(8): 989-997

Predittori istologici e molecolari

- Adachi E, Maeda T, Matsumata T et al. Risk factors for intrahepatic recurrence in human small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 108: 768-75
- Altimari A, Fiorentino M, Gabusi E, et al. Investigation of ErbB1 and ErbB2 expression for therapeutic targeting in primari liver tumours. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 332-338
- El-Assal ON, Yamanoi A, Soda Y et al. Clinical significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor expression in hepatocellular carcinoma and surrounding liver: possible involvement of vascular endothelial growth factor in the angiogenesis of cirrhotic liver. *Hepatology* 1998; 27: 1554-1562
- Endo K, Terada T. Protein expression of CD44 (standard and variant isoforms) in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, p53 expression, and patient survival. *J Hepatol* 2000; 32: 78-84
- Endo K, Ueda T, Ueyama J et al. Immunoreactive E-cadherin, α -catenin, β -catenin, and γ -catenin proteins in hepatocellular

carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565

- Fields AC, Cotsonis G, Sexton D, Santoianni R, Cohen C. Survivin expression in hepatocellular carcinoma: correlation with proliferation, prognostic parameters, and outcome. *Mod Pathol* 2004; 17:1378-85.
- Fiorentino M, Altimari A, D'Errico A, et al. Acquired expression of p27 is a favorable prognostic indicator in patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3966-3972
- Giannelli G, Bergamini C, Marinosci F et al. Clinical role of MMP-2/TIMP-2 imbalance in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 97: 425-31
- Hsu HC, Jeng YM, Mao TL, et al. β -catenin mutations are associated with a subset of low-stage hepatocellular carcinoma negative for hepatitis B and with favourable prognosis. *Am J Pathol* 2000; 157: 763-770
- Huang GT, Lee HS, Chen C et al. Correlation of E-cadherin expression and recurrence of hepatocellular carcinoma. *Hepato-Gastroenterology* 1999; 46: 1923-27
- Ikeguci M., Ueta T., Yamane Y., Hirooka Y., Kaibara N. Inducible nitric oxide synthase and survivin messenger RNA expression in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002;8(10):3131-6.
- Inagawa S, Itabashi M, Adachi S et al. Expression and prognostic roles of β -catenin in hepatocellular carcinoma: correlation with tumor progression and postoperative survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 450-456
- Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, et al. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31:1080-5.
- Ito Y, Matsuura N, Sakon M, et al. Both cell proliferation and apoptosis significantly predict shortened disease-free survival in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 1999; 81: 747-751
- Ito Y, Matsuura N, Sakon M, et al. Expression and prognostic roles of the G1-S modulators in hepatocellular carcinoma: p27 independently predicts the recurrence. *Hepatology* 1999; 30: 90-99
- Ito Y, Takeda T, Sakon M, et al. Expression and clinical significance of erb-B receptor family in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2001; 84: 1377-1383

- Ito Y, Takeda T, Sakon M, et al. Expression and prognostic role of cyclin-dependent kinase 1 (cdc2) in hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2000; 59: 68-74
- Jiang YF, Yang ZH and Hu JQ. Recurrence or metastasis of HCC: predictors, early detection and experimental antiangiogenic therapy. *World J Gastroenterol* 2000, 6: 61-65
- Jonas S, Bechstein WO, Steinmuller T, et al. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology* 2001; 33(5): 1080-1086
- Kawate S, Fukusato T, Ohwada S et al. Amplification of c-myc in hepatocellular carcinoma: correlation with clinicopathologic features, proliferative activity and p53 overexpression. *Oncology* 1999; 57: 157-163
- Kobayashi T, Kubota K, Takayama T and Makuuchi M. Telomerase activity as a predictive marker for recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Am J Surg* 2001; 181: 284-8
- Maatta M, Soini Y, Liakka A and Autio-Harminen H. Differential expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9, and membrane type 1-MMP in hepatocellular and pancreatic adenocarcinoma: implications for tumor progression and clinical prognosis. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2726-34
- Mao TL, Chu JS, Jeng YM et al. Expression of mutant nuclear β -catenin correlates with non-invasive hepatocellular carcinoma, absence of portal vein spread, and good prognosis. *J Pathol* 2001; 193: 95-101
- Matsuda Y, Ichida T, Genda T, et al. Loss of p16 contributes to p27 sequestration by cyclin D(1)-cyclin dependent kinase 4 complexes and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9(9): 3389-96
- Matsumura T, Makino R, and Mitamura K. Frequent down-regulation of E-cadherin by genetic and epigenetic changes in the malignant progression of hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 594-599
- Nanashima A, Yano H, Yamaguchi H, et al. Immunohistochemical analysis of tumor biological factors in hepatocellular carcinoma: relationship to clinicopathological factors and prognosis after hepatic resection. *J Gastroenterol* 2004; 39(2): 148-54

- Nhieu JTV, Renard CA, Wei Y et al. Nuclear accumulation of mutated β -catenin in hepatocellular carcinoma is associated with increased cell proliferation. *Am J Pathol* 1999; 155: 703-710
- O'Connor DS, Schechner JS, Adida C et al. Control of apoptosis during angiogenesis by survivin expression in endothelial cells. *Am J Pathol* 2000; 156:393-8.
- Ohashi R, Gao C, Miyazaki M, et al. Enhanced expression of cyclin E and cyclin A in human hepatocellular carcinomas. *Anticancer Res* 2001; 21: 657-662
- Ouchi K, Sugawara T, Ono H, et al. Mitotic index is the best predictive factor for survival of patients with resected hepatocellular carcinoma. *Dig Surg* 2000; 17: 42-48
- Qin LX, Tang ZY, Ma ZC, et al. P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. *World J Gastroenterol* 2002; 8(3): 459-63
- Qin LX, Tang ZY. The prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 385-92
- Sugo H, Takamori S, Kojima K, et al. The significance of p53 mutations as an indicator of the biological behaviour of recurrent hepatocellular carcinomas. *Surg Today* 1999; 29: 849-855
- Sun HC, Tang ZY, Li XM et al. Microvessel density of hepatocellular carcinoma: its relationship with prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999; 125: 419-26
- Watanabe J, Kushihata F, Honda K, et al. Prognostic significance of Bcl-xL in human hepatocellular carcinoma. *Surgery* 2004; 135(6): 604-12
- Wong CM, Fan ST and Ng IOL. β -catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma. Clinicopathologic and prognostic significance. *Cancer* 2001, 92: 136-145
- Xu X, Yamamoto H, Sakon M, et al. Overexpression of CDC25A phosphatase is associated with hypergrowth activity and poor prognosis of human hepatocellular carcinomas. *Clin Cancer Res* 2003; 9(5): 1764-72
- Zheng Q, Tang ZY, Xue Q et al. Invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma in relation to urokinase-type plasminogen activator, its receptor and inhibitor. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 641-646.

