UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI FOGGIA

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

CORSO DI DOTTORATO IN MEDICINA SPERIMENTALE E RIGENERATIVA-XXX CICLO

Direttore : Prof. Nazzareno CAPITANIO

TESI DI DOTTORATO
Clinico-Sperimentale

Angiotensin II receptor 1 blockers prolong time to recurrence after radiofrequency ablation in hepatocarcinoma patients

Gli antagonisti del recettore 1 dell'angiotensina II prolungano il tempo alla recidiva dopo ablazione con radiofrequenza nei pazienti con carcinoma epatocellulare

Relatore :
Chiar.mo **Prof. Gaetano Serviddio**

Medico Dottorando:
Dott. Antonio Facciorusso

INDICE

1. English abstract

2. Introduzione

3. Epidemiologia

4. Diagnosi e stadiazione

5. Terapie ablative loco regionali

6. Scopo della tesi

7. Materiali e Metodi

8. Risultati

9. Discussione e conclusioni

10. Bibliografia

ENGLISH ABSTRACT

Liver cancer is the fifth most common cancer and the second most frequent cause of cancer-related death globally, with 854,000 new cases and 810,000 deaths per year, accounting for 7% of all cancers [1]. HCC represents about 90% of primary liver cancers and constitutes a major global health problem. The incidence of HCC increases progressively with advancing age in all populations, reaching a peak at 70 years [2].

Imaging is an essential part of HCC diagnosis, contributing to primary liver tumour typing and staging. Non-invasive imaging diagnosis of HCC in the setting of a cirrhotic liver was accepted in 2001, when dynamic imaging explorations demonstrated the typical diagnostic pattern (updated in 2005 [3]). Imaging-based diagnosis relies on the peculiar vascular derangement occurring during hepatic carcinogenesis and of the high pre-test probability of HCC in the setting of cirrhosis [3-5], although the frequency of intrahepatic cholangiocarcinoma (CC) and combined HCC/CC is also increased in cirrhosis. The higher pre-test probability is also the reason why a non-invasive diagnosis is only accepted by the European Association for the Study of the Liver (EASL) in cirrhotic patients, appreciating that there are non-cirrhotic patients at significant risk of developing HCC. Contrast-enhanced imaging methods are necessary for the diagnosis of HCC and are based on vascular phases (lesion appearance in the late arterial phase, in the portal venous phase, and in the delayed phase) [3-5]. The typical hallmark is the combination of hypervascularity in late arterial phase (defined as arterial phase hyperenhancement [APHE] according to LI-RADS [Liver Imaging Reporting and Data System] classification) and washout on portal venous and/or delayed phases, which reflects the vascular derangement occurring during

hepatocarcinogenesis [5]. Concerning the contrast-enhanced imaging techniques, only multiphasic computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) were recommended in American guidelines [5].

Staging systems for HCC should be designed with data from two sources. Firstly, prognostic variables obtained from studies describing the natural history of cancer and cirrhosis. Secondly, treatment-dependent variables obtained from evidence-based studies providing the rationale for assigning a given therapy to patients in a given subclass. Several staging systems have been proposed to provide a clinical classification of HCC. Current guidelines endorse the BCLC classification for several reasons. It includes prognostic variables related to tumour status, liver function and health performance status along with treatment-dependent variables obtained from cohort studies and randomised trials. It has been externally validated in different clinical settings and is an evolving system that links tumour stage with treatment strategy in a dynamic manner, enabling the incorporation of novel advances in the understanding of the prognosis or management of HCC.

Ablative treatments currently represent the first-line option for the treatment of early stage unresectable HCC. Furthermore, they are effective as bridging/downstaging therapies before orthotopic liver transplantation (OLT). Contraindications based on size, number, and location of nodules are quite variable in literature and strictly dependent on local expertise.

Among ablative therapies, radiofrequency ablation (RFA) has gained a pivotal role due to its efficacy, with a reported 5-year survival rate of 40-70%, and safety [6,7]. Although survival outcomes are similar to percutaneous ethanol injection (PEI), the lower local recurrence rate stands for a wider application of RFA in hepato-oncology. Moreover, RFA seems to be even more cost-effective than liver

resection for very early HCC (single nodule ≤ 2 cm) and in the presence of two or three nodules ≤3 cm [8].

Among other thermal treatments, microwave ablation (MWA) uses high frequency electromagnetic energy to induce tissue death via coagulation necrosis. In comparison to RFA, MWA has several theoretical advantages such as a broader zone of active heating, higher temperatures within the targeted area in a shorter treatment time and the lack of heat-sink effect [9]. The safety concerns raised on the risks of this procedure, due to the broader and less predictable necrosis areas, have been recently overcome. However, whether MWA ability to generate a larger ablation zone will translate into a survival gain remains unknown [10].

Other treatments, such as high-intensity focused ultrasound ablation (HIFU), laser ablation (LA), and cryoablation, are less investigated but showed promising results in early HCC patients and could be a valuable therapeutic option in the next future [11].

As aforementioned, even after radical treatments (such as surgery, OLT or RFA), tumor recurrence represents a challenging problem, due to its high frequency and often more aggressive course. Therefore, in the last few years there has been an increasing interest in adjuvant drugs able to decrease the tumor recurrence rate after primary therapy.

Despite the promising results of some retrospective reports and the theoretical advantages of sorafenib in adjuvant setting, a broad multicenter randomized-controlled trial [Sorafenib as Adjuvant Treatment in the Prevention Of Recurrence of Hepatocellular Carcinoma (STORM)], enrolling 1114 HCC patients after resection or RFA, failed to find a significant improvement in RFS (primary endpoint) and OS [12]. This disappointing result was partly related to the high

discontinuation rate of therapy, because of severe adverse events or consent withdrawal [12].

Likewise, other drugs, such as interferon, provided discordant results in the adjuvant setting due to their high cost and narrow therapeutic window [13,14].

A number of studies conducted in several fields of human oncology suggest that ACE inhibitors and sartans have anticancer-properties [15-17]. This aspect is particularly of interest in hepato-oncology, where the synergistic action of either pro-tumorigenic and pro-fibrogenic properties of angiotensin II may play a pivotal role in hepatocarcinogenesis [18]. In fact, angiotensin II induces the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) and enhances hepatic fibrosis through production of transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) by Kupffer and activated stellate cells [18].

Despite promising results of pivotal studies and the theoretical advantages of ACE-I, large clinical reports have found significantly decreased HCC recurrence rates only when these drugs were used in combination with other agents and, moreover, no difference in overall survival was observed in comparison to the control arm [19-21].

Although the involvement of ACE-I in HCC therapy has been well-explored, the role of the angiotensin II type 1 receptor blockers (namely sartans) remains poorly understood. In fact, most of the biological properties of angiotensin II, including the pro-fibrogenic and pro-angiogenic activity, are mediated by receptor 1. Only in the last few years, angiotensin II receptor 2 has been known to have specular effects as compared to receptor 1, by inhibiting cell proliferation and stimulating apoptosis in a variety of cell lines [22]. While ACE-I block upstream the activation cascade of the renin-angiotensin aldosterone system (RAAS), thus preventing the binding of angiotensin II to both receptors, sartans selectively

inhibit the activation of receptor 1. Moreover, it has been found that under sartan therapy, receptor 2 is overexpressed as regulatory feedback mechanism to pharmacological inhibition [22], hence, the pro-apoptotic and anti-proliferative properties of angiotensin II result even enhanced in patients treated with sartans. Furthermore, sartans are not affected by bothersome side effects (like cough) that , although not life-threatening, may represent a cause of treatment interruption in ACE-I treated patients.

On the basis of the above described biological characteristics and of the promising results of animal studies [23], we decided to retrospectively review data of our historical cohort of HCC patients treated with RFA to test whether sartans, administered to hypertensive patients, might be able to prolong overall survival (OS) and delay tumor recurrence (TTR). Primary indication to either sartan and ACE-I therapy was essential hypertension, a very common condition in the Western world and often related to metabolic syndrome.

Although being a restrospective analysis, our study represents, to the best of our knowledge, the first clinical report aimed at investigating the effects of sartans on disease recurrence and survival in HCC patients after curative therapy.

Among 275 HCC patients who underwent percutaneous RFA at the University of Foggia between February 2004 and March 2015, we included in the study 215 subjects treated for the first occurrence of the neoplasia.

The study population included 3 cohorts: 113 patients who received neither ACE I nor sartans (Group 1), 59 hypertensive patients under ACE I treatment (Group 2) and 43 who underwent RFA while being treated with sartans as anti-hypertensive drug (Group 3). In group 3, 23 patients (53.4%) used losartan, 8 (18%) valsartan, 7 (16.2%) irbesartan and 5 (12.4%) olmesartan.

The main clinical features observed in the 215 patients who underwent RFA are shown in Table 9. There were no significant differences between the three study groups with regard to patient and tumor characteristics. Median age of the whole population was 70 years (range 39-86) and the median maximum tumor diameter in the three groups was 29 mm (14-45), 30 (10-45) and 30 (10-40), respectively (p=0.92). Globally 288 HCC nodules were treated, 87 (30.3%) ≤ 2cm and 201 (69.7%) between 2 and 5 cm.

Objective response (complete response + partial response) was observed in 92.1% of patients.

Median OS was 58 months (49-72) and survival rate (SR) was 98.6%, 51.6% and 39.5% at 1, 4 and 5 years respectively in the whole cohort.

On univariate Cox regression analysis, age, CP score, MELD score, and AFP levels resulted to be predictors of OS (Table 10). Only CP stage and MELD score were confirmed as significant parameters on multivariate analysis (Table 10).

Median OS was 48 months (42-51) in patients who did not receive either sartans or ACE-I therapy, 51 (42-88) in in patients treated with ACE I and 63 months (51-84) in those under sartans (Figure 6; p=0.15). No difference in terms of OS according to drug used (within the sartan class) was observed (p=0.98).

Median time to recurrence (TTR) was 33 months (31-42) with a recurrence-free survival (RFS) rate of 78.1%, 36.6% and 33.3% at 1, 4 and 5 years, respectively.

Age, number of nodules and type of anti-angiotensin therapy resulted predictors of TTR at univariate analysis, whose only number of nodules and anti-angiotensin treatment were confirmed in multivariate setting (Table 11).

Median TTR, when stratified by anti-angiotensin drug class, was 33 months (24-35) in group 1, 41 (23-72) in group 2 and 51 months (42-88) in group 3 (Figure 7; p=0.001).

Therefore, our series confirmed the anti-tumor properties of ACE-I but found an even enhanced tumor-suppressing activity in patients treated with sartans, thus supporting the study hypothesis. In fact, the anti-hypertensive drug class was shown, together with the number of tumor nodules as the sole factor at multivariate analysis to be able to significantly influence TTR.

The post-hoc analysis, undertaken by means of Bonferroni correction of p-values, pointed out the efficacy of sartans, since a significance threshold was reached only for group 3 (Table 11). Therefore, between the two classes of anti-hypertensive drugs, only sartan therapy resulted as a significant predictor of better TTR.

As expected, no severe AEs related to sartans were observed, thus confirming the excellent safety profile of these drugs.

Therefore, sartans seem to present all the optimal characteristics of an adjuvant drug, being inexpensive, safe and widely available.

The current study has some weaknesses. First, its retrospective nature may have affected the reliability of the reported outcomes. However, as shown in Table 9, the three groups were highly comparable in terms of baseline clinical and tumoral parameters, thus obviating any form of selection bias. Moreover, the completeness of the collected data and the adequate follow up length strongly support the robustness of our findings. Second, the small sample size (particularly with regard to the sartan group) requires further confirmation of our results in large cohort studies or randomized controlled trials.

Despite these limitations, particularly due to the retrospective nature of the analysis, our study is the first report on the efficacy of sartans in increasing recurrence-free survival rates in HCC patients after radical therapy. We thus think that, due to their low cost and easy use, sartans may represent a promising

therapeutic tool in the management of early HCC patients undergoing ablative or surgical therapies.

References

1) Ioannou G, Splan M, Weiss N, McDonald G, Beretta L, Lee S. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol 2007;5:938–945.
2) Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, Di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in hepatitis C-related advanced liver disease. Gastroenterology 2009;136:138–148.
3) Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. 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.
4) Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2005;42:1208–1236.
5) International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. Hepatology 2009;49:658–664.
6) Lencioni R, Crocetti L. Local-regional treatment of hepatocellular carcinoma. Radiology. 2012 Jan;262(1):43-58.
7) Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, Franchini C, Pina CD, Lera J, Bartolozzi C. Early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. Radiology 2005;234:961–967.

8) Livraghi T, Meloni F, Di Stasi M, Rolle E, Solbiati L, Tinelli C, Rossi S. Sustained complete response and complications rates after radiofrequency ablation of very early hepatocellular carcinoma in cirrhosis: is resection still the treatment of choice? Hepatology 2008;47:82–89
9) Facciorusso A, Di Maso M, Muscatiello N. Microwave ablation versus radiofrequency ablation for the treatment of hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. Int J Hyperthermia. 2016
10) Abdelaziz A, Elbaz T, Shousha HI, Mahmoud S, Ibrahim M, Abdelmaksoud A, Nabeel M. Efficacy and survival analysis of percutaneous radiofrequency versus microwave ablation for hepatocellular carcinoma: an Egyptian multidisciplinary clinic experience. Surg Endosc. 2014 Dec;28(12):3429-3434
11) Facciorusso A, Serviddio G, Muscatiello N. Local ablative treatments for hepatocellular carcinoma: An updated review. World J Gastrointest Pharmacol Ther. 2016 Nov 6;7(4):477-489
12) Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, Chau GY, Yang J, Kudo M, et al. STORM: A phase III randomized, double-blind, placebo-controlled trial of adjuvant sorafenib after resection or ablation to prevent recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC). J Clin Oncol 32:5s, 2014 (suppl; abstr 4006^).
13) Mazzaferro V, Romito R, Schiavo M, Mariani L, Camerini T, Bhoori S, et al. Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence with alpha-interferon after liver resection in HCV cirrhosis. Hepatology. 2006 Dec;44(6):1543-1554.
14) Hsu YC, Ho HJ, Wu MS, Lin JT, Wu CY. Postoperative peg-interferon plus ribavirin is associated with reduced recurrence of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2013 Jul;58(1):150-157.

15) George AJ, Thomas WG, Hannan RD. The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. Nat Rev Cancer. 2010 Nov;10(11):745-759.

16) Sørensen GV, Ganz PA, Cole SW, Pedersen LA, Sørensen HT, Cronin-Fenton DP, et al. Use of β-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers, and risk of breast cancer recurrence: a Danish nationwide prospective cohort study. J Clin Oncol. 2013 Jun 20;31(18):2265-2272.

17) Ager EI, Neo J, Christophi C. The renin-angiotensin system and malignancy. Carcinogenesis. 2008 Sep;29(9):1675-1684.

18) Hirose A, Ono M, Saibara T, Nozaki Y, Masuda K, Yoshioka A, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2007 Jun;45(6):1375-1381.

19) Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, Ikenaka Y, Kitade M, Kaji K, et al. Combination of vitamin K and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2009;51:315-321.

20) Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, Kaji K, Aihara Y, Yamazaki M, et al. Combination of branched-chain amino acids and angiotensin-converting enzyme inhibitor suppresses the cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma: a randomized control trial. Oncol Rep. 2011 Dec;26(6):1547-1553.

21) Kaibori M, Ishizaki M, Matsui K, , Kitade H, Matsui Y, Kwon AH. Evaluation of metabolic factors on the prognosis of patients undergoing resection of hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;26(3):536-543.

22) Brunton L, Chabner BA, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition. 2011. McGrow-Hill. Pages 721-731.

23) Du H, Liang Z, Zhang Y, Jie F, Li J, Fei Y, et al. Effects of angiotensin II type 2 receptor overexpression on the growth of hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. PLoS One. 2013 Dec 31;8(12):e83754.

INTRODUZIONE

L'incidenza del carcinoma epatocellulare (HCC) è in aumento in molti paesi [1–6] ma in alcune aree come il Giappone e Singapore, l'incidenza di HCC sembra essere stabilizzata o lievemente diminuita [7,8].

La terapia del paziente con HCC coinvolge medici di diverse discipline, tra cui epatologi, chirurghi, oncologi, radiologi interventisti.

Il ruolo del gastroenterologo/epatologo in tale contesto, (in genere organizzati in commissioni oncologiche) è sopratutto quello di valutare il grado di alterazione della funzionalità epatica, prima, durante e dopo la terapia .