L'ALGORITMO DELLA DIAGNOSI PRECOCE

- AISF Commissione “Imaging e valutazione emodinamica nella diagnosi epatologica”. Lesioni focali epatiche maligne. In: *Imaging e valutazione emodinamica nella diagnostica epatologica*, AISF (Ed); 2003, 46-9
- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, Piscaglia F, Gramantieri L, Zanetti M, Sherman M. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001; 48: 251-9
- Borzio M, Borzio F, Macchi R, Croce AM, Bruno S, Ferrari A, Servida E. The evaluation of fine-needle procedures for the diagnosis of focal liver lesions in cirrhosis. *J Hepatol* 1994; 20: 117-21
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodés J for the EASL Panel of Experts on HCC. Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference, Barcelona September 15-17, 2000. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30
- Burrel M, Llovet JM, Ayuso C, Iglesias C, Sala M, Miquel R, Caralt T, Ayuso JR, Sole M, Sanchez M, Bru C, Bruix J; Barcelona Clinic Liver Cancer Group. MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: an explant correlation. *Hepatology* 2003; 38: 1034-42
- Durand F, Regimbeau JM, Belghiti J, Sauvanet A, Vilgrain V, Terris B, Moutardier V, Farges O, Valla D. Assessment of the benefits and risks of percutaneous biopsy before surgical resection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2001; 35: 254-8
- Fracanzani AL, Burdick L, Borzio M, Roncalli M, Bonelli M, Borzio F, Maraschi A, Fiorelli G, Fargion S. Contrast-enhanced Doppler ultrasonography in the diagnosis of hepatocellular carcinoma and premalignant lesions in patients with cirrhosis. *Hepatology* 2001; 34: 1109-12
- Kim SH, Lim HK, Lee WJ, Cho JM, Jang HJ. Needle tract implantation in hepatocellular carcinoma: frequency and CT finding after biopsy with a 19.5-gauge automated biopsy gun. *Abdom Imaging* 2000; 25: 246-50
- Kojiro M. The evolution of pathologic features of hepatocellular carcinoma. In: *Viruses and Liver Cancer: perspectives in medical virology*; Tabor E (Ed). Elsevier, Amsterdam; 2002, 113-122

- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A. Liver transplantation for treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *New Engl J Med* 1996; 334: 693-699
- Sakamoto M, Hirohashi S. Natural history and prognosis of adenomatous hyperplasia and early hepatocellular carcinoma: multiinstitutional analysis of 53 nodules followed up for more than 6 months and 141 patients with single early hepatocellular carcinoma treated by surgical resection or percutaneous ethanol injection. *Jpn J Clin Oncol* 1998; 28: 604-608
- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, de Franchis R, Colombo M. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005-14
- Sheu JC, Sung JL, Chen DS, Yang PM, Lai MY, Lee CS Hsu HC, Chuang CN, Yang PC, Wang TH. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology* 1985; 89: 259-266
- Takamori R, Wong LL, Dang C, Wong L. Needle-tract implantation from hepatocellular cancer: is needle biopsy of the liver always necessary? *Liver Transplant* 2000; 6: 67-72
- Takayama T, Makuuchi S, Hirohashi S, Sakamoto M, Yamamoto J, Shimada K, Kosuge T, Okada S, Takayasu K, Yamasaki S. Early hepatocellular carcinoma as an entity with high rate of surgical cure. *Hepatology* 1998; 28: 1241-1246

STADIAZIONE

- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical Management of Hepatocellular Carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30
- Chevret S, Trinchet JC, Mathieu D, Rached AA, Beaugrand M, Chastang C for the Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1999; 31: 133-141
- Cillo U, Bassanello M, Vitale A, Grigoletto F, Burra P, Fagioli S, et al. The critical issue of hepatocellular carcinoma prognostic classification: which is the best tool available? *J Hepatol* 2004; 40: 124-131

- Greene FL , Page DL , Fleming ID, Fritz AG, Balch CM, Haller DG et al. (eds) *AJCC Cancer Staging Manual (6th edn)*. Springer, Chicago 2002; 131-144
- Grieco A, Pompili M, Caminiti G, et al. Prognostic factors for survival in patients with early-intermediate hepatocellular carcinoma undergoing non-surgical therapy: comparison of Okuda, CLIP, and BCLC staging systems in a single Italian centre. *Gut* 2005;54:411-418.
- Kudo M, Chung H, Haji S, Osaki Y, Oka H, Seki T, et al. Validation of a new prognostic system for hepatocellular carcinoma: the JIS score compared with the CLIP score. *Hepatology* 2004; 40: 1396-1405
- Kudo M, Chung H, Osaki Y. Prognostic staging system for hepatocellular carcinoma (CLIP score): its value and limitations, and a proposal for a new staging system, the Japan Integrated Staging Score (JIS score). *J Gastroenterol* 2003; 38: 207-215
- Leung TW, Tang AM, Zee B, Lau WY, Lai PB, Leung KL et al. Construction of the Chinese University Prognostic Index for hepatocellular carcinoma and comparison with the TNM staging system, the Okuda staging system, and the Cancer of the Liver Italian Program staging system: s a study based on 926 patients. *Cancer* 2002; 4: 1760-1769
- Levy I, Sherman M, the Liver Cancer Study Group of the University of Toronto. Staging of hepatocellular carcinoma: assessment of the CLIP, Okuda, and Child-Pugh staging systems in a cohort of 257 patients in Toronto. *Gut* 2002; 50: 881-885
- Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-338
- Marrero JA, Fontana RJ, Barrat A, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. *Hepatology* 2005;41:707-716
- Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985; 56: 918-928
- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, De Franchis R., Colombo M Increased Survival of Cirrhotic Patients With a Hepatocellular Carcinoma

Detected During Surveillance. *Gastroenterology* 2004; 26: 1005-1014

- The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients. *Hepatology* 1998; 28: 751-755
- The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) Investigators. Prospective validation of the CLIP score: a new prognostic system for patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31: 840-845
- Wildi S, Pestalozzi BC, McCormack L, Clavien PA. Critical evaluation of the different staging systems for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2004; 91: 400-408

STORIA NATURALE

- Anthony PP. Primary carcinoma of the liver: a study of 282 cases in Ugandan Africans. *J Pathol* 1973; 110: 37-48
- Barbara L, Benzi G, Gaiani S, Fusconi F, Zironi G, Siringo S, Rigamonti A, Barbara C, Grigioni W, Mazziotti A. Natural history of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology* 1992; 16: 132-7
- Benvegnù L, Noventa F, Bernardinello E, Pontisso P, Gatta A, Alberti A. Evidence for an association between the aetiology of cirrhosis and pattern of hepatocellular carcinoma development. *Gut* 2001; 48: 110-5
- Borzio M, Fargion S, Borzio F, Fracanzani AL, Croce AM, Stroffolini T, Oldani S, Cotichini R, Roncalli M. Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. *J Hepatol* 2003; 39: 208-14
- Cheng SJ, Freeman RB Jr, Wong JB. Predicting the probability of progression-free survival in patients with small hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2002; 8: 323-8
- CLIP Group. A new prognostic system for hepatocellular carcinoma: a retrospective study of 435 patients: the Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) investigators. *Hepatology* 1998; 28: 751-55
- D'Errico A, Baccarini P, Fiorentino M, Ceccarelli C, Bonazzi C, Ponzetto A, Scoazec JY, Mancini AM, Grigioni WF. Histogenesis of primary liver carcinomas: strengths and weaknesses of cytokeratin

profile and albumin mRNA detection. *Hum Pathol* 1996; 27: 599-604

- Ebara M, Ohto M, Shinagawa T, Sugiura N, Kimura K, Matsutani S, Morita M, Saisho H, Tsuchiya Y, Okuda K. Natural history of minute hepatocellular carcinoma smaller than three centimeters complicating cirrhosis. A study in 22 patients. *Gastroenterology* 1986; 90: 289-98
- El-Serag HB, Mason AC, Key C. Trends in survival patients with hepatocellular carcinoma between 1977 and 1996 in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 62-5
- Esnaola NF, Lauwers GY, Mirza NQ, Nagorney DM, Doherty D, Ikai I, Yamaoka Y, Regimbeau JM, Belghiti J, Curley SA, Ellis LM, Vauthey JN. Predictors of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma who are candidates for orthotopic liver transplantation. *J Gastrointest Surg* 2002; 6: 224-32
- Falkson G, Cnaan A, Schutt AJ, Ryan LM, Falkson HC. Prognostic factors for survival in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1988; 48: 7314-8
- Grigioni WF, D'Errico A, Biagini G, Mazziotti A, Bolondi L, Liotta LA, Mancini AM, Garbisa S. The capsule surrounding primary liver tumors: wherefrom its prognostic significance? *Int J Cancer* 1990; 45: 637-43
- International Working Party. Terminology of nodular lesions of the liver. *Hepatology* 1995; 22: 983-993
- Kumada T, Nakano S, Takeda I, Sugiyama K, Osada T, Kiriyama S, Sone Y, Toyoda H, Shimada S, Takahashi M, Sassa T. Patterns of recurrence after initial treatment in patients with small hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997; 25: 87-92
- Llovet JM, Bustamante J, Bruix J. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology* 1999; 29: 62-7
- Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, Bru C, Rodes J, Bruix J. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology* 1999; 29: 62-7
- 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: 693-9

- Nagasue N, Yukaya H, Hamada T, Hirose S, Kanashima R, Inokuchi K. The natural history of hepatocellular carcinoma. A study of 100 untreated cases. *Cancer* 1984; 54: 1461-5
- Nakanuma Y, Ohta G, Sugiura H, Watanabe K, Doishita K. Incidental solitary hepatocellular carcinomas smaller than 1 cm in size found at autopsy: a morphologic study. *Hepatology* 1986; 6: 631-5
- Nzeako UC, Goodman ZD, Ishak KG. Hepatocellular carcinoma in cirrhotic and noncirrhotic livers. A clinico-histopathologic study of 804 North American patients. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 65-75
- Okada S, Okazaki N, Nose H, Aoki K, Kawano N, Yamamoto J, Shimada K, Takayama T, Kosuge T, Yamasaki S. Follow-up examination schedule of postoperative HCC patients based on tumor volume doubling time. *Hepatogastroenterology* 1993; 40: 311-15
- Okazaki N, Yoshino M, Yoshida T, Suzuki M, Moriyama N, Takayasu K, Makuuchi M, Yamazaki S, Hasegawa H, Noguchi M. Evaluation of the prognosis for small hepatocellular carcinoma based on tumor volume doubling time. A preliminary report. *Cancer* 1989; 63: 2207-10.
- Paradis V, Laurendeau I, Vidaud M, Bedossa P. Clonal analysis of macronodules in cirrhosis. *Hepatology* 1998; 28: 953-8.
- Poon RT, Ng IO, Lau C, Yu WC, Yang ZF, Fan ST, Wong J. Tumor microvessel density as a predictor of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1775-85.
- Rao MS, Kashireddy P. Effect of castration on dehydroepiandrosterone-induced hepatocarcinogenesis in male rats. *Anticancer Res* 2002; 22: 1409-11
- Rizzi PM, Kane PA, Ryder SD, Ramage JK, Gane E, Tan KC, Portmann B, Karani J, Williams R. Accuracy of radiology in detection of hepatocellular carcinoma before liver transplantation. *Gastroenterology* 1994; 107: 1425-9
- Roayaie S, Schwartz JD, Sung MW, Emre SH, Miller CM, Gondolesi GE, Krieger NR, Schwartz ME. Recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplant: patterns and prognosis. *Liver Transpl* 2004;10: 534-40
- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, De Franchis R, Colombo M. Increased in survival of cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005-14

- Sheu JC, Huang GT, Chou HC, Lee PH, Wang JT, Lee HS, Chen DS. Multiple hepatocellular carcinomas at the early stage have different clonality. *Gastroenterology* 1993; 105: 1471-6
- Sheu JC, Sung JL, Chen DS; Yang PM, Lai MY, Lee CS, Hsu HC, Chuang CN, Yang PC, Wang TH, Lin JT, Lee CZ. Growth rate of asymptomatic hepatocellular carcinoma and its clinical implications. *Gastroenterology* 1985; 89: 259-66
- Sugihara S, Nakashima O, Kojiro M, Majima Y, Tanaka M, Tanikawa K. The morphologic transition in hepatocellular carcinoma. A comparison of the individual histologic features disclosed by ultrasound-guided fine-needle biopsy with those of autopsy. *Cancer* 1992; 70: 1488-92
- Taketomi A, Shimada M, Shirabe K, Kajiyama K, Gion T, Sugimachi K. Natural killer cell activity in patients with hepatocellular carcinoma: a new prognostic indicator after hepatectomy. *Cancer* 1998; 83: 58-63
- Tanaka K, Sakai H, Hashizume M, Hirohata T. Serum testosterone:estradiol ratio and the development of hepatocellular carcinoma among male cirrhotic patients. *Cancer Res* 2000; 60: 5106-10
- Theise ND, Schwartz M, Miller C, Thung SN. Macroregenerative nodules and hepatocellular carcinoma in forty-four sequential adult liver explants with cirrhosis. *Hepatology* 1992; 16: 949-55
- Trevisani F, De Notariis S, Rapaccini G, Farinati F, Benvegnù L, Zoli M, Grazi GL, Del Poggio P, Di Nolfo MA, Bernardi M and the Italian Liver Cancer Group. Semiannual and Annual Surveillance of Cirrhotic Patients for Hepatocellular Carcinoma: Effects on Cancer Stage and Patient Survival (Italian Experience). *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 734-44
- Trevisani F, D'Intino PE, Caraceni P, Pizzo M, Stefanini GF, Mazziotti A, Grazi GL, Gozzetti G, Gasbarrini G, Bernardi M. Etiologic factors and clinical presentation of hepatocellular carcinoma. Differences between cirrhotic and non cirrhotic Italian patients. *Cancer* 1995; 75: 2220-32
- Villa E, Moles A, Ferretti I, Buttafoco P, Grottola A, Del Buono M, De Santis M, Manenti F. Natural history of inoperable hepatocellular carcinoma: estrogen receptors' status in the tumor is the strongest prognostic factor for survival. *Hepatology* 2000; 32: 233-8

- Wada Y, Nakashima O, Kutami R, Yamamoto O, Kojiro M. Clinicopathological study on hepatocellular carcinoma with lymphocytic infiltration. *Hepatology* 1998; 27: 407-14
- Yeh SH, Chen PJ, Shau WY, Chen YW, Lee PH, Chen JT, Chen DS. Chromosomal allelic imbalance evolving from liver cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2001; 121: 699-709
- Yin XY, Lu MD, Lai YR, Liang LJ, Huang JF. Prognostic significances of tumor-infiltrating S-100 positive dendritic cells and lymphocytes in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1281-4
- Yoshino M. Growth kinetics of hepatocellular carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 1983; 13: 45-52
- Yuen MF, Cheng CC, Laufer IJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330-5