L'HCC di solito insorge nell'ambito di una sottostante malattia epatica. In un simile contesto quindi, l'HCC diventa una malattia particolarmente complessa da gestire. Tale complessità non si verifica in altri tipi di cancro dove il paziente è affetto generalmente da un'unica patologia (la neoplasia appunto), a differenza dell'HCC dove sono coesistenti due patologie epatiche (HCC e cirrosi). Tutto ciò suggerisce che i pazienti con HCC dovrebbero essere gestiti in contesti multidisciplinari, con tutte le cure e le possibilità terapeutiche disponibili.

Allora il ruolo dell'epatologo è quello di essere un punto focale attorno alla quale ruota l'intera assistenza del paziente con HCC.

In tutti i vari momenti, l'epatologo dovrebbe valutare la funzionalità epatica e l'idoneità alle varie terapie e dovrebbe essere anche responsabile della gestione della malattia epatica prima, durante e dopo la terapia dell' HCC garantendo che solo trattamenti efficaci vengano praticati, e non trattamenti che sarebbero tecnicamente possibili ma che non hanno dimostrato di migliorare la sopravvivenza del paziente.

EPIDEMIOLOGIA

Il cancro è in incremento in tutto il mondo. Ogni anno ci sono 10.9 milioni di nuovi casi di cancro e 6.7 milioni di morti correlate [9].

I cancri più comunemente diagnosticati sono quelli del polmone, seno e colon-retto mentre le cause più comuni di morte per cancro sono per cancro del polmone, mammella, stomaco e fegato.

Il cancro del fegato è al sesto posto tra i cancri più comuni (749.000 nuovi casi), nonchè la terza causa di morte (692.000 casi), e quindi il 7% di tutti i cancri [9]. L'HCC costituisce più del 90% di cancro primitivo epatico e pertanto rappresenta uno dei maggiori problemi di salute globale.

L'HCC è in progressivo aumento con l'avanzare dell'età in tutta la popolazione, raggiungendo un picco intorno ai 70 anni [10]. Nella popolazione cinese e dei neri africani l'età media dei pazienti con tumore è considerevolmente più giovanile. Questo è in netto contrasto con il Giappone dove l'incidenza di HCC è

più alta nelle corti di pazienti di 70-79 anni [11]. L'HCC ha una forte preponderanza per il sesso maschile con un rapporto maschi/femmine di 2.4 [10].

L'HCC ha una chiara distribuzione geografica con un tasso d'incidenza più alta in Asia orientale Africa subsahariana e Malesia, dove è attorno all' 85% [9]. Nei paesi sviluppati, l'incidenza è bassa con l'eccezione del sud Europa dove l'incidenza è più alta rispetto agli altri paesi sviluppati [12] [fig. 1].

Complessivamente l'incidenza e la mortalità sono di 65.000 e 60.240 nuovi casi in Europa e di 21.000 e 18.400 casi negli Stati Uniti nel 2008, rispettivamente. E' stato stimato che entro il 2020 il numero di casi raggiungerà i 78.000 e 27.000 rispettivamente [9]. L'infezione da HCV in Europa nel lungo periodo (1940–60) e negli Stati uniti d'America (USA) una decade più tardi ha portato all'attuale incremento di incidenza di HCC. In Europa, i tassi d' incidenza e mortalità riportati sono eterogenei. La mortalità per HCC nell'ultima decade è aumentata negli uomini in molti paesi (Austria, Danimarca, Germania, Grecia, Irlanda, Portogallo, Norvegia, Spagna, Svizzera, e Regno Unito), ma diminuita in altri (Finlandia, Francia, Italia, Olanda, e Svezia) (12). Negli Stati Uniti il tasso di morte per HCC sembra avere avuto un incremento attorno al 40% nel periodo 1990–2004, mentre il tasso complessivo di morte per cancro è diminuito attorno al 18% durante lo stesso periodo [13]. Oltre all'emergenza di malattia epatica causata da infezione da HCV questa incidenza può essere anche aumentata per gli HCC-HBV correlati in particolar modo tra gli immigrati da paesi endemici. Al contrario in Giappone dove l'impatto di HCC-HBV correlato è stato notato dopo la II Guerra mondiale c'è stato un apparente declino dell'incidenza di questa neoplasia nei primi anni dal 1990 [11]. Infine l'impatto della vaccinazione infantile contro l'HBV ha fatto decadere il tasso di HCC correlato a tale infezione nei paesi endemici. Finora, questo è stato osservato tra i bambini in Taiwan, ma

tale dato è destinato a diventare più evidente quando questa popolazione diventerà adulta [14]. Approssimativamente, il 90 % degli HCC sono associati a un sottostante fattore di rischio conosciuto. I più frequenti fattori di rischio includono, l'epatite virale cronica (tipo B e C), l'abuso alcolico ed esposizione all'aflatossina. In Africa ed Asia dell'est il fattore di rischio più importante è l'epatite B (60%) mentre nei paesi sviluppati occidentali, soltanto il 20% dei casi può essere attribuito all'infezione da HBV mentre l'epatite cronica da HCV sembra essere il maggior fattore di rischio [15].

In tutto il mondo, approssimativamente il 54% dei casi può essere attribuito all'infezione da HBV (400 milioni di persone) mentre il 31% può essere attribuito all'infezione da HCV (170 milioni di persone), il 15% rimanente è associato ad altre cause. La cirrosi è un importante fattore di rischio per HCC e può essere causata da epatite virale cronica, alcool, malattie metaboliche ereditarie come l'emocromatosi o il deficit di alfa 1 antitripsina e la NALFD (non-alcoholic fatty liver disease). Tutte le forme di cirrosi possono essere complicate dall'insorgenza di neoplasia ma il rischio più alto si verifica nei pazienti con epatite infettiva. Gli studi di controllo a lungo termine hanno dimostrato che circa l'1-8% dei pazienti cirrotici sviluppa l' HCC (ovvero nel 2% dei pazienti HBV infetti e il 3–8% nei pazienti cirrotici HCV infetti) [16,17]. In generale, le caratteristiche di severità di malattia, in particolare bassa conta piastrinica (meno di 100 x 10^3), presenza di varici esofagee, in aggiunta all'età avanzata e al genere maschile si correlano con lo sviluppo di HCC [18]. Studi recenti hanno dimostrato che l'incremento dell'incidenza di HCC è parallelo alla pressione portale [19] oppure in parallelo al grado di stiffness epatica misurata al fibroscan [20,21].

Numerosi studi hanno individuato fattori HBV correlati che fungono da predittori dello sviluppo di HCC nei pazienti con infezione cronica da HBV [22].

La positività per l'HBeAg [23], l'alta carica virale [24], il genotipo C [25] sono predittori indipendenti per lo sviluppo dell'HCC. Inoltre la carica virale nei pazienti con epatite B, correla con il rischio di progressione verso la cirrosi [26]. In modo simile una recente meta-analisi ha dimostrato che il genotipo 1b dell'HCV correla con l'aumentato rischio di sviluppo di HCC [27].

L'esposizione alimentare all'Aflatossina B1, derivata dal fungo Aspergillus flavus e Aspergullus parasiticus, è un importante cofattore per lo sviluppo di HCC in alcune parti dell'Africa e dell' Asia.

Queste muffe sono ubiquitarie in natura e contaminano le derrate alimentari nelle regioni tropicali e subtropicali. Gli studi epidemiologici hanno dimostrato una forte associazione tra l'introito alimentare di aflatossina B1, mutazione di TP53 e incidenza di HCC, in modo particolare negli individui HBV infetti [28].

Rispetto agli altri fattori di rischio, l'emocromatosi porta allo sviluppo dell'HCC in più del 45% dei casi [29], molto spesso con una sottostante cirrosi, ed è ben documentata l'associazione come complicanza alla cirrosi determinata dal deficit di alfa1 antitripsina [30]. L'HCC occasionalmente si sviluppa in pazienti con malattia di Wilson, ma soltanto in presenza di cirrosi [31].

Obesità, diabete e steatosi epatica sono stati riconosciuti come causa di HCC [32, 33], sebbene il meccanismo con cui attraverso la sovrapposizione di queste condizioni possa portare allo sviluppo del cancro rimane ancora non compreso.

La cirrosi dovuta a un steatoepatite non alcolica può dare origine ad HCC ma sembra che questi fattori possano aggiungersi all'epatite virale cronica [34]. Recenti evidenze indicano il fumo di sigaretta come chiaro cofattore per lo sviluppo di HCC [34] infatti i forti fumatori hanno un rischio più alto rispetto ai non fumatori. Nella popolazione generale l'incidenza di HCC è incrementata nei pazienti HIV infetti rispetto ai controlli e l'HIV sembra essere un cofattore che incrementa il rischio di HCC in pazienti con epatite virale cronica [35].

Sta diventando una sfida per i futuro l'identificazione di mutazioni nel DNA nella linea germinale che definiscano: 1) quali sono i pazienti ad alto rischio di sviluppo per l'HCC, 2) i programmi di sorveglianza e 3) le strategie di chemio prevenzione. Come per es. già succede per l'identificazione dei geni BRCA1 e BRCA2 per il cancro della mammella e ovarico [36] o anche i geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA per il cancro colo- rettale ereditario [37].

Fig. 1. Distribuzione geografica del tasso d'incidenza per età del cancro primitive epatico in Europa nel 2008. L'intensità del colore è proporzionale all'importanza dell'incidenza. M, maschi; F, femmine. (Fonte dei dati: Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. Available from: http://globocan.iarc.fr.)

Nation	M	F
Albania	5.8	2.9
Austria	9.3	2.9
Belgium	3.3	1.5
Bosnia-Erzegovina	4.3	1.5
Bulgaria	5.6	2.2
Croatia	7.7	2.4
Czech Republic	5.9	2.4
Denmark	4.0	1.3
Estonia	3.5	1.5
Finland	5.8	2.4
France	10.5	2.2
Germany	6.2	2.2
Great Britain	3.8	1.7
Greece	5.2	2.0
Netherland	2.0	0.8
Hungary	7.5	2.0
Ireland	3.4	1.5
Italy	13.4	4.4

Nation	M	F
Latvia	4.6	1.8
Lithuania	4.1	1.4
Luxembourg	9.8	3.8
Macedonia	5.3	2.3
Moldova	14.2	4.6
Montenegro	5.3	2.5
Norway	2.2	1.0
Poland	3.1	1.5
Portugal	3.5	1.2
Romania	8.1	3.0
Russia	4.4	1.9
Serbia	4.8	2.6
Slovenia	5.4	1.8
Spain	9.6	2.5
Sweden	3.2	1.4
Switzerland	7.8	2.3
Ukraine	3.2	1.6

DIAGNOSI E STADIAZIONE

Attualmente la diagnosi precoce di HCC è possibile nel 30–60% dei casi nei paesi sviluppati e ciò rende possibile l'applicazione di trattamenti curativi. Infatti, mentre tumori con dimensioni inferiori a 2 cm di diametro rappresentavano meno del 5% dei casi nei primi anni novanta in Europa, attualmente rappresentano più del 30% in Giappone. Questa tendenza è in continua crescita parallelamente alla diffusione ed implementazione di politiche di sorveglianza nei paesi sviluppati [38]. La rilevazione di noduli di circa 2 cm di diametro rappresenta comunque una sfida per la difficoltà di caratterizzarli con esame radiologico o anatomopatologico [39-41].

Una corretta definizione di noduli come lesioni preneoplastiche o HCC precoci ha delle implicazioni critiche. Le lesioni displastiche dovrebbero essere controllate con un regolare studio di imaging, poiché almeno 1/3 di esse svilupperà un fenotipo maligno [42,43]. Per converso i tumori precoci sono trattati con procedure potenzialmente curative, sebbene costose (ad es. resezione, trapianto ed ablazione percutanea). Quindi c'è la necessità di individuare i migliori strumenti per caratterizzare queste lesioni.

Una diagnosi accurata di piccoli noduli epatici è di primaria importanza. Fino al 2000 la diagnosi era basata sulla biopsia. Questo approccio ha subito delle limitazioni soprattutto per la fattibilità di poter campionare il nodulo, dovuta alla posizione dello stesso e al rischio di complicazioni, quali sanguinamenti o il seeding [44]. Inoltre raggiungere l'accuratezza nella diagnosi differenziale tra nodulo displastico di alto grado ed HCC non è semplice in quanto, l'invasione stromale che è il criterio diagnostico più rilevante è difficile da riconoscere anche

per un patologo esperto [41]. Nel 2001, un gruppo di esperti sull'HCC radunati a Barcellona (EASL) riportano per la prima volta criteri diagnostici non invasivi per l' HCC basati sulla combinazione di dati radiologici e di laboratorio [45]. In linea di principio l'unico comportamento dinamico del contrasto con metodiche radiologiche (presa di contrasto in fase arteriosa alla TC, RM, CEUS e wash out in fase portale) rappresenta il cardine nella diagnostica degli HCC precoci. Nei pazienti cirrotici con noduli > 2 cm, anche se una sola tecnica radiologica è indicativa di HCC, tale criterio è considerato decisivo per la diagnosi. In tutte le altre circostanze la biopsia diventa comunque mandatoria.

Nel 2005 sia le linee guida EASL (European Association for the Study of the Liver) che AASDL (American Association for the Study of the Liver) adottano un nuovo marker radiologico, ovvero, lo studio della dimamica del contrasto nella lesione. Questo marker prevede che ci sia una prima fase di presa del contrasto (enhancement arterioso) in fase arteriosa o fase precoce e la perdita di contrasto successiva (wash out) in fase venosa o tardiva [46]. La diagnosi non invasiva è quindi stabilita con una tecnica radiologica contrastrografica per noduli di dimensioni superiori ai 2 cm, mentre per i noduli di dimensioni tra 1 e 2 cm di diametro è necessaria la condordanza dei risultati di 2 tecniche radiologiche contrastografiche (TC, RM) [Fig. 2]. Il livello di AFP decade come criterio diagnostico [46].

Successivamente nel 2010 le linee guida americane (AASLD) semplificano tale algoritmo diagnostico indicando come diagnosi certa per HCC il risultato positivo di una sola tecnica radiologica contrastrografica (TC o RM) per i noduli di diametro compresi tra 1-2 cm [Fig. 3]. Questa differenza tra linee guida europee e

americane si deve, come le stesse linee guida AASLD spiegano, alla diversa esperienza degli operatori e dei centri di diagnosi.

La diagnosi anatomopatologica si basa sulla definizione della consensus internazionale per la neoplasia epatocellulare [47] ed è raccomandata per tutti i noduli che compaiono nei fegati non cirrotici, e in quei casi che includino aspetti di immagini atipiche nel contesto di fegati cirrotici.

La sensibilità della biopsia epatica dipende dalla localizzazione, grandezza ed esperienza dell'operatore e può andare dal 70% al 90% per tumori di qualsiasi dimensione. La diagnosi anatomopatologica è particolarmente complessa per noduli di dimensioni comprese tra 1 e 2 cm [41]. I soli criteri morfologici pongono problemi di diagnosi differenziale tra noduli displastici di alto grado e noduli di HCC precoce, soprattutto perché il reperto anatomopatologico tipico che è l'invasione stromale, può essere assente o difficoltoso da identificare sui campioni bioptici [41].

In uno studio prospettico la positività per HCC alla prima biopsia era di circa il 60% dei casi per tumori al di sotto dei 2 cm di diametro [40]. Quindi una biopsia positiva ha un ruolo clinicamente utile per la diagnosi di HCC, mentre una biopsia negativa non esclude tale diagnosi. Il rischio di seeding dopo la biopsia è del 2.7% con un intervallo di tempo medio tra biopsia e crescita del cluster neoplastico di 17 mesi [48].

Marker tissutali possono fornire uno strumento diagnostico utile. Alcuni marker promettenti sono il GPC3 (sensibilità del 68-72% e specificità superiore al 92% (49,50). In modo simile in altri studi la combinazione di varie proteine marker come HSP70, GPC3 e GS sono state validate come strumenti diagnostici [51,52].

La consensus internazionale per la neoplasia epatica raccomanda, per definire la diagnosi anatomopatologica di HCC, la positività di almeno due di questi marcatori [47]. Inoltre l'immunoistochimica può identificare molecole di neovascolarizzazione (CD34) e progenitori di origine cellulare come cheratina 19 (K19) ed EpCAM, in particolare K19 è un marker di progenitori cellulari biliari e se superano il cut off del 5% delle cellule si correla con una prognosi scarsa [41,53,54]. Sempre il K19 è anche riconosciuto come una caratteristica biliare nelle forme miste HCC/colangiocarcinoma che non sempre sono rilevate con la colorazione classica ematossilina-eosina.

Nella diagnostica dell'HCC è critico il ruolo della valutazione della estensione della malattia per definire lo staging e quindi le strategie terapeutiche da mettere in atto.