TERAPIA

Algoritmo terapeutico

- Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: A retrospective and nationwide survey in Japan. *Hepatology* 2000; 32: 1224-1229
- Bismuth H, Majno P. Hepatobiliary surgery. *J Hepatol* 2000; 32: 208-224
- Bismuth H, Majno PE, Adam R. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 311-322
- Bruix J, Castells A, Bosch J, et al. Surgical resection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prognostic value of preoperative portal pressure. *Gastroenterology* 1996; 111: 1018-1022
- Bruix J, Llovet JM, Castells A, et al. Transarterial embolization versus symptomatic treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma: Results of a randomized controlled trial in a single institution. *Hepatology* 1998; 27: 1578-1583
- Bruix J, Llovet JM. Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 519-524
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *J Hepatol* 2001; 35: 421-430

- Castells A, Bruix J, Bru C, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with tamoxifen: a double-blind placebo-controlled trial in 120 patients. *Gastroenterology* 1995; 109: 917-922
- CLIP Group Tamoxifen in treatment of hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Lancet* 352:1720-198.
- Ferlay J, Parkin DM, Pisani P. GLOBOCAN graphical package 1: Cancer incidence and mortality worldwide. *Lyon: IARC press, 1998*
- Fong Y, Sun RL, Jarnagin W, et al. An analysis of 412 cases of hepatocellular carcinoma at a Western center. *Ann Surg* 1999; 229: 790-799
- Freeman R, Wiesner R, Harper A, et al. The new liver allocation system: moving toward evidence-based transplantation policy. *Liver Transpl* 2002; 8: 851-858
- Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire. A comparison of lipiodol chemoembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1995; 332: 1256-1261
- Jonas S, Bechstein WO, Steinmuller T, et al. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology* 2001; 33: 1080-1086
- Lin DY, Liaw YF, Lee TY, et al. Hepatic arterial embolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma--a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 1988; 94: 453-456
- Livraghi T, Giorgio A, Marin G, et al. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. *Radiology* 1995; 197: 101-108
- Llovet JM, Bruix J, Fuster J, et al. Liver transplantation for treatment of small hepatocellular carcinoma: The TNM classification does not have prognostic power. *Hepatology* 1998; 27: 1572-1577
- Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: Resection versus transplantation. *Hepatology* 1999; 39: 1434-1440
- Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J, for the Barcelona Clinic Liver Cancer Group. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-1739

- Llovet JM, Sala M, Castells L, et al. Randomized controlled trial of interferon treatment for advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31: 1-5
- Lo CM, Ngan H, Tso WK, et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1164-1171
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-699
- Pelletier G, Ducreux M, Gay F, et al. Treatment of unresectable hepatocellular carcinoma with lipiodol chemoembolization: a multicenter randomized trial. *J Hepatol* 1998; 29: 129-134
- Pelletier G, Roche A, Ink O, et al. A randomized trial of hepatic arterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1990; 11: 181-184
- Raoul JL, Guyader D, Bretagne JF, et al. Prospective randomized trial of chemoembolization versus intra-arterial injection of 131I-labeled-iodized oil in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997; 26: 1156-1161
- Rossi S, Di Stasi M, Buscarini E, et al. Percutaneous RF interstitial thermal ablation in the treatment of hepatic cancer. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167: 759-768
- Sarasin F, Majno P, Llovet JM, et al. Liver donor liver transplantation for early hepatocellular carcinoma: a cost-effectiveness perspective. *Hepatology* 2001; 33: 1073-1079
- Yamamoto J, Okada S, Shimada K, et al. Treatment strategy for small hepatocellular carcinoma: comparison of long-term results after percutaneous ethanol injection therapy and surgical resection. *Hepatology* 2001; 34: 707-713
- Yao FY, Bass NM, Nikolai B, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: analysis of survival according to the intention-to-treat principle and *drop-out* from the waiting list. *Liver Transpl* 2002; 8: 873-883

Terapia loco-regionale

RFA ed alcolizzazione

- Andriulli A, de Sio I, Solmi L, De Carlis L, Troisi R, Grasso A, et al. Survival of cirrhotic patients with early hepatocellular carcinoma treated by percutaneous ethanol injection or liver transplantation. *Liver Transpl* 2004;10:1355-63

- Arii S, Teramoto K, Kawamura T, Okamoto H, Kaido T, Mori A, Imamura M. Characteristics of recurrent hepatocellular carcinoma in Japan and our surgical experience. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8: 397-403
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Chistensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodès J, for the EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *J Hepatology* 2001; 35: 421-30
- Di Stasi M, Buscarini L, Livraghi T, Giorgio A, Salmi A, De Sio I, Brunello F, Solmi L, Caturelli E, Magnolfi F, Caremani M, Filice C. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma. A multicenter survey of evaluation practices and complication rates. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 1168-73
- Goldberg SN, Gazelle GS, Solbiati L, Rittman WJ, Mueller PR. Radiofrequency tissue ablation: increased lesion diameter with a perfusion electrode. *Acad Radiol* 1996; 3: 636-44
- Ikeda M, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Kuryama H. Radiofrequency ablation and percutaneous ethanol injection in patients with small hepatocellular carcinoma: a comparative study. *Jpn J Clin Oncol* 2001; 31: 322-26
- Kotoh K, Sakai H, Sakamoto S, Nakayama S, Satoh M, Morotomi I, Nawata H. The effect of percutaneous ethanol injection therapy on small solitary hepatocellular carcinoma is comparable to that of hepatectomy. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 194-8
- Lencioni R, Allgaier HP, Cioni D, Olschewski M, Deibert P, Crocetti L, Frings H, Laubenberger J, Zuber I, Blum H, Bartolozzi C. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radiofrequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology* 2003; 228: 235-40
- Liver Cancer Study Group of Japan. The 15th report of primary liver cancer in Japan. *Acta Hepatol Jpn* 2003; 31: 171-9
- Livraghi T, Bolondi L, Buscarini L, Cottone M, Mazziotti A, Morabito A, Torzilli G and the Italian Cooperative HCC Study Group. No treatment, resection and ethanol injection in hepatocellular carcinoma: a retrospective analysis of survival in 391 cirrhotic patients. *J Hepatol* 1995; 22: 522-6
- Livraghi T, Festi D, Monti F, Salmi A, Vettori C: US-guided percutaneous alcohol injection of small hepatic and abdominal tumors. *Radiology* 1986; 161: 309-12

- Livraghi T, Giorgio A, Marin G, Salmi A, de Sio I, Bolondi L, de Sio I, Bolondi L, Pompili M, Brunello F, Lazzaroni S, Torzilli G, Zucchi A. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. *Radiology* 1995; 197: 101-08
- Livraghi T, Goldberg N, Lazzaroni S, Meloni F, Solbiati L, Gazelle GS. Radiofrequency ablation vs ethanol injection in the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Radiology* 1999; 210: 655-61
- Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000; 214: 761-8
- Livraghi T, Meloni F, Corso R, Rampoldi A. Comparison between RF ablation and TACE in the treatment of multifocal hepatocellular carcinoma: preliminary experience. *Radiology* 2000; 217: S787
- Livraghi T, Meloni F, Morabito A, Vettori C. Multimodal image-guided tailored therapy of early and intermediate hepatocellular carcinoma: long-term survival in the experience of a single referral center. *Liver Transpl* 2004; 10: S98-106
- Livraghi T, Solbiati L, Meloni F, Gazelle GS, Halpren EF, Goldberg SN. Percutaneous radio-frequency ablation: complications encountered in a multicenter study of the treatment of focal liver tumors. *Radiology* 2003; 226: 441-51
- Livraghi T, Vettori C, Torzilli G, Lazzaroni S, Pellicanò S, Ravasi S: Percutaneous ethanol injection of hepatic tumors: single session therapy under general anesthesia. *AJR* 1993; 160: 1065-1069
- Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-38
- Llovet JM, Funster J, Bruix J. Intention to treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology* 1999; 30: 1434-40
- Llovet JM, Real MI, Montana X, Planas R, Coll S, Aponte j, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodès J, Bruix J. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-8
- Lo CM, Ngan H, Tso WK, Liu CL, Lam CM, Ping Poon RT, Fan ST, Wong J. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1164-71

- Murakami R, Yoshimatsu S, Yamashita Y, Sagara K, Arakawa A, Takahashi M. Transcatheter hepatic subsegmental arterial chemoembolization therapy for small hepatocellular carcinoma. *Acta Radiologica* 1994; 35: 576-80
- Nakashima O, Kojiro M. Recurrence of hepatocellular carcinoma: multicentric occurrence or intrahepatic metastases? A viewpoint in terms of pathology. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8: 404-9
- Rossi S, Buscarini E, Garbagnati F. Percutaneous treatment of small hepatic tumors by an expandable RF needle electrode. *AJR* 1988; 170: 1015-22
- Rossi S, Fornari F, Buscarini L. Percutaneous ultrasound guided radiofrequency electrocautery for the treatment of small hepatocellular carcinoma. *J Intervent Radiol* 1993; 8: 97-103
- Ryu M, Shimamura Y, Kinoshita T, Konishi M, Kawano N, Iwasaki M, Furuse J, Yoshino M, Moriyama N, Sugita M. Therapeutic results of resection, TAE and PEI in 3225 patients with hepatocellular carcinoma: a retrospective multicenter study. *Jpn J Clin Oncol* 1997; 27: 251-7
- Sala M, Llovet JM, Vilana R, Bianchi L, Sole M, Ayuso C, et al. Initial response to percutaneous ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2004; 40: 1352-1360
- Shiina S, Tagawa K, Niwa Y et al. Percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma: results in 146 patients. *AJR* 1993; 160: 1023-28
- Solbiati L, Goldberg SN, Ierace T, Livraghi T, Mueller PR, Gazelle GS. Radiofrequency ablation of hepatic metastases with cooled-tip electrodes: Results in 33 patients. *Radiology* 1997; 205: 367-73
- Torzilli G, Makuuchi M, Inoue K, Takayama T, Sakamoto Y, Sugawara Y, Kubota K, Zucchi A. No-mortality liver resection for hepatocellular carcinoma in cirrhotic and noncirrhotic patients. *Arch Surg* 1999; 134: 984-92
- Yamamoto J, Okada S, Shimada K, Okusaka T, Yamasaki S, Ueno H, Kosuge T. Treatment strategy for small hepatocellular carcinoma: comparison of long-term results after ethanol injection and surgical resection. *Hepatology* 2001; 34: 707-13

Chemio-embolizzazione

- Allgaier HP, Deibert P, Olschewski M et al. Survival benefit of patients with inoperable hepatocellular carcinoma treated by a combination of transarterial chemoembolization and percutaneous

ethanol injection: a single center analysis including 132 patients. *Int J Cancer* 1998; 79: 601-05

- Bartolozzi C, Lencioni R, Caramella D et al. Treatment of large HCC: transcatheter arterial chemoembolization combined with percutaneous ethanol injection versus repeated transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 1995; 197: 812-818
- Bendzus M, Klein R, Burger R. et al. Efficacy of trisacryl gelatin microspheres versus polyvinyl alcohol particles in the preoperative embolization of meningiomas. *Am J Neuroradiol* 2000; 21: 255-61
- Bruix J, Llovet JM, Castells A et al. Transarterial embolization versus symptomatic treatment in patients with advanced hepatocellular carcinoma: results of a randomized controlled trial in a single institution. *Hepatology* 1998; 27: 1578-83
- Cammà C, Schepis F, Orlando A et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 2002; 224: 47-54
- Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hepatocellulaire. A comparison of lipiodol chemoembolization and conservative treatment for unresectable hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1995; 332: 1256-61
- Konno T. Targeting cancer chemotherapeutic agents by use of lipiodol contrast medium. *Cancer* 1990; 66: 1897-03
- Laurent A, Beaujeux R, Wassef M et al. Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization. I: development and in vitro evaluation. *Am J Neuroradiol* 1996; 17: 533-54
- Lee SH, Hahn ST, Park Sh. Intraarterial lidocaine administration for relief of pain resulting from transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: its effectiveness and optimal timing of administration. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2001; 24: 368-71
- Lin DY, Liaw YF, Lee TY, Lai CM. Hepatic arterial embolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 1988; 94: 453-56
- Llovet JM, Brù C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-39
- Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-42
- Llovet JM, Real MI, Montana X et al. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with

unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-39

- Lo CM, Ngan H, Tso WK et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1164-71
- Lu CD, Peng SY, Jiang XC et al. Preoperative transcatheter arterial chemoembolization and prognosis of patients with hepatocellular carcinomas: retrospective analysis of 120 cases. *World J Surg* 1999; 23: 293-300
- Madden MV, Krige JE, Bailey S et al. Randomized trial of targeted chemotherapy with lipiodol and 5-epidoxorubicin compared with symptomatic treatment for hepatoma. *Gut* 1993; 34: 1598-600
- Matsui O, Kadoya M, Yoshikawa J et al. Small hepatocellular carcinoma: treatment with subsegmental transcatheter arterial embolization. *Radiology* 1993; 188: 79-83
- Matsuo N, Uchida H, Nishimine K et al. Segmental transcatheter hepatic artery chemoembolization with iodized oil for hepatocellular carcinoma: antitumor effect and influence on normal tissue. *J Vasc Interv Radiol* 1993; 4: 543-549
- Nakakuma K, Tashiro S, Hiraoka T et al. Studies on anticancer treatment with an oily anticancer drug injected into the ligated feeding hepatic artery for liver cancer. *Cancer* 1983; 52: 2193-2200
- Nakakuma K, Tashiro S, Hiraoka T et al. Hepatocellular carcinoma and metastatic cancer detected by iodized oil. *Radiology* 1985; 154: 15-17
- Ohishi H, Huchida H, Yoshimura H et al. Hepatocellular carcinoma detected by iodized oil. Use of anticancer agents. *Radiology* 1985; 154: 25-29
- Osuga K, Khankan AA, Hori S et al. Transarterial embolization for large hepatocellular carcinoma with use of superabsorbent polymer microspheres: initial experience. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: 929-934
- Pelletier G, Ducreux M, Gay F et al. Treatment of unresectable hepatocellular carcinoma with lipiodol chemoembolization: a multicenter randomized trial. *J Hepatol* 1998; 29: 129-34
- Pelletier G, Roche A, Ink O et al. A randomized trial of hepatic arterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 1990; 11: 181-84
- Ramsey DE, Kernagis LY, Soulen MC et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: 211-221