Numerosi studi hanno dimostrato che, sia la RM che la TC sono le tecniche diagnostiche più efficaci per la diagnosi anche di tumori più piccoli di 2 cm di diametro anche se è attesa una sottostima del 25-30 % [55,56].

I protocolli dovrebbero definire la dose del contrasto dato, il tempo di acquisizione delle immagini e di ricostruzione delle immagini con lo spessore minimo delle scanzioni. Il Lipiodol non dovrebbe essere utilizzato. Il mezzo di contrasto all'ETG non è pari al contrasto usato nella TC e nella RM in termini di accuratezza per la rilevazione delle lesioni. La scintigrafia può essere usata per le eventuali metastasi ossee. La PET non è accurata nello stadiare tumori precoci. La stadiazione pretrapianto epatico dovrebbe includere una RM o TC dell'addome e del torace e una scintigrafia ossea.

Nei pazienti con HCC la valutazione della prognosi è più complicata rispetto a quella dei pazienti con altri tipi di tumore per la coesistenza in genere di una cirrosi di base [57].

Infatti i fattori clinici prognostici di pazienti con HCC sono correlati allo status tumorale (definito da numero e dimensioni dei noduli, presenza di invasione vascolare, diffusione extraepatica), dalla funzionalità epatica (definita dalle classe di Child-Pugh, bilirubina, albumina, ipertensione portale, ascite) e dallo stato generale di salute del paziente definito dalla classificazione ECOG (Eastern Coperative Oncology Group) [Tabella 1] e presenza dei sintomi [58-62]. L'eziologia non è stata dimostrata come fattore prognostico indipendente.

Uno dei primi sistemi di stadiazione è il sistema Okuda (1985) che associa la misura peraltro grossolana del tumore con i paramentri di funzionalità epatica [Tabella 2], ed ha il limite di essere stato disegnato con un approccio retrospettivo, su pazienti con malattia avanzata al momento della diagnosi. In questo sistema, importanti parametri prognostici come uni- o multifocalità, invasione vascolare e presenza di localizzazioni extraepatiche non sono inclusi.

Attualmente i sistemi di stadiazione ampiamente testati sono cinque di cui tre europei (The French classification [66], The Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) classification [Tabella 3] [59], e il Barcellona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system [67,68] [Fig.4]) e due Asiatici (The Chinese University Prognostic Index (CUPI score) [69] e il The Japan Integrated Staging (JIS)che recentemente integra anche biomarkers (AFP ed altri) (bm-JIS) [70]). Il classico sistema TNM si è rivelato inadeguato nel predire il comportamento dell'HCC per cui è stato modificato dall'ALTSG (American Liver Tumor Study Group)[71] [Tabella 4].

Ma il più usato sistema di classificazione è sicuramente il BCLC che permette una suddivisione in gruppi prognostici e di associare ad ognuno il tipo di intervento terapeutico da mettere in atto. Tale sistema è raccomandato dalla EASL (European Association for the Study of the Liver) e dall'EORTC (European Organizaton for Research and Treatment of Cancer) in quanto include variabili prognostiche correlate allo status del tumore, alla funzionalità epatica, e alla performance status del paziente e considera le variabili dipendenti dal trattamento, ottenute da studi di coorte randomizzati. Il BCLC è stato largamente validato [72-74]. Il sistema di classificazione BCLC distingue 5 stadi di malattia (0, A, B, C e D) in accordo con variabili prognostiche stabilite e alla strategia terapeutica correlata allo status di malattia. In questo modo viene fornito sia la prognosi che il trattamento associato. La prognosi è definita in base a variabili correlate al tumore (dimensioni, numero di noduli, invasione vascolare, N1, M1), alla funzionalità epatica (Child Pugh) e allo stato di salute generale (ECOG). L'assegnazione del trattamento comprende variabili di trattamento dipendenti che si sono dimostrate influenzare l'outcome terapeutico dei pazienti e tra questi ritroviamo la bilirubina, l'ipertensione portale, o la presenza di sintomi secondo l'ECOG (Tabella 1).

Stadio molto precoce o Very early stage (BCLC stage 0) è definito come la presenza di un singolo nodulo tumorale < 2 cm di diametro senza invasione vascolare in pazienti con un buon stato di salute generale (ECOG-0) e con una buona funzione epatica residua (Child Pugh A). Attualmente nei paesi occidentali circa il 15% dei pazienti sono diagnosticati a questo stadio mentre in Giappone si raggiunge il 30% e ciò si deve ai programmi di sorveglianza implementati sul territorio [72].

Dagli studi anatomopatologici, però , sono state definite due sottoclassi di tumori: tipo vagamente nodulare di dimensioni di circa 12 mm, senza invasività locale e il tipo distintamente nodulare di circa 16 mm di diametro, che potrebbe mostrare invasività locale. Il tipo vagamente nodulare è un HCC molto ben differenziato, che presenta dotti biliari e vene portali, ha un aspetto nodulare mal definito e, per definizione, non invade le strutture vicine.

Il tipo distintamente nodulare presenta metastasi che circondano il nodulo nel 10% dei casi, e la microinvasione portale è superiore al 25% [41]. Pertanto, alcuni tumori più piccoli di 2 cm sono inclini a diffondere a livello locale, ma altri si comportano come il carcinoma in situ e sono definiti come stadio 0. Dati recenti hanno dimostrato una sopravvivenza a 5 anni nel 80-90 % dei pazienti che fanno la resezione epatica e/o trapianto e nel 70 % dei pazienti che fanno terapie ablative locali [73-76].

Stadio precoce o Early stage (BCLC stage A) è definito in pazienti che presentano un singolo nodulo tumorale di dimensioni > 2 cm o 3 noduli < 3 cm di diametro, ECOG-0 e classe di Child Pugh A o B. La mediana della sopravvivenza dei pazienti raggiunge il 50-70% a 5 anni dopo la resezione, trapianto epatico o ablazione locale in casi selezionati [38,77]. Il naturale outcome di questi casi è mal definito e ciò è dovuto alla scarsità dei dati riportati, ma è stimata una mediana di sopravvivenza attorno ai 36 mesi.

Lo stadio del tumore è definito dalla grandezza del nodulo principale e dalla multicentricità (singolo 2-5 cm, 3 noduli ≤ 3 cm) e ognuna di queste categorie mostra un out come significativamente diverso.

I tumori singoli di dimensioni oltre i 5 cm sono ancora considerati per la resezione chirurgica se si diagnosticano con la moderna RM ed il fatto che rimangono noduli singoli e senza segni di infiltrazione macrovascolare e che sono magari in un contesto di cirrosi HBV correlata può riflettere un comportamento biologico più benigno.

Le variabili correlate alla funzionalità epatica sono rilevanti per i candidati alla resezione. L'assenza di ipertensione portale clinicamente rilevante e bilirubina normale sono i predittori principali della sopravvivenza nei pazienti con singoli noduli sottoposti a resezione [78]. Allo stesso modo, la classe A di Child Pugh è la più forte variabile prognostica in pazienti sottoposti ad ablazione locale assieme alle dimensioni del tumore e alla risposta al trattamento [79].

Poiché il trapianto epatico può potenzialmente curare sia il tumore che la sottostante cirrosi epatica, variabili per lo più correlate all'HCC sono state chiaramente stabilite come fattori prognostici (noduli singoli ≤ 5 cm o 3 noduli ≤ 3 cm), nei criteri di Milano.

Stadio intermedio (BCLC stage B): pazienti non trattati con HCC multi nodulare asintomatici senza un pattern invasivo presentano una mediana di sopravvivenza a 16 mesi [80, 81], o del 49% a 2 anni [62].

La chemioembolizzazione aumenta la sopravvivenza di quei pazienti con una mediana superiore ai 19-20 mesi in accordo con i dati di trial randomizzati controllati e metanalisi [80].

Stadio avanzato (BCLC stage C): sono pazienti con sintomi correlati al tumore (ECOG 1-2), con invasione vascolare (invasione portale o segmentale) o invasione extraepatica (linfonodi coinvolti e metastasi) e con prognosi infausta, con una aspettativa di vita mediana di 6 mesi [60,81], o del 25% a un anno [62].

E' ovvio che l'outcome di questi pazienti sarà anche correlato allo stato della funzionalità epatica, pertanto i pazienti in classe A di Child-Pugh avranno una mediana di sopravvivenza a 7 mesi [82] mentre per quelli in classe B sarà di 5 mesi. Per tale stadio di malattia non era previsto alcun trattamento di prima linea. Tale scenario è cambiato quando si sono avuti i risultati che hanno mostrato un beneficio sulla sopravvivenza dei pazienti in trattamento con Sorafenib (inibitore delle tirosinchinasi) [82]. La mediana di sopravvivenza andava da 10.7 mesi per i pazienti in stadio BCLC B a 9.5 mesi per quelli allo stadio BCLC C.

Stadio terminale o End Stage: Pazienti con una scarsa performance status (ECOG 3-4), che riflette una severa disabilità correlata al tumore. La sopravvivenza mediana è a 3-4 mesi [64] o 11% a 1 anno [62].

Fig. 2. Algoritmo diagnostico. * Unica tecnica di imaging raccomandata solo nei centri d'eccellenza e con apparecchiature di alto livello. ** Marker radiologico per HCC: ipervascolarizzazione arteriosa e fase di wash out o fase venosa/tardiva.

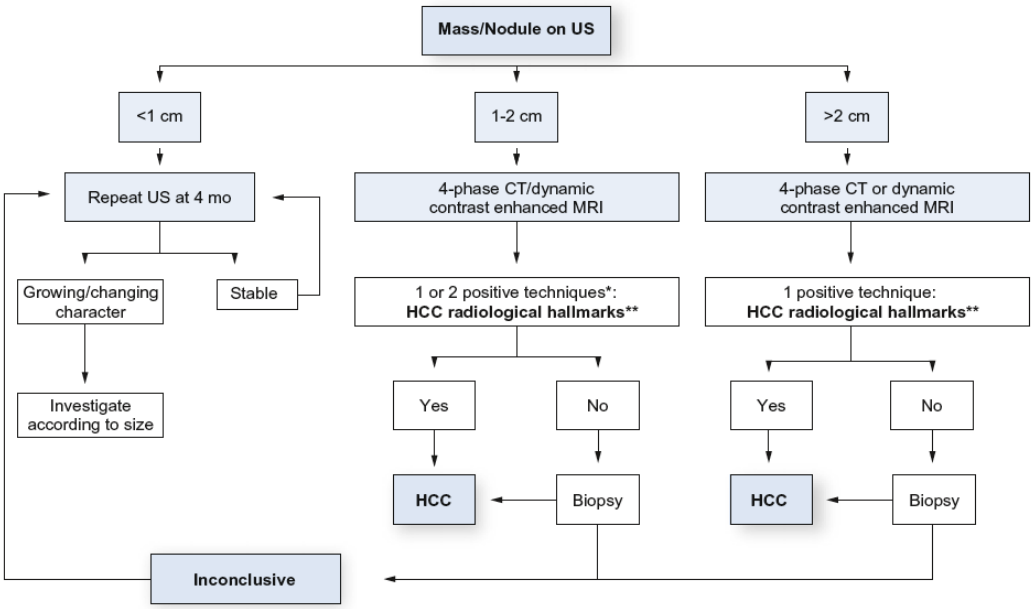


Fig. 3 Algoritmo diagnostico per HCC secondo le linee guida AASLD

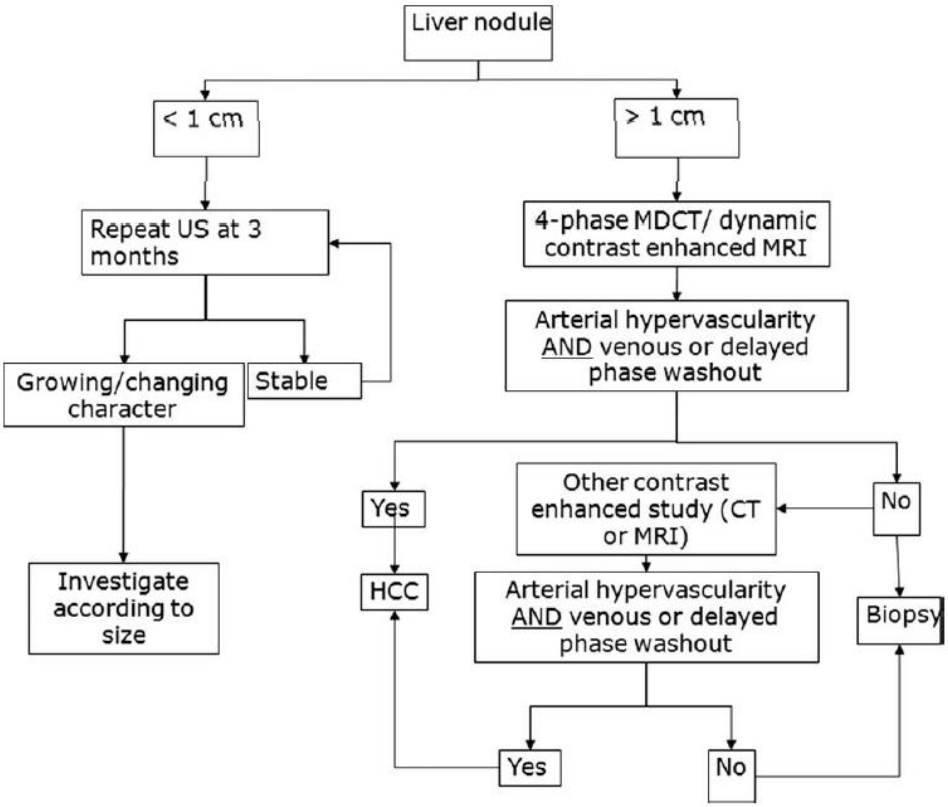


Fig 4. Sistema di stadiazione BCLC e strategie di trattamento.

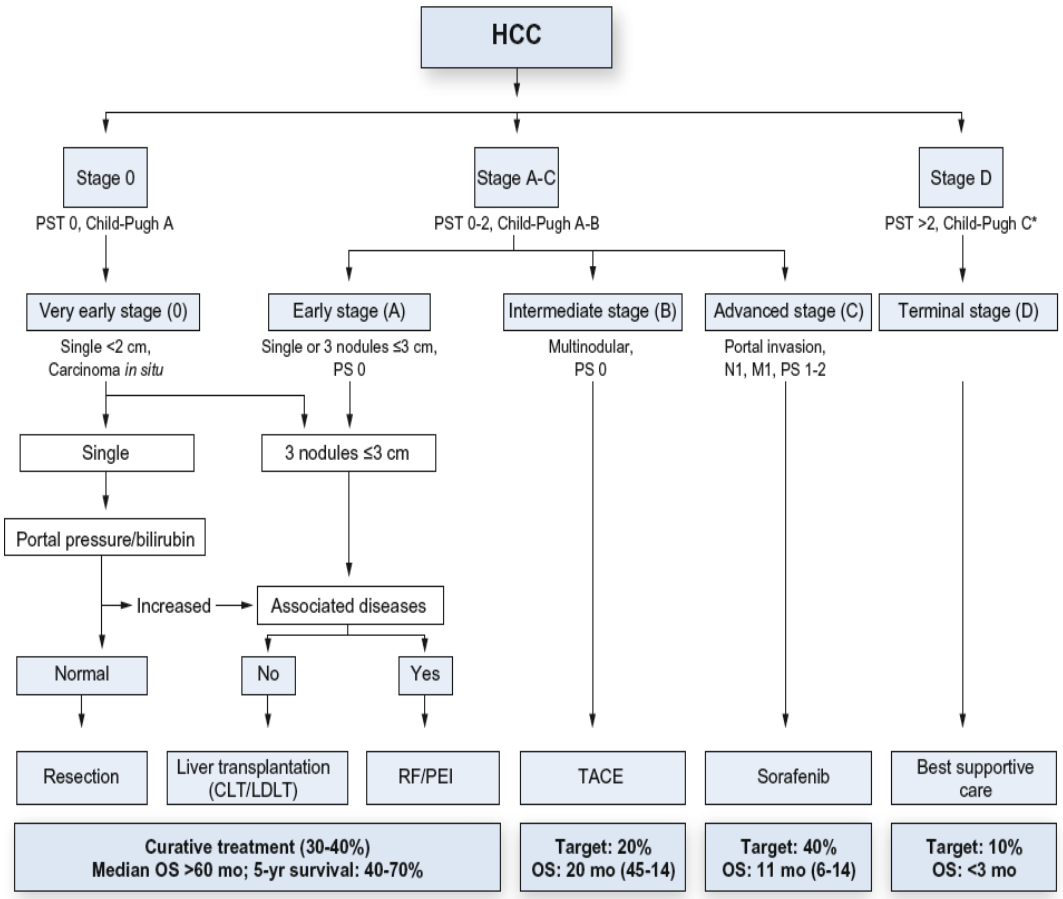


Tabella 1. ECOG performance status: utilizzato per la valutazione della progressione di malattia del paziente, il grado di invalidità del paziente.