- Richard HM III, Silberzweig JE, Mitty HA et al. Hepatic arterial complications in liver transplant recipients treated with pretransplantation chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Radiology* 2000; 214: 775-79
- Saccheri S, Lovaria A, Sangiovanni A et al. Segmental transcatheter arterial chemoembolization treatment in patients with cirrhosis and inoperable hepatocellular carcinomas. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: 995-999
- Zhang Z, Liu Q, He J et al. The effect of preoperative transcatheter hepatic arterial chemoembolization on disease-free survival after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 2606-12

Terapia sistemica

- Ahmed MH, Konno H, Nahar L, et al. The angiogenesis inhibitor TNP-470 (AGM-1470) improves long-term survival of rats with liver metastasis. *J Surg Res* 1996; 64:35-41
- Capizzi RL, Hann HL, Feeney KJ, et al. Gemcitabine, amifostine, and cisplatin (GAP) treatment for unresectable hepatocellular carcinoma (HCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19: 285 (abstr 1113)
- Chow NH, Hsu PI, Lin XZ, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in normal liver and hepatocellular carcinoma: An immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1997; 28: 698-703
- Chung YH, Song IH, Song BC, et al. Combined therapy consisting of intraarterial cisplatin infusion and systemic interferon-alpha for hepatocellular carcinoma patients with major portal vein thrombosis or distant metastasis. *Cancer* 2000; 88:1986-1991
- Diaz-Flores L, Gutierrez R, Varela H. Angiogenesis: An update. *Histol Histopathol* 1994; 9: 807-843
- Eisen T, Boshoff C, Mak I, et al. Continuous low dose thalidomide: A phase II study in advanced melanoma, renal cell, ovarian and breast cancer. *Br J Cancer* 2000; 82: 812-817
- Engstrom PF, Levin B, Moertel CG, et al: A Phase II trial of tamoxifene in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1990; 65: 2641-2643
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1: 27-31
- Friedman MA. Primary hepatocellular cancer – Present results and future prospect. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1983; 9:1841-1850

- Fuloria J, Parikh PM, Prabhakaran M, et al. A multicenter, phase II trial of gemcitabine and cisplatin in unresectable hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19: 292a (abstr 1143)
- Hochster HS, Green MD, Speyer J, et al. 4'Epidoxorubicin (epirubicin): activity in hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 1985; 3:1535-1540
- Ikeda K, Saitoh S, Suzuki Y, et al. Interferon decreases hepatocellular carcinogenesis in patients with cirrhosis caused by the hepatitis B virus: A pilot study. *Cancer* 1998; 82: 827-835
- Kin M, Torimura T, Ueno T, et al. Angiogenesis inhibitor TNP-470 suppresses the progression of experimentally-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Int J Oncol* 2000; 16: 375-382
- Kouroumalis E, Skordilis P, Thermos K, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with octreotide: A randomized controlled study. *Gut* 1998; 42: 442-447
- Lai CL, Wu PC, Chan GC, et al. Doxorubicin versus no antitumor therapy in inoperable hepatocellular carcinoma. A prospective randomized trial. *Cancer* 1988; 62: 479-483
- Lau WY, Leung WT, Lai BS, et al. Pre-operative systemic chemoimmunotherapy and sequential resection for unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2001; 233: 236-241
- Leung TWT, Lau WY, Tang A, et al: Patient characteristics that predict response and survival after systemic PIAF chemotherapy for inoperable hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19: 1085 (abstr)
- Lozano RD, Patt TZ, Hassan MM, et al: Oral capecitabine (Xeloda) for the treatment of hepatocellular cancers (hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and gallbladder cancer). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2000; 19: 264 (abstr 1025).
- Mani S, Sciortino D, Samuels B, et al: Phase II trial of uracil/tegafur (UFT) plus leucovorin in patients with advanced biliary carcinoma. *Invest New Drugs* 1999; 17: 97-101
- Mathurin P, Rixe O, Carbonell N, et al: Review article: Overview of medical treatments in unresectable hepatocellular carcinoma – An impossible meta-analysis? *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 111-126
- Melia WM, Johnson PJ, Williams R: Induction of remission in hepatocellular carcinoma. A comparison of VP 16 with Adriamycin. *Cancer* 1983; 51:206-210

- Melia WM, Westaby D, Williams R. Diamminodichloride platinum (cis-platinum) in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Clin Oncol* 1981; 7: 275-280
- Mori K, Hasegawa M, Nishida M, et al: Expression levels of thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase in various human tumor tissue. *Int J Oncol* 2000; 17: 33-38
- Nerenstone SR, Ihde DC, Friedman MA: Clinical trials in primary hepatocellular carcinoma: Current status and future directions. *Cancer Treat Rev* 1988; 15: 1-31
- Okada S: Chemotherapy in hepatocellular carcinoma. *HepatoGastroenterology* 1998; 45: 1259-1263
- Patt YZ, Hassan MM, Lozano RD, et al. Durable clinical response of refractory hepatocellular carcinoma to orally administered thalidomide. *Am J Clin Oncol* 2000; 23: 319-321
- Patt YZ, Hoque A, Roh M, et al: Durable clinical and pathologic response of hepatocellular carcinoma to systemic and hepatic arterial administration of platinum, recombinant interferon alpha 2B, doxorubicin, and 5-fluorouracil: A communication. *Am J Clin Oncol* 1999; 22: 209-213
- Patt YZ, Lozano R, Hassan M, et al. Continuous IV 5-fluorouracil and subcutaneous recombinant interferon alpha 2b is an active regimen in hepatocellular carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20: 168a (abstr 671)
- Pazdur R. Phase II study of UFT plus leucovorin in colorectal cancer. *Oncology* 1997; 54: 19-23
- Pazdur R. UFT: East meets West in drug development. *Oncology (Huntingt)* 1997; 11: 11-13
- Reubi JC, Zimmermann A, Jonas S, et al: Regulatory peptide receptors in human hepatocellular carcinomas. *Gut* 1999; 45: 766-774
- Riestra S, Rodriguez M, Delgado M, et al. Tamoxifen does not improve survival of patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 1998; 26: 200-203
- Simonetti RG, Leberati A, Angiolini C, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma: A systematic review of randomized controlled trials. *Ann Oncol* 1997; 8: 117-136
- Stuart K, Tessitore J, Huberman M: 5-Fluorouracil and alpha-interferon in hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Oncol* 1996; 19: 136-139

- Yuen MF, Poon RT, Lai CL, Fan ST, Lo CM, Wong KV, Wong WM, Wong BC. A randomized placebo-controlled study of long-acting octreotide for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002 sept 36(3): 687-91