Grado	ECOG
0	Piena attività, capacità di fare tutto senza restrizioni
1	Restrizione delle attività faticose, deambula ed è capace di eseguire lavori leggeri o di natura sedentaria (lavori domestici leggeri e lavoro d'ufficio)
2	Deambula ed è capace di provvedere alla cura di se stesso ma non è capace di eseguire l'attività lavorativa. Ha circa il 50% delle ore di veglia.
3	Capacità limitata al provvedere a se stesso. Confinato a letto per più del 50% delle ore di veglia.
4	Completamente disabile. Non può provvedere a se stesso. Completamente confinato a letto
5	Morte

Tab. 2 Sistema di stadiazione di Okuda. Stadio I: 0 punti. Stadio II: 1-2 punti. Stadio III: 3-4 punti.

Punteggio	**0**	**1**
Dimensione del tumore	< 50% del fegato	> 50% del fegato
Ascite	no	si
Albumina (g/dl)	≥ 3	≤ 3
Bilirubina (mg/dl)	< 3	> 3

Tab. 3 La stadiazione CLIP (*Cancer of the Liver Italian Program*) è stata disegnata da un gruppo italiano, , ed 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.

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 ≤ 50%	multinodulare ed estensione ≤ 50%	massiva o estensione >50%
Alfa-fetoproteina (ng/dl)	< 400	≥ 400	
Trombosi della vena porta	no	si	

Tab. 4 Sistema di stadiazione dell'ALTSG (American Liver Tumor Study Group). Stadio I: T1- Stadio II: T2 - Stadio III: T3 - Stadio IV a1: T4a - Stadio IV a2: T4b - Stadio IV b: ogni N1, ogni M1.

pT0	Tumore non trovato
pT1	1 nodulo ≤ 1.9 cm
pT2	1 nodulo di 2-5 cm, 2 o 3 noduli, tutti ≤ 3 cm
pT3	1 nodulo > 5 cm, 2 o 3 noduli, almeno 1 > 3 cm
pT4a	4 o più noduli, ogni dimensione
pT4b	pT2, pT3 o pT4 con coinvolgimento di una ramo portale e di una vena sovra epatica alla TC o RM
N1	Linfonodi regionali coinvolti
M1	Malattia metastatica o coinvolgimento della vena porta extraepatica o delle vene sovraepatiche

TERAPIE ABLATIVE LOCOREGIONALI

Le terapie ablative percutanee loco regionali sono considerate come opzione di prima linea nel trattamento di pazienti allo stadio BCLC A (early stage) e quindi, pazienti con noduli fino a 3 cm di diametro che per comorbidità, localizzazione, dimensioni, scarsa funzionalità epatica residua non trovano indicazione alla terapia chirurgica (resezione e trapianto epatico) che per anni si è ritenuta essere l'unica terapia curativa. Oggi sappiamo che soltanto il 10-20% degli HCC risulta resecabile [83-88]. Inoltre l'HCC è adatto ad essere trattato con terapie ablative loco regionali in quanto ha una tendenza a rimanere nel fegato dando solo molto tardivamente metastasi a distanza.

Sono state sviluppate, diverse metodiche, che sfruttano principi sia fisici che chimici [89].

La tecnica maggiormente riprodotta nel tempo è l'alcolizzazione (Percutaneous Ethanol Injection, **PEI)** che prevede l'introduzione di alcool al 95% attraverso un ago direttamente nel nodulo di HCC inducendo una necrosi della lesione che risulta a sua volta dalla disidratazione cellulare, denaturazione delle proteine e occlusione chimica dei piccoli vasi.

La PEI è ormai una tecnica ben consolidata per il trattamento delle lesioni nodulari di HCC e permette di raggiungere la necrosi completa nel 90% dei tumori inferiori ai 2 cm , nel 70% per quelli di 2-3 cm e il 50% di quelli tra i 3 e i 5 cm di diametro [79,90,91].

E' stato ipotizzato che la diffusione dell'alcool possa essere bloccata della presenza di setti fibrotici all'interno del tumore o per mezzo della capsula del tumore stesso e quindi che si possa ridurre la capacità curativa di questa tecnica particolarmente per i tumori più grandi di 2 cm di diametro. Questo problema è stato superato con l'utilizzo di nuovi strumenti in particolar modo di aghi con tre punte retraibili che raggiungono zone più vaste del tumore permettendo quindi una risposta completa nell'80-90% dei noduli più piccoli di 4 cm di diametro [92].

Nei pazienti cirrotici con Child-Pugh A ed HCC allo stadio BCLC A , la PEI ha mostrato risultati di sopravvivenza a 5 anni del 47-53% [93,94]. Il maggior limite della PEI è l'alto tasso di recidive locali che possono raggiungere il 43% per lesioni che superano i 3 cm [95].

Successivamente sono emerse sempre più le terapie ablative con mezzi fisici e sono indicate come trattamenti da ipertermia (temperatura del tessuto raggiunta a 60-100 ^{o}C) che includono la radiofrequenza (RFA), le microonde MCT (Microwave Coagulation Therapy) e il laser. Viceversa sempre con l'utilizzo di mezzi fisici che intervengono sulla temperatura c'è anche la crioablazione che provoca congelamento del tessuto portandolo alla temperatura di -20 o -60 ^{o}C. Tutti questi metodi appena menzionati tranne la RFA sono ancora oggetto di studio.

La **RFA** è stata l'altra tecnica ablativa loco regionale più praticata per il trattamento dell'HCC.

Viene utilizzata corrente alternata ad alta frequenza, che per mezzo di un elettrodo posizionato per via percutanea nella lesione epatica induce un incremento della

temperatura e quindi una necrosi coagulativa del tumore. Con la RFA la temperatura elevata raggiunge anche le zone esterne al nodulo producendo anche un "anello di sicurezza" che consente di eliminare eventuali lesioni microsatelliti.

Ci sono dati ormai consolidati sulla sicurezza ed efficacia della RFA che è risultata tollerabile e con un tasso di mortalità che va dallo 0 all' 1.2% e un tasso di complicanze che va dal 3 al 7% (versamento pleurico, emoperitoneo, seeding) [96,97,98].

La RFA può essere eseguita oltre che per via percutanea anche per via laparoscopica, quest'ultima ha il vantaggio di rilevare anche tumori extraepatici misconosciuti e permette il raggiungimento di noduli non aggredibili per via percutanea.

La RFA ha completamente soppiantato la PEI in molti centri [99].

C'è sempre maggiore evidenza clinica che la RFA ottiene un più efficace controllo locale della malattia con un minor numero di sedute di trattamento ed è superiore alla PEI (Tabella 5) . Inoltre la necrosi indotta da RFA era maggiormente prevedibile.

La superiorità della RFA sulla MCT è stata sostenuta dal trial clinico randomizzato (RCT) di Shibata et al. In questo studio, 72 pazienti con 94 noduli di HCC sono stati trattati in modo casuale con RFA o MCT [100]. Entrambi i gruppi hanno avuto simili effetti terapeutici e complicanze, e simile tasso di malattia residua. Tuttavia, il numero di sessioni di trattamento per nodulo era significativamente inferiore nel gruppo RFA rispetto al gruppo MCT (1.1 vs 2.4). L'effetto terapeutico completo è stato raggiunto in 46 (96 %) di 48 noduli trattati

con RFA e in 41 (89 %) di 46 noduli trattati con MCT . In uno studio comparativo retrospettivo non randomizzato di Lu et al, sia la RFA che MCT hanno avuto efficacia di trattamento, tassi di complicanze correlati alla procedura, tassi di controllo locale del tumore e sopravvivenza sovrapponibili [101]. In un altro studio comparativo retrospettivo non randomizzato di Ohmoto et al., la RFA ha raggiunto un tasso significativamente più basso di ricorrenza locale di malattia, e un tasso di sopravvivenza superiore della MCT [102].

Studi clinici di confronto della RFA con PEI hanno dimostrato la netta superiorità della RFA su PEI. Livraghi et al ha condotto il primo studio comparativo prospettico non randomizzato su queste due tecniche, nel 1999 [103]. Ottantasei pazienti con 112 piccoli HCC (<3 cm) sottoposti a RFA (42 pazienti con 52 tumori) o a PEI (44 pazienti con 60 tumori). L'efficacia terapeutica è stata valutata con tomografia computerizzata spirale con doppia fase eseguita almeno 4 mesi dopo il trattamento. RFA ha determinato un più alto tasso di necrosi completa (90% vs 80% dei tumori) e ha richiesto un minor numero di sedute di trattamento (in media, 1.2 vs 4.8 sessioni) rispetto alla PEI. Tuttavia, il tasso di complicanze è stato maggiore con RFA che con la PEI . Una complicazione maggiore (emotorace che ha richiesto drenaggio chirurgico) e 4 complicanze minori (sanguinamento intraperitoneale, emobilia, versamento pleurico, colecistite) si sono verificati in pazienti trattati con RFA mentre nessuna complicazione si è verificata in pazienti trattati con PEI. Da allora, queste due tecniche sono state ulteriormente valutate nell'ambito di studi randomizzati.

Nel RCT di Lencioni et al. la RFA era superiore al PEI in termini di sopravvivenza libera da recidiva locale [104]. I tassi di sopravvivenza libera da recidive locali a due anni erano del 98% e 96 % nel gruppo di RFA e l'83 % e 62

% nel gruppo PEI, rispettivamente . Lin et al. hanno eseguito un RCT di confronto RFA con PEI e iniezione percutanea di acido acetico (PAI) in pazienti con HCC di grandezza inferiore ai 3 cm [105]. La RFA era superiore alla PEI e alla PAI in termini di recidiva locale, di sopravvivenza globale e tassi di sopravvivenza libera da malattia. Tuttavia, la RFA ha comportato complicanze significativamente maggiori rispetto alla PEI e PAI . Le complicanze maggiori si sono verificate nel 4.8 % dei pazienti (2 con emotorace, 1 con perforazione gastrica) nel gruppo RFA e in nessuno degli altri 2 gruppi. In un altro RCT, Lin et al. hanno comparato la RFA rispetto ai tradizionali regimi di PEI e con PEI ad alte dosi di alcool, e ha dimostrato che la RFA richiede un minor numero di sedute di trattamento per l'ablazione completa dei tumori [106]. La RFA è stata anche associata ad un tasso significativamente più basso di progressione locale del tumore, e a più elevata sopravvivenza complessiva e libera da malattia. Nel RCT di Shiina et al, la RFA ha comportato una diminuzione del rischio di morte del 46%, e un 43% di riduzione del rischio complessivo di recidiva, e di un 88 % la diminuzione del rischio di progressione locale del tumore rispetto al PEI [107]. Non è stata significativa la differenza nei tassi di complicanze tra i 2 gruppi di pazienti.

Nei primi studi clinici sulla RFA, i pazienti sono stati trattati nel contesto di studi che miravano ad analizzare la sicurezza, la tollerabilità e l'effetto terapeutico locale del trattamento. Recentemente si sono resi disponibili i dati di sopravvivenza a lungo termine in pazienti con carcinoma epatocellulare trattati con RFA. Tuttavia, l'eterogeneità dei dati che riguardavano le diverse misurazioni dei risultati, delle tecniche, approcci e modelli di elettrodi per RFA utilizzati in questi studi aggiungono complessità alla interpretazione dei dati. In una recente

revisione sistematica sono stati inclusi solo gli studi che contenevano dati di sopravvivenza a 5 anni e un numero di pazienti superiore a 50.

Questi studi di coorte hanno dimostrato tassi di sopravvivenza globale post-RFA a 5 anni che andavano dal 33% al 58% [108-114] [Tabella 6]. La RFA è generalmente accettata come uno dei trattamenti per pazienti con piccoli HCC che non hanno indicazioni alla chirurgia (epatectomia parziale o trapianto di fegato) [99].

Anche la chemioembolizzazione arteriosa transcatetere (TACE) è comunemente usata per il trattamento dell' HCC non resecabile. Due RCT, 1 meta-analisi, e 1 revisione sistematica ha dimostrato che la TACE migliora la sopravvivenza dei pazienti con carcinoma epatocellulare non resecabile [115-117]. Non è ancora noto se la RFA e TACE sono ugualmente efficaci nel migliorare la sopravvivenza dei pazienti con HCC non resecabile. Non c'è stato alcun RCT di confronto questi tra questi 2 trattamenti. Tuttavia uno studio retrospettivo mostra che sia la RFA che la TACE hanno efficacia sovrapponibile [118].

Una limitazione importante della RFA è il piccolo volume di tumore che può trattare. Il tasso di necrosi completa diminuisce con la dimensione del tumore, in particolare per quelli più grandi di 3 cm. Vi è consenso generale che la risposta completa alla RFA nei pazienti è stata associata a un miglior outcome. [119-121] Sala et al. sono stati i primi a dimostrare che la risposta completa iniziale alla ablazione percutanea è associata ad un miglioramento della sopravvivenza sia per pazienti in classe A che B di Child-Pugh con HCC non chirurgici [119].

Pertanto, la necrosi completa iniziale del tumore dovrebbe essere considerata un obiettivo terapeutico rilevante indipendentemente dalle dimensioni del tumore e lo

stato funzionale del fegato. È stato proposto che una più ampia area di necrosi coagulativa potrebbe essere prodotta se la RFA viene eseguita in HCC dopo l'occlusione del loro rifornimento arterioso o in combinazione con un'altra terapia ablativa . Nello studio di Zhang et al, 133 pazienti sono stati assegnati in modo casuale a ricevere il trattamento combinato, RFA+PEI (n = 66) o RFA da sola (n = 67) [122]. I tassi di sopravvivenza globale a cinque anni per il gruppo RFA- PEI e il gruppo RFA erano del 49.3 % e 35.9 %, rispettivamente. Il trattamento combinato RFA - PEI ha apportato un significativo vantaggio di sopravvivenza rispetto alla sola RFA per i pazienti con tumore tra 3.1-5 cm di diametro, ma non per quelli con tumore uguale o inferiore a 3 centimetri, e quelli con tumori tra i 5,1-7 cm. Quindi nessuna delle due tecniche ha dimostrato di essere efficace per tumori di grandi dimensioni. I ricercatori ipotizzano che l'interruzione del flusso sanguigno nel tumore possa diminuire la dispersione di calore provocata dal flusso sanguigno e aumentare la dimensione della zona necrotica indotta da RFA .

Invece nel RCT di Cheng et al. condotto su HCC > 3 centimetri, i pazienti sono stati assegnati in modo casuale al trattamento di combinazione di TACE - RFA (n = 96), TACE da sola (n = 95), o RFA da sola (n = 100) [123].

Nel corso di un follow-up mediano di 28.5 mesi, le sopravvivenze mediane sono state di 24 mesi nel gruppo TACE, 22 mesi nel gruppo RFA e 37 mesi nel gruppo TACE – RFA. Il tasso di risposta obiettiva sostenuta per almeno 6 mesi è stato maggiore nel gruppo TACE - RFA (54%) rispetto ai gruppi trattati con la sola TACE (35 %) o la sola RFA (36 %). Gli autori hanno concluso che il trattamento combinato TACE-RFA era superiore a TACE o RFA singolarmente nel migliorare la sopravvivenza dei pazienti con HCC di dimensioni superiori a 3 cm.

Comunque sono necessari ulteriori RCT con dati di sopravvivenza per convalidare queste tecniche.

La RFA è ritenuta anche una tecnica utile per ridurre i tempo di progressione della malattia in pazienti in lista d'attesa per trapianto e ridurre così il tasso di drop out ovvero il numero di pazienti che esce fuori dalla lista perché la malattia è troppo progredita. A tal proposito solo due studi hanno segnalato come il tasso di drop out è del 5.8% dopo una media di 12.7 mesi e il 14% dopo una media di 11.9 mesi [124,125]. Quando confrontati con i controlli storici, la bridging therapy con RFA diminuisce il tasso di drop out di lista d'attesa.

C'è da aggiungere però che senza studi comparativi randomizzati o non randomizzati ben progettati basandosi su analisi intention-to-treat, l'efficacia della bridging therapy con RFA è ancora incerta.

Attualmente, anche se molti concordano sull'utilità della bridging therapy, non esiste un livello di evidenza clinica sufficiente per dimostrare che la RFA diminuisca il tasso di drop out dalle liste trapianto, ma è efficace nel prolungare la sopravvivenza del paziente e diminuisce il tasso di recidiva dopo trapianto di fegato.

Con il crescente uso della RFA percutanea, Il rischio di disseminazione tumorale (tumoral seeding) diventa una delle principali preoccupazioni, in particolare nei pazienti che hanno una possibilità di guarigione. Llovet et al. ha riportato un alto tasso (12.5 %) di seeding in 32 pazienti con HCC trattati con RFA, preceduta da una biopsia. Il rischio di seeding è stato associato alla posizione sottocapsulare degli HCC, ai tumori scarsamente differenziati , e agli alti livelli di α-fetoproteina [126]. Livraghi et al ha riportato un basso tasso di seeding (0,9%) in 1314 pazienti

con un tempo mediano di follow-up di 37 mesi, utilizzando la stessa tecnologia (RFA) infatti Llovet et al e ha dimostrato che solo la biopsia che precede la RFA era significativamente associata con il rischio di seeding [127]. Probabilmente l'alto tasso di seeding notato da Llovet et al è probabilmente l'effetto dell' uso routinario della biopsia prima RFA. Il basso rischio di seeding dopo RFA (0 % - 1.4%) è stato confermato in altri studi recenti [128-130]. Si può quindi concludere che la RFA è una buona terapia per i pazienti con tempi che dovrebbero superare i 6 mesi di attesa in lista di trapianto, e che l'ago-biopsia dovrebbe essere evitata.

Altre possibilità terapeutiche, che abbiamo citato precedentemente negli studi di confronto (RFA versus altre terapie loco regionali) e che non sono oggetto dello studio della tesi ma che possono essere praticate nei pazienti con HCC non suscettibili di chirurgia allo stadio BCLC B (stadio intermedio) sono la TACE (transcatheter arterial chemoemolization) [131] e la Radioembolizzazione [132].

Il razionale della TACE è quello della infusione per via intra-arteriosa di sostanze citotossiche seguito dalla embolizzazione dei vasi che nutrono il tumore e quindi di indurre un doppio effetto, sia citotossico che ischemico. La mediana di sopravvivenza complessiva è di circa 16 mesi per HCC BCLC B, mentre arriva a 20 mesi dopo TACE. Inoltre se la selezione dei candidati a questo tipo di trattamento è stata fatta bene l'evento morte aspettato correlato al trattamento è del 2% dei casi. I farmaci più usati sono doxorubicina e cisplatino e in genere vengono eseguiti 3 -4 sedute per anno. Regimi più intensi di TACE sono possono indurre insufficienza epatica grave [83].

La radioembolizzazione sfrutta lo stesso principio della chemioembolizzazione con la differenza che per mezzo all'arteria che nutre il tumore non viene introdotto

un chemiofarmaco ma una sostanza radioattiva veicolata da microsfere. In genere si usa l'Ittrio 90 (Y^{90}) o sostanza simili che sono isotopi β emittenti [132].

Un limite della TACE e della radioembolizzazione è l'incapacità di poter trattare tumori che non sono vascolarizzati.

Dopo aver descritto le varie terapie loco regionali e in particolare la RFA vediamo quali sono i criteri di valutazione della risposta al trattamento.

La risposta dei tumori in generale ai trattamenti era inizialmente stabilita sulla base dei criteri WHO (World Health Organization) [133] e successivamente in accordo con i criteri RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) [134]. Entrambi offrono una misura standard in termini quantitativi delle immagini radiologiche del tumore dopo il trattamento. Mentre i criteri WHO considerano l'approccio bidimensionale (doppio diametro) i criteri RECIST usano la misura di un unico diametro (maggiore) del tumore.

Tali criteri, basati unicamente sulle dimensioni del tumore, furono introdotti per la valutazione di efficacia dei farmaci citotossici, poi in realtà si sono rivelati ingannevoli in altri tipi di tumori e per altre terapie che utilizzano precisi target molecolari o altri tipi di interventi [134].

Recentemente si è dimostrata la scarsa correlazione che esiste tra trattamenti per HCC (nuovi agenti come il Sorafenib, terapie loco regionali) e questi sistemi di valutazione della risposta [135, 136].

Quindi nascono nel 2000 i criteri di risposta della EASL che considerano a differenza dei precedenti la riduzione del tessuto tumorale vitale residuo inteso come tessuto che prende contrasto alla TC o alla RM [137].

In seguito la AASLD introduce i criteri RECIST modificati (mRECIST) per HCC che come i criteri EASL considerano il tessuto tumorale residuo vitale [Tabella 6].

Quindi riassumendo, mentre i precedenti criteri (RECIST e WHO) considerano la massa tumorale a prescindere dalla presenza di area necrotica nella massa considerata i criteri successivi invece (EALS e mRECIST) ne considerano solo il tessuto ancora vitale (presa di mezzo di contrasto) [Fig. 5].

Tabella 5. RCTs di confronto tra RFA con alter terapie ablative locoregionali

Study	n	Tumor Size	Treatment Sessions Per Nodule	Complete Therapeutic Effect (%)	Major Complication Rate (%)	Overall Survival (%)	Disease-Free Survival (%)
Shibata et al.[12] 2002	RFA vs. MCT, 36 vs. 36	single tumor ≤4 cm, or ≤3 nodules with ≤3 cm	1.1 vs. 2.4	96 vs. 89	4 vs. 2	—	—
Lencioni et al.[16] 2003	RFA vs. PEI, 52 vs. 50	single tumor ≤5 cm, or ≤3 nodules with ≤3 cm	1.1 vs. 5.4	91 vs. 82 (after 1 session)	—	2-yr, 98 vs. 88	2-yr, 96 vs. 62
Lin et al.[17] 2004	RFA vs. PEI vs. PAI, 62 vs. 62 vs. 63	≤3 nodules with ≤3 cm	1.3 vs. 4.9 vs. 2.5	96.1 vs. 88.1 vs. 92.4	4.8 vs. 0 vs. 0	3-yr, 74 vs. 51 vs. 53	3-yr, 43 vs. 21 vs. 23
Lin et al.[18] 2004	RFA vs. PEI vs. high dose PEI, 52 vs. 52 vs. 53	≤4 cm	1.6 vs. 6.5 vs. 2.7	96 vs. 88 vs. 92	—	3-yr, 74 vs. 50 vs. 55	3-yr, 37 vs. 17 vs. 20
Shiina et al.[19] 2005	RFA vs. PEI, 118 vs. 114	≤3 nodules with ≤3 cm	2.1 vs. 6.4	—	—	4-yr, 74 vs. 57	—

Tabella 6. Studi di coorte sulla RFA per HCC non resecabili

Study	n	Tumor Size	Mortality Rate (%)	Major Morbidity Rate (%)	5-Yr Overall Survival (%)	5-Yr Disease-Free Survival (%)
Buscarini et al.[20] 2001	88	≤3.5 cm	0	2.3	33	3
Lencioni et al.[21] 2005	187	Mean, 2.8 cm	0	2	48	—
Raut et al.[22] 2005	194	Median, 3.3 cm	1	12	55.4	33.1
Machi et al.[23] 2005	65	Mean, 3.2 cm	1.2	4.8	39.9	27.9
Tateishi et al.[24] 2005	319	Mean, 2.6 cm	0	4	54.3	—
Cabassa et al.[25] 2006	59	Mean, 3.1 cm	0	1.7	43.1	—
Choi et al.[26] 2007	570	Mean, 2.59 cm	0	1.9	58	21

Fig. 5 Rappresentazione schematica dei criteri di valutazione di risposta al trattamento. I criteri EASL come come i criteri mRECIST prendono in considerazione la misura del tessuto ancora vitale (area grigia) mentre i criteri WHO considera tutta la massa indistintamente (tessuto necrotico e vitale).

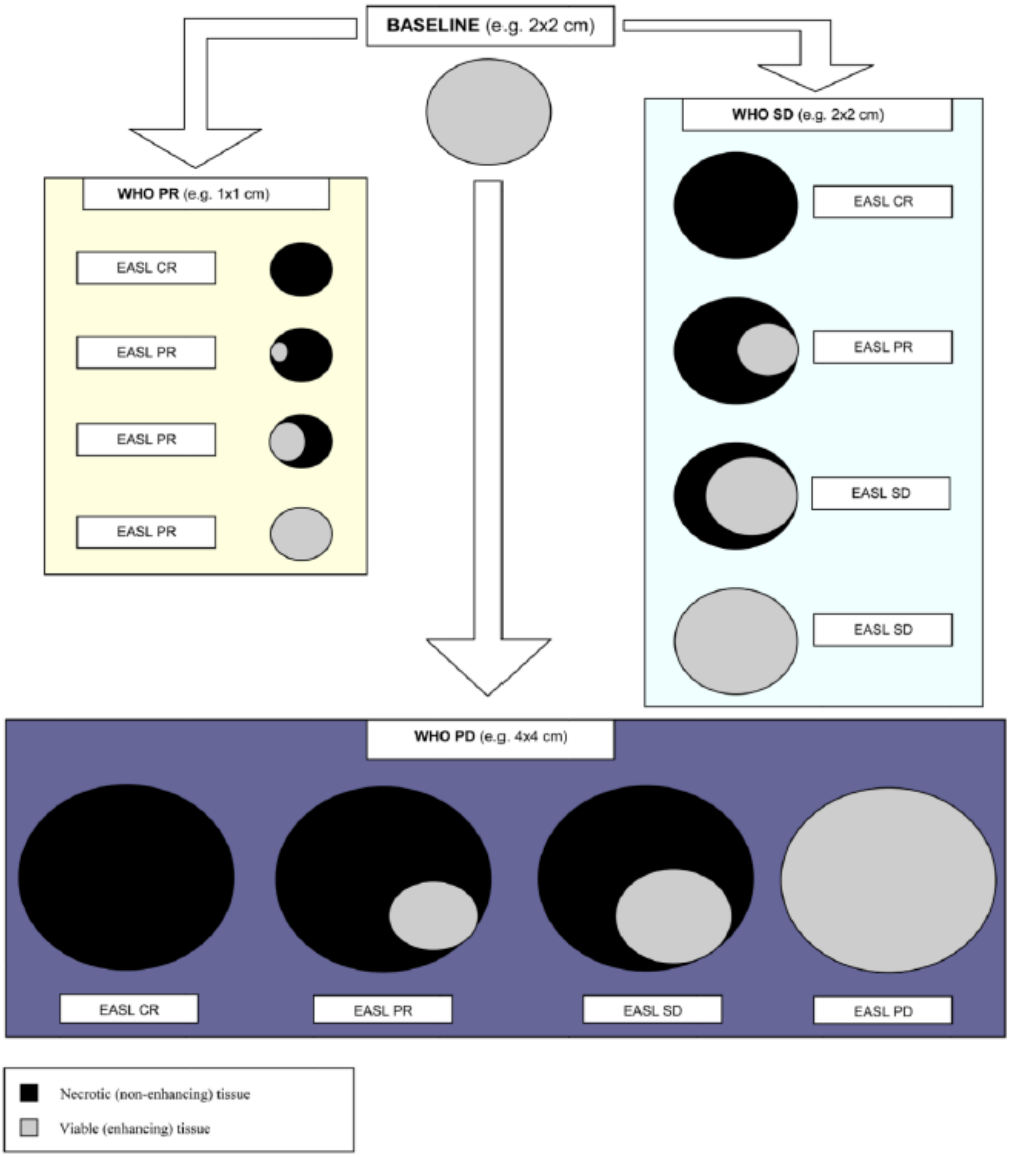


Tabella 7. Confronto tra i diversi sistemi di classificazione della risposta. LRT: locoregional therapy, CR: Complete response, PR:Partial response, SD: Stable disease, PD: Progressive disease.

System	Classification	Definition
World Health Organization (WHO) Guidelines	CR	100% decrease in cross-product of target lesion(s)
	PR	≥ 50% decrease in cross-product of target lesion(s)
	SD	<50% decrease to ≤25% increase in cross-product of target lesion(s)
	PD	>25% increase from maximum response of target lesion(s)
Response Evaluation Criteria for Solid Tumors (RECIST) Guidelines	CR	100% decrease in maximum diameter of target lesion(s)
	PR	≥30% decrease in maximum diameter of target lesion (s)
	SD	<30% decrease to ≤20% increase in maximum diameter of target lesion(s)
	PD	>20% increase from maximum response of target lesion(s)
European Association for Study of the Liver (EASL) Guidelines*	CR	100% decrease in amount of enhancing tissue in target lesion(s)
	PR	≥50% decrease in amount of enhancing tissue in target lesion(s)
	SD	<50% decrease in amount of enhancing tissue in target lesion(s)
	PD	>25% increase in amount of enhancing tissue in target lesion(s) and/or New enhancement in previously treated lesions warranting further LRT

Tabella 8. Confronto tra criteri RECIST e m RECIST

RECIST	mRECIST for HCC
CR = Disappearance of all target lesions	CR = Disappearance of any intratumoral arterial enhancement in all target lesions
PR = At least a 30% decrease in the sum of diameters of target lesions, taking as reference the baseline sum of the diameters of target lesions	PR = At least a 30% decrease in the sum of diameters of viable (enhancement in the arterial phase) target lesions, taking as reference the baseline sum of the diameters of target lesions
SD = Any cases that do not qualify for either partial response or progressive disease	SD = Any cases that do not qualify for either partial response or progressive disease
PD = An increase of at least 20% in the sum of the diameters of target lesions, taking as reference the smallest sum of the diameters of target lesions recorded since treatment started	PD = An increase of at least 20% in the sum of the diameters of viable (enhancing) target lesions, taking as reference the smallest sum of the diameters of viable (enhancing) target lesions recorded since treatment started

SCOPO DELLA TESI

L'ablazione mediante radiofrequenza (RFA) è considerate un trattamento di prima linea per molti pazienti in stadio precoce (early stage), in particular modo per coloro che non sono suscettibili di trattamenti chirurgici o trapianto epatico (OLT).

Nonostante che la RFA, seguendo le corrette indicazioni al trattamento, sia associata a tassi di sopravvivenza a 5 anni fino al 70% [138-140], comunque è una tecnica ancora gravata da alti tassi di recidiva che oscillano fra il 60% e l'80% a 4 anni [141,142].

Di conseguenza, sono necessari nuovi farmaci da utilizzare in regime adiuvante per migliorare la prognosi di questi pazienti e tale obiettivo è stato alla base di intensa ricerca negli ultimi anni. I farmaci attualmente a disposizione come l'interferone e il sorafenib non hanno determinato risultati significativi nel prevenire le recidive di HCC; in aggiunta, la somministrazione a lungo termine di questi farmaci ha determinato frequentemente eventi avversi talora anche severi e quindi spesso la sospensione della terapia [143,144].

Tutto questo, in aggiunta agli alti costi e alla debole evidenza su un reale vantaggio in termini di sopravvivenza di queste terapie, spiega perchè tutti i farmaci testati sinora in regime adiuvante nell'HCC abbiano determinate risultati insoddisfacenti [143,144].

Il farmaco ideale da utilizzare nel lungo termine dovrebbe essere poco costoso, facile da maneggiare e con limitati effetti collaterali. Dati preliminari hanno determinato risultati interessanti con l'uso degli inibitori dell'enzima di

conversione dell'angiotensina (ACE-I), di cui è ben nota l'attività antiangiogenetica e anti-fibrotica [145,146]. Comunque, gli ace-inibitori non hanno portato a vantaggi significativi quando utilizzati in monoterapia, fra l'altro determinando l'inibizione della bradichinina possono causare eventi avversi talora severi come tosse ed angioedema [145,147].

Mancano attualmente dati affidabili sull'effetto antitumorale nei confronti delle recidive di HCC da parte degli inibitori del recettore 1 dell'angiotensina II (i sartani). Gli studi preclinici hanno portato a risultati interessanti sia per quanto riguarda l'efficacia che soprattutto il profilo di sicurezza. In ogni caso mancano dati su pazienti, ma abbiamo solo evidenze laboratoristiche su modelli animali [148].

Lo scopo del nostro studio è di valutare se gli inibitori del recettore 1 dell'angiotensina II possono prolungare il tempo alla recidiva (time to recurrence, TTR) e la sopravvivenza (overall survival, OS) nei pazienti con HCC sottoposti a trattamento loco-regionale con RFA.

MATERIALI E METODI

Da Febbraio 2004 a Marzo 2015, 275 pazienti con prima diagnosi di HCC sono stati trattati con RFA come trattamento di prima linea presso l'Unità Operativa di Gastroenterologia degli Ospedali Riuniti di Foggia (OORR).

La diagnosi di cirrosi epatica era stata fatta istologicamente o mediante metodiche non invasive di imaging come indicato dalle linee guida [46]. Le indicazioni al trattamento con RFA sono state: 1) HCC diagnosticato mediante biopsia o metodiche contrastografiche [46], 2) HCC non metastatico in stadio BCLC 0/A (nodulo singolo o fino a tre noduli non oltre i 3 cm ciascuno) non aggredibile chirurgicamente, 3) buon compenso epatico (Child Pugh ≤ B7).