Terapia chirurgica

Resezione

- Adam R, Azoulay D, Castaing D, et al. Liver resection as a bridge to transplantation for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: a reasonable strategy? *Ann Surg* 2003; 238: 508-18
- Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, Makuuchi M, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. *Hepatology* 2000; 32: 1224-9
- Belghiti J, Cortes A, Abdalla EK, et al. Resection prior to liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a strategy of optimizing the role of resection and transplantation in cirrhotic patients with preserved liver function. *Ann Surg* 2003; 238: 885-893
- Belghiti J, Regimbeau JM, Durand F, et al. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepato-gastroenterology* 2002; 49: 41-6
- Capussotti L, Borgonovo G, Bouzari H, et al. Results of major liver resection for large hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *BJS* 1994; 81: 427-31
- Capussotti L, Muratore A, Massucco P, Ferro A, Polastri R, Bouzari H. Major liver resections for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: early and long-term outcome. *Liver Transpl* 2004; 10 (2) Suppl 1: S64-S68
- Farges O, Regimbeau JM, Belghiti J. Aggressive management of recurrence following surgical resection of hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 1998; 45: 1275-80
- Grazi GL, Ercolani G, Pierangeli F, et al. Improved results of liver resection for hepatocellular carcinoma give the procedure added value. *Ann Surg* 2001; 234: 71-78
- Jaeck D, Bachellier P, Oussoultzoglou E, et al. Surgical resection of hepatocellular carcinoma. Post-operative outcome and long-term results in Europe: an overview. *Liver Transpl* 2004; 10 (2) Suppl 1: S58-S63

- Lise M, Bacchetti S, Da Pian P, et al. Prognostic factors affecting long term outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma. Results in a series of 100 Italian patients. *Cancer* 1998; 82: 1028.
- Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 329-338
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-9
- Nagasue N, Yukaya H, Ogawa Y, et al. Human liver regeneration after major hepatic resection. A study of normal liver and livers with chronic hepatitis and cirrhosis. *Ann Surg* 1987; 206: 30-6
- Plessier A, Codes L, Consigny Y, et al. Underestimation of the influence of satellite nodules as a risk factor for post-transplantation recurrence in patients with small hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2004; 10 (2) Suppl 1: S86-S90
- Shimada M, Takenaka K, Taguchi K, et al. Prognostic factors after repeat hepatectomy for recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 1998; 227: 80-85
- Torzilli G, Makuuchi M, Inoue K, et al. No-mortality liver resection for hepatocellular carcinoma in cirrhotic and non-cirrhotic patients: is there a way? A prospective analysis of our approach. *Arch Surg* 1999; 134: 984-92
- Tsao JJ, DeSanctis J, Rossi RL, Oberfield RA. Multidisciplinary approach to cancer. *Surg Clin N Am* 2000; 2: 203-234
- Wakabayashi H, Okada S, Maeba T, et al. Effect of preoperative portal vein embolization on major hepatectomy for advanced-stage hepatocellular carcinomas in injured livers: a preliminary report. *Surg Today* 1997; 27: 403-10

Trapianto e criteri di selezione

- American Liver Tumor Study group. A randomized prospective multi-institutional trial of orthotopic liver transplantation or partial hepatic resection with or without adjuvant chemotherapy for Hepatocellular carcinoma. *Investigator Booklet and Protocol*. 1998
- Bismuth H, Majno PE, Adam R. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 1999; 19: 311-22
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodes J for the EASL Panel of experts on HCC. Clinical management of

hepatocellular carcinoma: conclusions of the Barcelona-2000 EASL Conference. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30

- Carithers RL. Liver transplantation. American Association for the Study of Liver Diseases. *Liver Transpl.* 2000; 6:122-35
- Graziadei IW, Sandmueller H, Waldenberger P, Koenigsrainer A, Nachbaur K, Jaschke W, Margreiter R and Vogel W. Chemoembolization followed by liver transplantation for hepatocellular carcinoma impedes tumor progression while on the waiting list and leads to excellent prognosis. *Liver Transpl* 2003; 9: 557-63
- Gridelli B, Remuzzi G. Strategies for making more organs available for transplantation. *N Engl J Med* 2000; 343: 404-410
- Iwatsuki S, Dvorchik I, Marsh JW, Madariaga JR, Larr B, Fung JJ, Startzl TE. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: A proposal of prognostic screening system. *J Am Coll Surg* 2000; 191: 389-94
- Jonas S, Bechstein WO, Steinmuller T, Herrmann M, Radke C, Berg T, Settmacher U, Neuhaus P. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology* 2001; 33: 1080-6
- Jonas S, Bechstein WO, Steinmuller T, Herrmann M, Radke C, Berg T, Settmacher U, Neuhaus P. Vascular invasion and histopathologic grading determine outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Hepatology* 2001; 33: 1080-1086
- Klintmalm GB. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a registry report of the impact of the tumor characteristics on outcome. *Ann Surg* 1998; 228: 479-490
- Lee JS, Chu IS, Heo J, Calvisi DF, Sun Z, Roskams T, Durnez A, Demetris AJ, Thorgeirsson SS. Classification and prediction of survival in hepatocellular carcinoma by gene expression profiling. *Hepatology* 2004; 40: 667-76.
- Llovet J, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-17
- Llovet JM, Bruix J, Fuster J, Castells A, Garcia- Valdecasas JC, Grande L, Franca A, Bru C, Navasa M, Ayuso MC, Sole M, Real MI, Vilana R, Rimola A, Visa J, Rodes J. Liver transplantation for small hepatocellular carcinoma: the Tumor-Node-Metastasis classification does not have prognostic power. *Hepatology* 1998; 27: 1572-77

- Llovet JM, Bruix J, Fuster J, Castells A, Garcia-Valdecasas JC, Grande L, Franca A, Bru C, Navasa M, Ayuso MC, Sole M, Real MI, Vilana R, Rimola A, Visa J, Rodes J. Liver Transplantation for treatment of small Hepatocellular carcinoma: the TNM classification does not have prognostic power. *Hepatology* 1998; 27: 1572-7
- Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma; chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-42.
- Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology* 1999; 39: 1434-40
- Mazzaferro V, Battiston C, Perrone S, Pulvirenti A, Regalia E, Romito R, Sarli D, Schiavo M, Garbagnati F, Marchiano' A, Spreafico C, Camerini T, Mariani L, Miceli R and Andreola S. Radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients awaiting liver transplantation. A prospective study. *Ann Surg* 2004; 240: 900-9
- 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 carcinoma in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-9
- Molmenti EP, Klintmalm GB. Liver Transplantation in association with hepatocellular carcinoma: an update of the International Tumor registry. *Liver Transpl* 2002; 8: 736-48
- Renz JF, Busutill R. Adult-to-adult livingdonor liver transplantation. A critical analysis. *Semin Liver Dis* 2000; 20: 411-24
- Sarasin F, Majno P, Llovet JM, Mentha J, Bruix J, Hadengue A. Liver donor liver transplantation for early HCC a cost-effectiveness perspective. *Hepatology* 2001; 33: 1073-9
- Tamura S, Kato T, Berho M, et al.. Impact of histological grade of hepatocellular carcinoma on the outcome of liver transplantation. *Arch Surg* 2001; 136: 25-30
- Trapianto di fegato non urgente dell'adulto. Raccomandazioni della Commissione di studio A.I.S.F.2004. pag 12-13. Available at: <http://www.webaisf.org>
- United Network for Organ Sharing. Annual report and the OPTN waiting list. Available at: <http://www.unos.org/data>.
- Vizzini G, Luca A, D'Antoni A, Miraglia R, Pietrosi G, Mandala' L, Gruttadauria S, Piazza T, Gridelli B. Low drop out rate from liver transplant waiting list in patients with hepatocellular carcinoma

(HCC) treated with intra-arterial chemo/embolization (TACE/TAE). ILTS 2004. Abstract.