Controindicazioni alla RFA sono state: 1) scompenso epatico, 2) noduli di HCC in posizioni considerate "a rischio" (lesioni superficiali o adiacenti a visceri addominali). L'RFA non è stata effettuata anche in caso di noduli adiacenti a vasi intraepatici per il rischio di inefficacia del trattamento dovuto al cosiddetto "heat-sink effect" (perdita di calore per convezione).

La popolazione oggetto dello studio è stata costituita da 3 cohorti: 113 pazienti normotesi non in trattamento nè con ACE-I nè con sartani (Gruppo 1), 59 pazienti ipertesi in trattamento con ACE-I (Gruppo 2) e 43 pazienti ipertesi in trattamento con sartani (Gruppo 3). Nel gruppo 3, 23 pazienti (53.4%) erano in trattamento con losartan, 8 (18%) con valsartan, 7 (16.2%) con irbesartan e 5 (12.4%) con olmesartan.

I cross-overs da un trattamento antipertensivo ad un altro sono stati esclusi dallo studio al fine di evitare errori di classificazione di tali pazienti.

Sono stati inclusi solamente pazienti in trattamento antipertensivo da almeno 2 anni prima della radiofrequenza al fine di permettere un ragionevole tempo di induzione degli effetti antiangiogenetici ed antiproliferativi di tali farmaci.

L'analisi retrospettiva dei dati dei nostri pazienti è stata approvata dal locale comitato etico. I dati sono stati estratti anonimamente dal database nel Gennaio 2019 dopo un tempo mediano di follow-up di 108 mesi (intervallo di confidenza al 95%: 89-188 mesi).

Protocollo di trattamento

I dettagli tecnici delle metodiche ablative per l'HCC eseguite presso il nostro centro sono state già descritte in altre pubblicazioni [149]. La RFA è stata eseguita sotto guida ecografica con un generatore di corrente alla potenza di 15 W (Model 1500 L; RITA Medical System, Mountain View, California), collegato ad un elettrodo espandibile del calibro di 15-14 gauge con una esposizione della punta di 2 cm di lunghezza. Dopo la induzione di narcosi (50-60 mg di Propofol e da 0.05 a 0.1 mg di Fentanyl) e anestesia locale (da 5 a 15 ml di Lidocaina all'1%) con l'ausilio dell'anastesista, un ago per RFA veniva inserito nel tumore. L'elettrodo veniva posizionato al centro della lesione mantenendo la temperatura della punta dell'ago a 100 °C o più per 10-12 minuti. Dopo l'ablazione, l'ago veniva retratto mantenendone la punta calda al fine di prevenire per mezzo dell'effetto coagulativo il rischio di seeding o di emorragia lungo la traccia dell'ago stesso. Nessuna terapia antibiotica o antiflogistica è stata praticata prima della procedura. Eventuali sintomi verificatisi dopo la procedura sono stati gestiti individualmente.

Monitoraggio dei pazienti e valutazione della risposta

Il follow up dei pazienti includeva una valutazione clinica con esame obiettivo, esami ematochimici, una TC multifasica e la valutazione degli eventi avversi (AE) attraverso i comuni criteri di terminologia per gli eventi avversi (CTCAE) 4.0 [150] a 1 mese dopo la procedura e in caso di risposta completa, ogni 4-6 mesi.

In questo studio, gli eventi avversi correlati alla RFA erano definiti come ogni complicazione insorta nell'arco delle 4 settimane successive alla procedura.

Quando del tessuto tumorale vitale residuo era rilevato alla TC in pazienti con un Chid-Pugh ≤ B7 una seconda seduta di trattamento veniva pianificata.

Il tasso di risposta era definito in accordo con i criteri mRECIST [tabella 8] [151].

Ai fini dell'analisi, in caso di procedure consecutive, era considerata la migliore risposta raggiunta dopo l'ultima RFA di una serie di trattamenti.

Alla ricorrenza, in caso di malattia intraepatica, il trattamento elettivo era la RFA per un singolo nodulo e la TACE per l'HCC multifocale e il Sorafenib se si verificava trombosi della vena porta o metastasi.

Analisi statistica

Le variabili categoriche sono state riportate in termini di frequenze assolute e percentuali mentre le variabili come mediane e ranges. Il confronto dei parametri al basale fra i 3 gruppi di studio è stato effettuato mediante il test di Kruskall-Wallis per le variabili continue e il Chi quadrato per le categoriche.

OS e TTR sono state valutate dalla data della prima RFA mediante le curve di Kaplan-Meier e misurate con mediane e intervalli di confidenza al 95% (95% CI) mentre il confronto fra i gruppi è stato calcolato mediante il log-rank test.

L'analisi inferenziale dei dati "time to event", quindi dei fattori potenzialmente in grado di influenzare OS e TTR è stata condotta mediante il modello di regressione di Cox (univariata e multivariata) al fine di ottenere gli hazard ratio (HR) di tale regressione. Le variabili risultate statisticamente significative all'analisi univariata sono poi state valutate nell'analisi multivariata.

Al fine di risolvere i problemi legati ai confronti multipli (dovuti al fatto che i gruppi di studio erano più di 2), è stata applicata la correzione di Bonferroni [152].

Tutte le analisi sono state eseguite usando il programma R (R Statistical Software, Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) e la soglia di significatività statistica è stata posta a 0.05 di p-value (two-sided).

RISULTATI

CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI: la tabella 9 mostra le caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione di studio.

Non si sono riscontrate differenze significative per quanto riguarda le caratteristiche al baseline sia clinico-demografiche che tumorali. L'età mediana dell'intera popolazione di studio (215 pazienti) era 70 anni (range 39-86) e i pazienti erano principalmente di sesso maschile (79.7%) con cirrosi epatica HCV-relata (46.5%). Il Model for End Stage Liver Disease (MELD) score era di 9 (6-17) senza differenze fra i gruppi (p=0.48). La maggior parte dei pazienti era in stadio tumorale BCLC A (90.5% nel gruppo 1, 87.8% nel gruppo 2 and 90.4% nel gruppo 3; p=0.88). La mediana del diametro massimo tumorale nei tre gruppi era 29 mm (14-45), 30 mm (10-45) e 30 mm (10-40), rispettivamente (p=0.92). Globalmente, i pazienti erano in stato di buon compenso epatico (CP A in 85.6%) e performance status [Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 0 nel 100% dei soggetti]. La presenza di ipertensione portale, definita come almeno una delle seguenti- varici esofagee, piastrinopenia <100,000/μL e splenomegalia [153]-è stata riscontrata nel 40.5% dei pazienti. La pressione arteriosa media non era significativamente differente fra i 3 gruppi al baseline in tal modo supportando l'evidenza dell'efficacia sia degli ACE-I che dei sartani come farmaci antipertensivi (come precedentemente riportato, i pazienti nei gruppi 2 e 3 erano già in trattamento antipertensivo da almeno 2 anni prima di entrare nello studio).

In tutto sono stati trattati 288 noduli di HCC, di cui 87 (30.3%) ≤ 2 cm e 201 (69.7%) fra i 2 e i 5 cm.

RISPOSTA DEL TUMORE E TOSSICITA': La risposta oggettiva del tumore (risposta completa + risposta parziale) è stata osservata nel 92.1% dei pazienti. Nel dettaglio, 166/198 (84.4%) hanno avuto risposta completa e 15/198 (7.7%) solo una risposta parziale. Il numero medio di sessioni di RFA necessarie per ottenere la risposta oggettiva è stato di 1.4 (± 0.54) con un tempo mediano alla risposta di 2 mesi (95% CI 1-3).

Non si sono osservati decessi correlati al trattamento. Il tasso di scompenso epatico in seguito a RFA (valutato a 1 mese) è stato di 3.2% (7/215) mentre 4 pazienti (1.8%) hanno sviluppato eventi avversi severi (AE grade 3/4), fra cui un caso di ascesso addominale e 3 casi di addominalgia, tutti guariti senza esiti in seguito a breve ricovero ospedaliero. Non si sono verificati eventi avversi severi direttamente correlabili alla terapia antipertensiva.

SOPRAVVIVENZA GLOBALE (OS): Durante il periodo di studio, si sono verificati 175 decessi.

Nell'intera coorte di studio, la mediana di sopravvivenza è stata di 58 mesi (49-72) mentre il tasso di sopravvivenza è stato del 98.6% a 1 anno, 51.6% a 4 anni e 39.5% a 5 anni.

All'analisi di regressione univariata di Cox, l'età, lo stadio Child Pugh, lo score MELD e i livelli di AFP sono risultati essere predittori significativi della sopravvivenza (Tabella 10). Solo lo stadio Child Pugh e lo score MELD sono stati confermati come tali all'analisi multivariata (Tabella 10).

La mediana di sopravvivenza è stata di 48 mesi (42-51) nei pazienti non in trattamento nè con ACE-I nè con sartani, 51 mesi (42-88) nei pazienti in

trattamento con ACE-I e 63 mesi (51-84) in coloro trattati con sartani (Figura 6; p=0.15). Non è stata osservata nessuna differenza di sopravvivenza all'interno del gruppo 3 in base ai diversi sartani utilizzati (p=0.98; dati non riportati).

TEMPO ALLA RECIDIVA: Durante il periodo di follow up di studio, 153 pazienti hanno avuto il riscontro radiologico di ripresa di malattia tumorale. Nello specifico, 49 (32.3%) hanno sviluppato recidiva intraepatica locale (cioè nello stesso segmento), 75 (49.4%) intraepatica a distanza e 29 (18.3%) metastasi extraepatiche. Il tempo mediano alla recidiva (TTR) è stato di 33 mesi (31-42) con un tasso di sopravvivenza libera da recidiva del 78.1%, a 1 anno, 36.6% a 4 anni e 33.3% a 5 anni.

L'età, il numero di noduli e la terapia antipertensiva in corso sono risultati predittori di TTR all'analisi univariata. Di questi, solo il numero di noduli e la terapia antipertensiva sono stati confermati come predittori significativi di TTR all'analisi multivariata (Table 11).

La mediana di TTR, stratificata in base alla terapia antipertensiva in corso, è stata di 33 mesi (24-35) nel gruppo 1, 41 mesi (23-72) nel gruppo 2 e 51 mesi (42-88) nel gruppo 3 (Figure 7; p=0.001). All'interno del gruppo 3, non sono state osservate differenze di TTR in base al tipo di sartano utilizzato (p=0.87; dati non riportati).

DISCUSSIONE

Nonostante i recenti sviluppi nei programmi di screening/sorveglianza e nelle strategie terapeutiche per l'HCC, questa neoplasia rappresenta ancora un serio problema di salute pubblica. Infatti perfino dopo trattamenti radicali (come la chirurgia, il trapianto di fegato e l'RFA) la recidiva tumorale rappresenta un serio problema ancora irrisolto, a causa dell'alta frequenza di recidiva e del suo decorso generalmente aggressivo.

Per tali motivi negli ultimi anni si è sviluppato un interesse crescente per lo sviluppo di farmaci da utilizzare in ambito adiuvante al fine di ridurre il tasso di recidiva tumorale dopo terapia radicale primaria.

Nonostante i risultati promettenti di qualche studio retrospettivo e i vantaggi teorici del sorafenib come terapia adiuvante, un ampio trial randomizzato multicentrico [Sorafenib as Adjuvant Treatment in the Prevention Of Recurrence of Hepatocellular Carcinoma (STORM)], che ha reclutato 1114 pazienti con HCC dopo resezione chirurgica o RFA, non è stato in grado di dimostrare un miglioramento significativo della sopravvivenza libera da recidiva (endpoint primario) e della sopravvivenza [144, 154, 155]. Tale deludente risultato è stato almeno in parte dovuto all'alto tasso di interruzione terapeutica a causa di eventi avversi severi o del ritiro del consenso da parte dei pazienti [144].

Allo stesso modo anche altri farmaci, come ad esempio l'interferone, hanno fornito risultati discordanti nel setting adiuvante, più che altro a causa dell'alto costo e della ristretta finestra terapeutica [143,156].

Svariati studi in diversi ambiti dell'oncologia umana hanno suggerito che gli ACE-I ed i sartani hanno proprietà antitumorali [157-159]. Tale aspetto è di particolare rilevanza in epato-oncologia dove l'azione sinergistica sia delle proprietà pro-tumorigeniche che dell'attività pro-fibrotica dell'angiotensina II possono rivestire un ruolo fondamentale nell'epatocarcinogenesi [160]. Infatti, l'angiotensina II induce il rilascio del vascular endothelial growth factor (VEGF) ed incrementa la fibrosi epatica mediante la secrezione di transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) da parte delle cellule di Kupffer e stellate attivate [160] (Figura 8).

Nonostante i discreti risultati di studi clinici preliminari ed i tanti vantaggi potenziali degli ACE-I, più ampi reports clinici hanno dimostrato un tasso significativo di recidive tumorali solo quando gli ACE-I sono stati associate ad altre molecole (ad esempio aminoacidi ramificati o vitamina K) e fra l'altro non sono state riscontrate differenze riguardanti la sopravvivenza globale [145-147, 161].

Se da una parte il ruolo degli ACE-I nella terapia per l'HCC è stato ben esplorato, l'efficacia degli inibitori del recettore di tipo 1 dell'angiotensina II (i cosiddetti sartani) non è stata ancora dimostrata. Infatti, gran parte delle proprietà biologiche dell'angiotensina II, inclusa l'attività pro-fibrotica e pro-angiogenetica, sono mediate dal recettore 1. Solo negli anni più recenti è stata riconosciuta l'attività del recettore 2 che ha effetti del tutto opposti rispetto al recettore 1, in particolar modo inibisce la proliferazione cellulare e stimola l'apoptosi in varie linee cellulari [162]. Quindi, mentre gli ACE-I bloccano a monte l'attivazione del pathway molecolare indotto dal sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), così da evitare il legame dell'angiotensina II con entrambi i recettori (sia il

recettore 1 “pro-oncogeno” che con il 2 “onco-soppressore”), i sartani inibiscono selettivamente l’attivazione del recettore 1. Inoltre è stato dimostrato che in corso di terapia con sartani il recettore 2 è iperespresso a seguito di un meccanismo di regolazione a feedback dovuta all’inibizione farmacologica [162]. Quindi, le proprietà pro-apoptotiche ed antiproliferative dell’angiotensina II risultano persino esaltate in corso di terapia con sartani. Infine, i sartani non sono gravati dai fastidiosi effetti collaterali degli ACE-I (come la tosse o addirittura l’angioedema che è potenzialmente letale). Di conseguenza, anche il tasso di interruzione della terapia dovuta ad effetti collaterali è notevolmente minore con i sartani rispetto agli ACE-I.

Sulla base delle suddette caratteristiche biologiche e dei risultati promettenti di studi su modelli animali [163], abbiamo deciso di revisionare retrospettivamente la nostra casistica di pazienti con HCC trattati mediante RFA al fine di valutare se davvero i sartani sono in grado di prolungare il tempo alla recidiva o addirittura la sopravvivenza globale. Indubbiamente l’indicazione alla terapia con sartani ed ACE-I è stata l’ipertensione arteriosa essenziale, una condizione estremamente frequente nel mondo occidentale.

Anche se retrospettivo, il nostro studio rappresenta il primo report clinico sull’efficacia dei sartani sulle recidive tumorali e la sopravvivenza dei pazienti con HCC in seguito a terapia radicale (RFA appunto). Un recentissimo studio austriaco ha dimostrato gli effetti favorevoli degli inibitori del RAAS (sia ACE-I che sartani) nei pazienti con HCC avanzato trattati con sorafenib o best supportive care (BSC) [164], ma mancano del tutto in letteratura dati sul setting adiuvante dopo terapia radicale. Da qui l’importanza del nostro studio.

La sopravvivenza globale non è stata significativamente differente fra i 3 gruppi di studio (Figura 6), però i pazienti trattati con sartani hanno mostrato tempi di TTR decisamente prolungati in confronto sia ai pazienti trattati con ACE-I che ai normotesi (Figura 7). Quindi la nostra serie ha confermato l'attività antitumorale degli ACE-I ma ha riscontrato un'attività molto più pronunciata con i sartani, in tal modo l'ipotesi primaria alla base del nostro studio è stata dimostrata. Infatti la terapia antipertensiva e il numero globale di noduli sono risultati essere gli unici fattori significativamente predittivi di migliore TTR all'analisi di Cox multivariata.

L'analisi *post-hoc* basata sulla correzione di Bonferroni ha dimostrato che proprio i sartani sono stati i responsabili dei risultati significativi osservati nella regressione di Cox multivariata, dato che solo il gruppo 3 ha mantenuto un p value significativo dopo tale correzione (Tabella 11). Quindi fra le due classi di farmaci antipertensivi, solo i sartani sono stati davvero responsabili dei migliori esiti post-RFA.

Come dato interessante, va segnalato che i sartani esercitano i loro benefici effetti antitumorali a dispetto del fatto che l'ipertensione portale (noto fattore prognostico sfavorevole nei pazienti epatopatici) fosse più frequente nel gruppo 3 (Tabella 9). Purtroppo la misurazione diretta della pressione venosa portale non è effettuata di routine nella pratica clinica, quindi nel nostro studio abbiamo basato la diagnosi di ipertensione portale solo su parametri clinico-laboratoristici o ecografici come indicato da numerosi altri studi nel settore [153]. Anche se questa definizione probabilmente può portare ad una sovrastima della reale frequenza di ipertensione portale nella nostra popolazione di studio (e questo può spiegare l'apparente discrepanza fra pazienti in stadio Child Pugh A e coloro con

ipertensione portale), comunque rappresenta un indicatore affidabile e validato degli squilibri emodinamici che si sviluppano nel circolo venoso portale dei pazienti cirrotici [165]. Quindi i nostri dati sembrano suggerire che gli antagonisti del recettore 1 dell'angiotensina II possano determinare benefici in termini di sopravvivenza libera da recidiva persino in caso di sottostante epatopatia più avanzata, a dispetto delle teoriche riserve su un possibile squilibrio indotto da questi farmaci sull'emodinamica già molto labile di questi pazienti. Infatti è risaputo che man mano che la cirrosi epatica progredisce, la pressione arteriosa media si riduce; in ogni caso questo è stato un problema secondario nella nostra popolazione di studio che era composta principalmente da pazienti in stato di buon compenso epatico, quindi senza controindicazioni di alcun tipo all'uso di farmaci antipertensivi.

Fra gli antagonisti del recettore 1 dell'angiotensina II, il telmisartan è stato ampiamente studiato come in grado di determinare effetti antiproliferativi in svariate tipologie di neoplasia [166,167]. Va notato però che nel nostro studio il telmisartan non era utilizzato da nessun paziente, probabilmente a causa del suo più alto dosaggio in confronto ad altri sartani, il che poteva costituire una controindicazione in pazienti epatopatici. Possiamo concludere quindi che l'effetto antitumorale dei sartani contro le recidive di HCC sia un effetto di classe poichè non sono state riscontrate differenze fra singole molecole sia per quanto riguarda la TTR che la OS; in ogni caso il limitato campione di pazienti non può permettere conclusioni definitive a tal proposito.

Come previsto non sono stati osservati effetti collaterali severi nei pazienti in trattamento con sartani, ciò a confermare l'ottimo profilo di sicurezza di tali farmaci.

In base a quanto detto finora quindi i sartani sembrano riproporre tutti i vantaggi del farmaco adiuvante ideale, essendo relativamente economici, sicuri e di ampia diffusione.

Lo studio ha alcune limitazioni. Innanzitutto si tratta di uno studio retrospettivo e questo può aver influenzato alcuni dei risultati riportati e ne mina comunque l'affidabilità. Va detto però che i tre gruppi erano perfettamente paragonabili al baseline per quanto riguarda i parametri clinici e tumorali, quindi il rischio di "selection bias" appare comunque limitato. Inoltre la completezza dei dati raccolti e l'ampia lunghezza di follow-up supporta fortemente le nostre conclusioni. Secondo, il campione di pazienti era relativamente limitato (in particolar modo per quanto riguarda il gruppo di soggetti trattati con sartani) quindi occorrono ulteriori conferme da parte di trials randomizzati o ampi studi di coorte. Inoltre il limitato numero di pazienti trattati con sartani può aver influenzato l'analisi di OS e TTR dei sottogruppi distinti in base allo specifico farmaco utilizzato. In ogni caso, anche se in un campione di pazienti non molto ampio, il nostro studio conferma l'effetto antitumorale di questi farmaci come un effetto "di classe" e non correlato ad una specifica singola molecola (come già suggerito in altre casistiche) [163,164].

Nonostante queste limitazioni, in primis la natura retrospettiva dell'analisi, il nostro studio rappresenta il primo report clinico sull'efficacia dei sartani nel migliorare la sopravvivenza libera da recidiva nei pazienti con HCC in seguito a terapia radicale. Riteniamo quindi che per via del loro costo relativamente limitato e della maneggevolezza, i sartani possano rappresentare un arma terapeutica promettente nella gestione dei pazienti con HCC "early" in seguito a terapie ablative o chirurgiche.

Tabella 9: Caratteristiche di base dei pazienti della popolazione in studio.

Variable	Overall *215 pts*	No Therapy *113 pts*	ACE Inhibitors *59 pts*	Sartans 43 pts	P
Age (years)	70 (39-86)	70 (48-86)	69 (39-86)	72 (48-82)	0.87
Gender Male	171 (79.7%)	89 (79.5%)	45 (77.5%)	37 (83.9%)	0.78
BMI	23 (17-36)	21(17-33)	24 (18-36)	24 (19-35)	0.45
Mean arterial pressure (mmHg)*	96.4 ± 15.5	87.6 ± 17.4	103.3 ± 19.4	100 ± 17.9	0.09
Mellitus Diabetes	81 (37.9%)	38 (34.2%)	24 (40.8%)	19 (42%)	0.66
Etiology HCV	99 (46.4%)	48 (42.4%)	30 (51%)	21 (48.3%)	0.89
HBV	46 (21.6%)	28 (24.6%)	11 (18.3%)	7 (19.3%)	
Other	70 (32%)	37 (33%)	18 (30.7%)	15 (32.4%)	
Child-Pugh A	184 (85.6%)	97 (86.3%)	48 (81.6%)	39 (90.3%)	0.54
B	31 (14.4%)	16 (13.7%)	11 (18.4%)	4 (9.7%)	
MELD	9 (6-17)	9 (6-17)	9 (7-15)	9 (7-13)	0.48
Presence of Portal Hypertension+	99 (46.4%)	45 (40%)	19 (32.6%)	31 (54.8%)	0.14
Alpha-fetoprotein (UI/mL)	24 (1.1-2100)	20.4 (1.1-2100)	26.5 (1.7-1228)	37 (2.6-2100)	0.10
BCLC 0	22 (10.4%)	8 (9.5%)	7 (12.2%)	7 (9.6%)	0.88
A	193 (89.6%)	105 (90.5%)	52 (87.8%)	36 (90.4%)	
ALTSG I	22 (10.4%)	8 (9.5%)	7 (12.2%)	7 (9.6%)	0.88
II	193 (89.6%)	105 (90.5%)	52 (87.8%)	36 (90.4%)	
CLIP 0	119 (55.5%)	61 (54.8%)	36 (61.2%)	22 (48.4%)	0.71
1	84 (39.2%)	45 (39.7%)	19 (32.6%)	22 (48.4%)	
2	12 (5.3%)	7 (5.5%)	4 (6.2%)	1 (3.2%)	
Number of nodules	1 (1-3)	1 (1-3)	1 (1-2)	1 (1-3)	0.68
Max Diameter (mm)	30 (10-45)	29 (14-45)	30 (10-45)	30 (10-40)	0.92
ECOG Performance Status 0	215 (100%)	113 (100%)	59 (100%)	43 (100%)	1.0

Comparisons were performed by means of Kruskall Wallis test or Chi-square test when appropriate.
Abbreviations: BMI, Body Mass Index; HCV, Hepatitis C Virus; HBV, Hepatitis B Virus; MELD, Model for End-stage Liver Disease; BCLC, Barcelona Clinic Liver Cancer; ALTSG, American Liver Tumor Study Group; CLIP, Cancer of the Liver Italian Program; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group.
* Computed as diastolic pressure + [1/3 x (systolic pressure – diastolic pressure)]
+Defined by at least one of the following: esophageal varices, platelet count <100,000/μL and splenomegaly.

Tabella 10. Analisi di regressione uni/multivariata di Cox per la sopravvivenza globale

	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
Variables	**Hazard Ratio (CI 95%)**	**p-value**	**Hazard Ratio (CI 95%)**	**p-value**
Age (reference ≤ 65 years)	1.56 (1.01-2.42)	**0.04**	1.89 (0.43-2.44)	0.21
Gender (reference Female)	0.96 (0.54-1.69)	0.89		
Blood Hypertension (reference no)	1.08 (0.79-1.34)	0.89		
BMI (reference ≤ 25)	1.25 (0.84-1.42)	0.46		
Mellitus Diabetes (reference no)	1.34 (0.95-1.68)	0.25		
Etiology (reference HBV)	HCV: 0.77 (0.46-1.41) Other: 1.54 (0.77-3.09)	0.42		
Child-Pugh (reference A)	2.83 (1.70-4.71)	**<0.001**	2.58 (1.44-4.62)	**0.001**
Portal Hypertension (reference no)	0.86 (0.56-1.30)	0.48		
AFP (reference ≤ 20 UI/mL)	2.07 (0.89-3.5)	**0.03**	1.71 (1.45-3.2)	0.17
MELD (reference ≤ 7)	2.13 (1.21-3.75)	**<0.001**	2.37 (1.33-4.22)	**0.003**
Max Diameter (reference ≤ 30 mm)	1.12 (0.68-1.82)	0.65		
BCLC (reference 0)	1.54 (0.80-2.98)	0.19		
CLIP (reference 0)	1: 2.11 (1.8-3.3) 2: 3.5 (2.1-19.2)	0.07		
Number of nodules (reference 1)	>1: 1.75 (1.02-2.04)	0.25		
Anti-angiotensin therapy (reference none)		0.15		
	ACE I: 0.91 (0.76-2.10)	0.39*		
	Sartans: 0.71 (0.46-1.10)	0.12*		

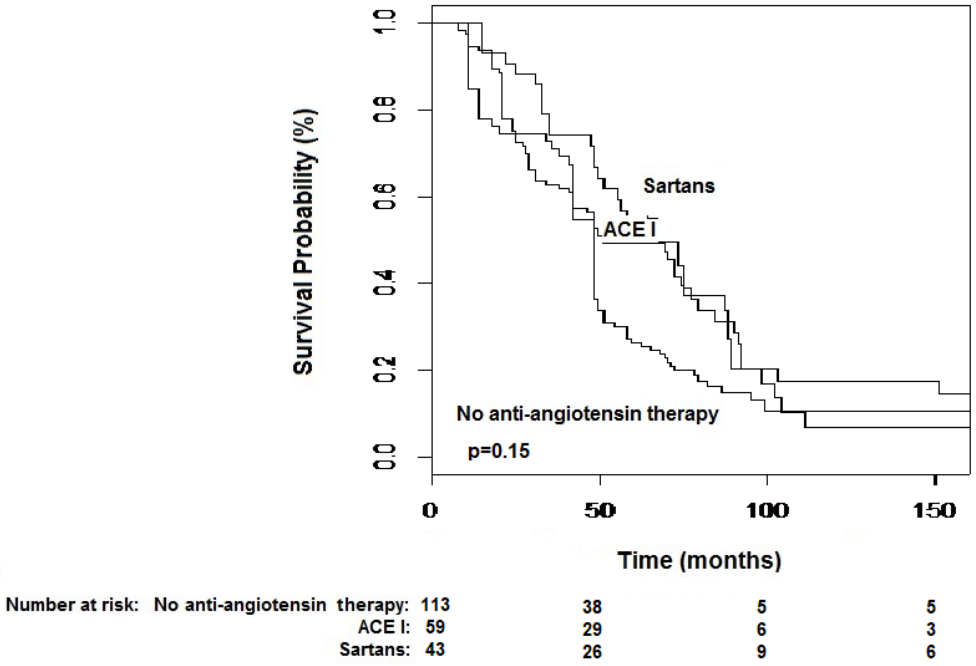
Abbreviations: CI 95%, confidence interval 95%; BMI, Body Mass Index; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; AFP, alpha-fetoprotein; MELD, Model for End stage Liver Disease; BCLC, Barcelona Cancer of the Liver Clinic; CLIP, Cancer of the Liver Italian Program.
* Correction by means of Bonferroni method.

Tabella 11. Analisi di regressione uni/multivariata di Cox per il TTR

	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
Variables	**Hazard Ratio (CI 95%)**	**p-value**	**Hazard Ratio (CI 95%)**	**p-value**
Age (reference ≤ 65 years)	2.02 (1.27-3.21)	**0.002**	1.59 (0.73-2.34)	0.21
Gender (reference Female)	1.63 (0.89-3.01)	0.07		
Blood Hypertension (reference no)	1.28 (0.82-1.74)	0.79		
BMI (reference ≤ 25)	1.34 (0.89-1.78)	0.21		
Mellitus Diabetes (reference no)	1.46 (1.01-2.04)	0.16		
Etiology (reference HBV)	HCV: 0.92 (0.78-1.35) Other: 1.24 (0.87-3.89)	0.39		
Child-Pugh (reference A)	1.05 (0.57-1.92)	0.87		
Portal Hypertension (reference no)	0.73 (0.47-1.14)	0.16		
AFP (reference ≤ 20 UI/mL)	1.10 (0.73-1.66)	0.62		
MELD (reference ≤ 7)	0.73 (0.43-1.24)	0.25		
Max Diameter (reference ≤ 30 mm)	0.90 (0.54-1.51)	0.71		
BCLC (reference 0)	1.11 (0.59-2.09)	0.72		
CLIP (reference 0)	1: 1.51 (0.8-3.3) 2: 3.9 (2.1-7.2)	0.15		
Number of nodules (reference 1)	2.45 (1.32-3.04)	**0.02**	1.45 (1.02-3.01)	**0.04**
Anti-angiotensin therapy (reference none)		**0.001**		**0.008**
	ACE I: 0.71 (0.46-1.12) Sartans: 0.49 (0.28-0.84)	0.44* **0.03***	0.78 (0.49-1.22) 0.47 (0.27-0.82)	0.31* **0.009***

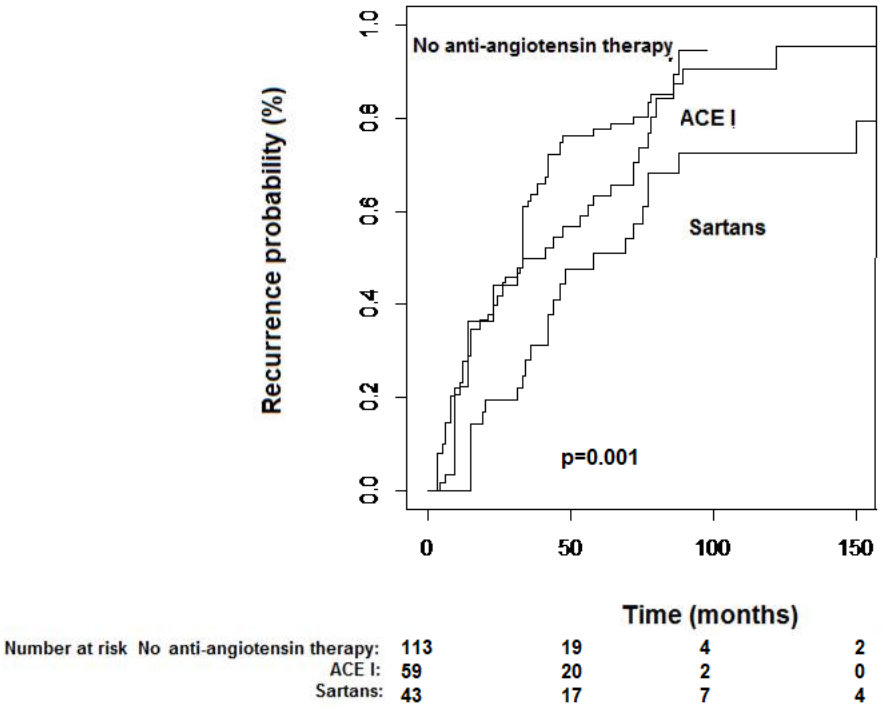
Abbreviations: CI 95%, confidence interval 95%; BMI, Body Mass Index; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; AFP, alpha-fetoprotein; MELD, Model for End stage Liver Disease; BCLC, Barcelona Cancer of the Liver Clinic; CLIP, Cancer of the Liver Italian Program. * Correction by means of Bonferroni method.

Figura 6. Curve di Kaplan-Meier riguardanti la sopravvivenza globale stratificate in base alla terapia antipertensiva.