- Wiesner RH, Rakela R, Ishitani MB, Mulligan DC, Spivey JR, Steers JL, Krom RA. Recent advances in Liver Transplantation. *Mayo Clin Proc.* 2003; 78: 197-210
- Yao FY, Bass NM, Ascher NL and Roberts JP. Liver Transplantation for Hepatocellular carcinoma: Lessons from the first year under the Model of End Stage Liver Disease (MELD) Organ Allocation Policy. *Liver Transpl* 2004; 10: 621-630
- Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, Ascher NL and John Roberts. Liver Transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 2001; 33: 1394-1403
- Yao YF, Ferrell L, Bass NM, Bacchetti P, Ascher NL, Roberts JP. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: comparison of the proposed UCSF criteria with the Milan Criteria and the Pittsburgh Modified TNM criteria. *Liver Transpl* 2002; 8: 765-74

DIREZIONI FUTURE

- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, Piscaglia F, Gramantieri L, Zanetti M, Sherman M. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001; 48: 251-9
- Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodes J; EASL Panel of Experts on HCC. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001; 35: 421-30.
- Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. *Gastroenterology* 2002; 123: 375-378
- Chen MH, Yang W, Yan K, Zou MW, Solbiati L, Liu JB, Dai Y. Large liver tumors: protocol for radiofrequency ablation and its clinical application in 110 patients - mathematic model, overlapping mode and electrode placement process. *Radiology* 2004; 232: 260-271

- De Ruyck K, Lambert B, Bacher K, Gemmel F, De Vos F, Vral A, de Ridder L, Dierckx RA, Thierens H. Biologic dosimetry of 188Re-HDD/lipiodol versus 131I-lipiodol therapy in patients with hepatocellular carcinoma. *J Nucl Med* 2004; 45: 612-8
- Fiorentino M, Altimari A, Ravaioli M, Gruppioni E, Gabusi E, Corti B, Vivarelli M, Bringuier PP, Scoazec JY, Grigioni WF, D'Errico-Grigioni A. Predictive value of biological markers for hepatocellular carcinoma patients treated with orthotopic liver transplantation. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1789-1795
- Geissler M, Mohr L, Ali MY, Grimm CF, Ritter M, Blum HE. Immunobiology and gene-based immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Z Gastroenterol* 2003; 41: 1101-10
- Goldberg SN, Kamel IR, Kruskal JB, Reynolds K, Monsky WL, Stuart KE, Ahmed M, Raptopoulos V. Radiofrequency ablation of hepatic tumors: increased tumor destruction with adjuvant liposomal doxorubicin therapy. *Am J Radiol* 2002;179: 93-101
- Hippo Y, Watanabe K, Watanabe A, Midorikawa Y, Yamamoto S, Ihara S, Tokita S, Iwanari H, Ito Y, Nakano K, Nezu J, Tsunoda H, Yoshino T, Ohizumi I, Tsuchiya M, Ohnishi S, Makuuchi M, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H. Identification of soluble NH2-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64: 2418-23
- Izzo F, Marra P, Beneduce G, Castello G, Vallone P, De Rosa V, Cremona F, Ensor CM, Holtsberg FW, Bomalaski JS, Clark MA, Ng C, Curley SA. Pegylated arginine deiminase treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: results from phase I/II studies. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1815-22
- Kojima S, Okuno M, Matsushima-Nishiwaki R, Friedman SL, Moriwaki H. Acyclic retinoid in the chemoprevention of hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2004; 24: 797-805
- Kudo M. Local ablation therapy for hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *J Gastroenterol* 2004; 39: 205-214
- Lau WY, Leung TW, Ho SK, Chan M, Machin D, Lau J, Chan AT, Yeo W, Mok TS, Yu SC, Leung NW, Johnson PJ. Adjuvant intra-arterial iodine-131-labelled lipiodol for resectable hepatocellular carcinoma: a prospective randomised trial. *Lancet* 1999; 353: 797-801
- Lin SM, Lin CJ, Hsu CW, Tai DI, Sheen IS, Lin DY, Liaw YF. Prospective randomized controlled study of interferon-alpha in

preventing hepatocellular carcinoma recurrence after medical ablation therapy for primary tumors. *Cancer* 2004; 100: 376-82

- Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000; 214: 761-8
- Mazziotti G, Sorvillo F, Morisco F, Carbone A, Rotondi M, Stornaiuolo G, Precone DF, Cioffi M, Gaeta GB, Caporaso N, Carella C. Serum insulin-like growth factor I evaluation as a useful tool for predicting the risk of developing hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis: a prospective study. *Cancer* 2002; 95: 2539-2545
- Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, Tanaka T, Tsurumi K, Okuno M, Tomita E, Nakamura T, Kojima T. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 1561-7
- Park IS, Kang SW, Shin YJ, Chae KJ, Park MO, Kim MY, Wheatley DN, Min BH. Arginine deiminase: a potential inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Br J Cancer* 2003; 89: 907-914
- Ranke MB, Maier KP, Schweizer R, Stadler B, Schleicher S, Elmlinger MW, Flehmig B. Pilot study of elevated levels of insulin-like growth factor-binding protein-2 as indicators of hepatocellular carcinoma. *Horm Res* 2003; 60: 174-80
- Samonakis DN, Moschandreas J, Arnaoutis T, Skordilis P, Leontid C, Vafiades I, Kouroumalis E. Tt of hepatocellular carcinoma with long acting somatostatin analogues. *Oncol Rep* 2002; 9: 903-907
- Sangiovanni A, Del Ninno E, Fasani P, De Fazio C, Ronchi G, Romeo R, Morabito A, De Franchis R, Colombo M. Increased survival of cirrhotic patients with a hepatocellular carcinoma detected during surveillance. *Gastroenterology* 2004; 126: 1005-14
- Sato Y, Nakata K, Kato Y, Shima M, Ishii N, Koji T, Taketa K, Endo Nagataki S. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profile of alpha-phetoprotein. *N Engl J Med* 1993; 328: 1802-1806
- van Dekken H, Wink J, Alers JC, de Man RA, IJzermans JN, Zondervan PE. Genetic evaluation of the dysplasia-carcinoma sequence in chronic viral liver disease: a detailed analysis of two cases and a review of the literature. *Acta Histochem* 2003; 105: 29-41

- Wang TE, Kao CR, Lin SC, Chang WH, Chu CH, Lin J, Hsieh RK. Salvage therapy for hepatocellular carcinoma with thalidomide *World J Gastroenterol* 2004; 10: 649-653
- Yasuda I, Shiratori Y, Adachi S, Obora A, Takemura M, Okuno M, Shidoji Y, Seishima M, Muto Y, Moriwaki H. Acyclic retinoid induces partial differentiation, down regulated telomerase reverse transcriptase mRNA expression and telomerase activity, and induces apoptosis in human hepatoma derived cell lines. *J Hepatol* 2002; 36: 660-671
- Yin YX, Lu MD, Lai YR, Liang LJ, Huang JF. Prognostic significances of tumor infiltrating S-100 positive dendritic cells and lymphocytes in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 1281-1284
- Yoshida H, Tateishi R, Arakawa Y, Sata M, Fujiyama S, Nishiguchi H, Ishibashi H, Yamada G, Yokosuka O, Shiratori Y, Omata M. Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2004; 53: 425-430
- Yuen MF, Poon RT, Lai CL, Fan ST, Lo CM, Wong KW, Wong WM, Wong BC. A randomized placebo-controlled study of long-acting octreotide for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2003; 36: 687-691