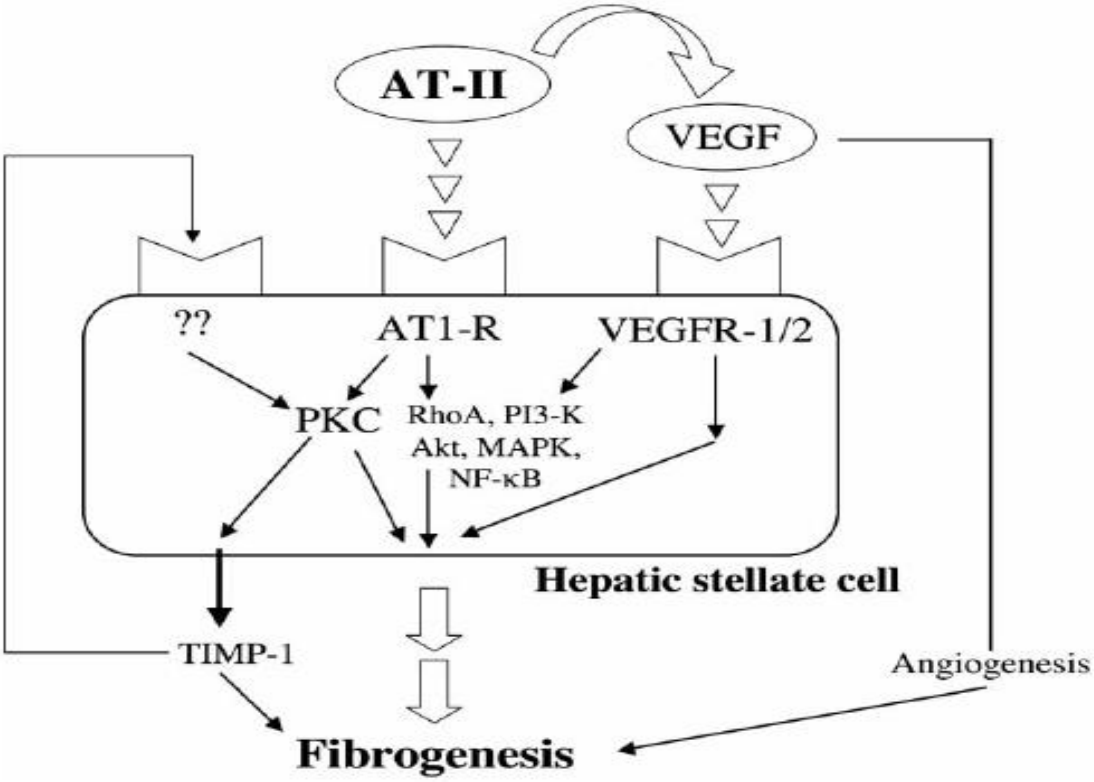
La sopravvivenza mediana è stata di 48 mesi (42-51) nel gruppo 1, 51 (42-88) mesi nel gruppo 2 e 63 mesi (51-84) nel gruppo 3 (p=0.15).

Figura 7. Curve di Kaplan-Meier riguardanti il tempo alla recidiva stratificate per la terapia antipertensiva.



La mediana di tempo alla recidiva è stata di 33 mesi (24-35) nel gruppo 1, 41 mesi (23-72) nel gruppo 2 e 51 mesi (42-88) nel gruppo 3 (p=0.001).

Figura 8. Meccanismo di azione pro-oncogenica e pro-fibrotica dell'angiotensina II.



Bibliografia

1) Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. Gastroenterology 2004;127:S5–S16.
2) Stroffolini T, Andreone P, Andriulli A, Ascione A, Craxi A, Chiaramonte M, Galante D, et al. Characteristics of hepatocellular carcinoma in Italy. J Hepatol 1998;29:944–952.
3) El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. N Engl J Med 1999;340:745–750.
4) Deuffic S, Poynard T, Buffat L, Valleron AJ. Trends in primary liver cancer. Lancet 1998;351:214–215.
5) Taylor-Robinson SD, Foster GR, Arora S, Hargreaves S, Thomas HC. Increase in primary liver cancer in the UK, 1979-94. Lancet 1997; 350:1142–1143
6) International Agency for Cancer Reseach. GLOBOCAN 2002:http://www-dep.iarc.fr(accessed January 20,2010).
7) Umemura T, Ichijo T, Yoshizawa K, Tanaka E, Kiyosawa K. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in Japan. J Gastroenterol 2009;44 Suppl 19:102–107.
8) Bosetti C, Levi F, Boffetta P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980-2004. Hepatology 2008;48:137–145.
9) Chang MH, You SL, Chen CJ, Liu CJ, Lee CM, Lin SM, et al. Taiwan Hepatoma Study Group. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in

hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. J Natl Cancer Inst 2009;101:1348–1355.

10) El-Serag HB, Mason AC. Rising incidence of hepatocellular carcinoma in the United States. N Engl J Med 1999;340:745–750.

11) Tanaka H, Imai Y, Hiramatsu N, Ito Y, Imanaka K, Oshita M, et al. Declining incidence of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan from 1990 to 2003. Ann Intern Med 2008;148:820–826.

12) Bosetti C, Boffetta P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980–2004. Hepatology 2008;48:137–145.

13) Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et al. Cancer statistics, 2008. CA Cancer J Clin 2008;58:71–96.

14) Chang MH, You SL, Chen CJ, Liu CJ, Lee CM, Lin SM, et al. Taiwan Hepatoma Study Group. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. J Natl Cancer Inst 2009;101:1348–1355.

15) Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74–108.

16) Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: a 17-year cohort study of 214 patients. Hepatology 2006;43:1303–1310.

17) Ioannou G, Splan M, Weiss N, McDonald G, Beretta L, Lee S. Incidence and predictors of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. Clin Gastroenterol Hepatol 2007;5:938–945.

18) Lok AS, Seeff LB, Morgan TR, Di Bisceglie AM, Sterling RK, Curto TM, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma and associated risk factors in

hepatitis C-related advanced liver disease. Gastroenterology 2009;136:138–148.

19) Ripoll C, Groszmann RJ, Garcia-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. J Hepatol 2009;50:923–928.

20) Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. Hepatology 2009;49:1954–1961.

21) Jung KS, Kim SU, Ahn SH, Park YN, Kim do Y, Park JY, et al. Risk assessment of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma development using liver stiffness measurement (FibroScan). Hepatology 2011;53:885–894.

22) Lok AS. Prevention of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2004;127:S303–S309.

23) Yang HI, Lu SN, Liaw YF, You SL, Sun CA, Wang LY, et al. Taiwan Community–Based Cancer Screening Project Group. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 2002;347:168–174.

24) Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, et al. REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. JAMA 2006;295:65–73.

25) Yu MW, Yeh SH, Chen PJ, Liaw YF, Lin CL, Liu CJ, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men. J Natl Cancer Inst 2005;97:265–272.

26) Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver Disease/Cancer–In HBV (the REVEAL–HBV) Study Group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. Gastroenterology 2006;130:678–686.

27) Raimondi S, Bruno S, Mondelli MU, Maisonneuve P. Hepatitis C virus genotype 1b as a risk factor for hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis. J Hepatol 2009;50:1142–1154.

28) Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, Welsh JA, Wang NJ, Harris CC. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. Nature 1991;350:427–428.

29) Deugnier YM, Guyader D, Crantock L, Lopez JM, Turlin B, Yaouanq J, et al. Primary liver cancer in genetic hemochromatosis: a clinical, pathological, and pathogenetic study of 54 cases. Gastroenterology 1993;104:228–234.

30) Perlmutter DH. Pathogenesis of chronic liver injury and hepatocellular carcinoma in alpha-1-antitrypsin deficiency. Pediatr Res 2006;60: 233–238.

31) Polio J, Enriquez RE, Chow A, Wood WM, Atterbury CE. Hepatocellular carcinoma in Wilson's disease. Case report and review of the literature. J Clin Gastroenterol 1989;11:220–224.

32) El-Serag HB, Richardson PA, Everhart JE. The role of diabetes in hepatocellular carcinoma: a case–control study among United States Veterans. Am J Gastroenterol 2001;96:2462–2467.

33) Marrero J, Fontana R, Fu S, Conjeevaram H, Su G, Lok A. Alcohol, tobacco andobesity are synergistic risk factors for hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2005;42:218–224.

34) Trichopoulos D, Bamia C, Lagiou P, Fedirko V, Trepo E, Jenab M, et al. Hepatocellular carcinoma risk factors and disease burden in a European cohort: a nested case–control study. J Natl Cancer Inst 2011;103:1686–1695.

35) Marcellin P, Pequignot F, Delarocque-Astagneau E, Zarski JP, Ganne N, Hillon P, et al. Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C

in France: evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption. J Hepatol 2008;48:200–207.

36) Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, Futreal PA, Harshman K, Tavtigian S, et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science 1994;266:66–71.

37) Marra G, Boland CR. Hereditary nonpolyposis colorectal cancer: the syndrome, the genes, and historical perspectives. J Natl Cancer Inst 1995;87:1114–1125.

38) Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. J Hepatol 2008;48:S20–S37.

39) Bolondi L, Gaiani S, Celli N, Golfieri R, Grigioni WF, Leoni S, et al. Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. Hepatology 2005;42:27–34.

40) Forner A, Vilana R, Ayuso C, Bianchi L, Solé M, Ayuso JR, et al. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. Hepatology 2008;47:97–104.

41) Roskams T, Kojiro M. Pathology of early hepatocellular carcinoma: conventional and molecular diagnosis. Semin Liver Dis 2010;30:17–25.

42) Terasaki S, Kaneko S, Kobayashi K, Nonomura A, Nakanuma Y. Histological features predicting malignant transformation of nonmalignant hepatocellular nodules: a prospective study. Gastroenterology 1998;115:1216–1222.

43) Borzio M, Fargion S, Borzio F, Fracanzani AL, Croce AM, Stroffolini T, et al. Impact of large regenerative, low grade and high grade dysplastic nodules in hepatocellular carcinoma development. J Hepatol 2003;39:208–214.

44) Stigliano R, Marelli L, Yu D, Davies N, Patch D, Burroughs AK. Seeding following percutaneous diagnostic and therapeutic approaches for hepatocellular carcinoma. What is the risk and the outcome? Seeding risk for percutaneous approach of HCC. Cancer Treat Rev 2007;33:437–447.

45) Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. 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.

46) Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2005;42:1208–1236.

47) International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. Hepatology 2009;49:658–664.

48) Silva MA, Hegab B, Hyde C, Guo B, Buckels JA, Mirza DF. Needle track seeding following biopsy of liver lesions in the diagnosis of hepatocellular cancer: a systematic review and meta-analysis. Gut 2008;57:1592–1596.

49) Di Tommaso L, Franchi G, Park YN, Fiamengo B, Destro A, Morenghi E, et al. Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. Hepatology 2007;45:725–734.

50) Capurro M, Wanless IR, Sherman M, Deboer G, Shi W, Miyoshi E, et al. Glypican-3: a novel serum and histochemical marker for hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2003;125:89–97.

51) Di Tommaso L, Destro A, Seok JY, Balladore E, Terracciano L, Sangiovanni A, et al. The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2009;50:746–754.

52) Tremosini S, Forner A, Boix L, Rimola J, Rodríguez de Lope C, Reig M, et al. Biopsy diagnosis of hepatocellular carcinoma <2 cm: prospective validation of glypican 3, heat-shock protein 70 and glutamine synthetase staining in fine needle biopsy samples. ILCA book of abstracts; 2011.

53) Durnez A, Verslype C, Nevens F, Fevery J, Aerts R, Pirenne J, et al. The clinicopathological and prognostic relevance of cytokeratin 7 and 19 expression in hepatocellular carcinoma. A possible progenitor cell origin. Histopathology 2006;49:138–151.

54) Kim H, Choi GH, Na DC, Ahn EY, Kim GI, Lee JE, et al. Human hepatocellular carcinomas with ‘‘Stemness’’-related marker expression: keratin 19 expression and a poor prognosis. Hepatology 2011;54:1707–1717.

55) Colli A, Fraquelli M, Casazza G, Massironi S, Colucci A, Conte D, et al. Accuracy of ultrasonography, spiral CT, magnetic resonance, and alphafetoprotein in diagnosing hepatocellular carcinoma: a systematic review. Am J Gastroenterol 2006;101:513–523.

56) Burrel M, Llovet JM, Ayuso C, Iglesias C, Sala M, Miquel R, et al. MRI angiography is superior to helical CT for detection of HCC prior to liver transplantation: an explant correlation. Hepatology 2003;38:1034–1042.

57) D’Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. J Hepatol 2006;44:217–231.

58) 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.

59) 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.

60) Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, et al. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. Hepatology 1999;29:62–67.

61) Villa E, Moles A, Ferretti I, Buttafoco P, Grottola A, Del Buono M, et al. Natural history of inoperable hepatocellular carcinoma: estrogen receptors'status in the tumor is the strongest prognostic factor for survival. Hepatology 2000;32:233–238.

62) Cabibbo G, Enea M, Attanasio M, Bruix J, Craxì A, Cammà C. A meta-analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2010;51:1274–1283.

63) Chevret S, Trinchet JC, Mathieu D, Rached AA, Beaugrand M, Chastang C. A new prognostic classification for predicting survival in patients with hepatocellular carcinoma. Groupe d'Etude et de Traitement du Carcinome Hépatocellulaire. J Hepatol 1999;31:133–141.

64) Llovet JM, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. Semin Liver Dis 1999;19:329–338.

65) Llovet JM, Di Bisceglie AM, Bruix J, Kramer BS, Lencioni R, Zhu AX, et al. Design and endpoints of clinical trials in hepatocellular carcinoma. J Natl Cancer Inst 2008;100:698–711.

66) 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: a study based on 926 patients. Cancer 2002;94:1760–1769.

67) Kitai S, Kudo M, Minami Y, Haji S, Osaki Y, Oka H, et al. Validation of a new prognostic staging system for hepatocellular carcinoma: a comparison of the biomarker-combined Japan Integrated Staging Score, the conventional Japan Integrated Staging Score and the BALAD Score. Oncology 2008;75:S83–S90.

68) Marrero J, Fontana RJ, Barrat A, Askari F, Conjeevaram HS, Su GL, et al. Prognosis of hepatocellular carcinoma: comparison of 7 staging systems in an American cohort. Hepatology 2005;41:707–716.

69) Cillo U, Vitale A, Grigoletto F, Farinati F, Brolese A, Zanus G, et al. Prospective validation of the Barcelona Clinic Liver Cancer staging system. J Hepatol 2006;44:723–731.

70) Guglielmi A, Ruzzenente A, Pachera S, Valdegamberi A, Sandri M, D'Onofrio M, et al. Comparison of seven staging systems in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma in a cohort of patients who underwent radiofrequency ablation with complete response. Am J Gastroenterol 2008;103:597–604.

71) Llovet J.M., Bruix J., Fuster J., et al Liver transplantation for small hepatocellular carcinoma: the tumor-node-metastasis classification does not have prognostic power. Hepatology 1998; 27: 1572-1577

72) Kudo M. Review of 4th Single Topic Conference on HCC. Hepatocellular carcinoma: international consensus and controversies. Hepatol Res 2007;37:S83–S87.

73) Takayama T, Makuuchi M, Hirohashi S, Sakamoto M, Yamamoto J, Shimada K, et al. Early hepatocellular carcinoma as an entity with a high rate of surgical cure. Hepatology 1998;28:1241–1246.

74) Roayaie S, Blume IN, Thung SN, Guido M, Fiel MI, Hiotis S, et al. A system of classifying microvascular invasion to predict outcome after resection in patients with hepatocellular carcinoma. Gastroenterology 2009;137:850–855.

75) Roayaie S, Llovet JM, Obeidat K, Labow D, Sposito C, Pellegrinelli A, et al. Hepatic resection for hepatocellular carcinoma <2 cm in diameter. Hepatology, in press.

76) Livraghi T, Meloni F, Di Stasi M, Rolle E, Solbiati L, Tinelli C, et al. Sustained complete response and complications rates after radiofrequency ablation of very early hepatocellular carcinoma in cirrhosis: is resection still the treatment of choice? Hepatology 2008;47:82–89.

77) Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The Liver Cancer Study Group of Japan. Hepatology 2000;32:1224–1229.

78) Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. Hepatology 1999;30:1434–1440.

79) Sala M, Llovet JM, Vilana R, Bianchi L, Solé M, Ayuso C, et al. Barcelona Clínic Liver Cancer Group. Initial response to percutaneous ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatology 2004;40:1352–1360.

80) Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. Hepatology 2003;37:429–442.

81) Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. Hepatology 2008;48:1312–1327.

82) Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 2008;359:378–390.

83) Lau WY. Primary Hepatocellular Carcinoma. In: Blumgart LH, Fong Y, eds. *Surgery of the Liver and Biliary Tract.* 2nd ed. Vol II. London, England: W.B. Saunders; 1423-1450:2000.

84) Lai EC, Lau WY, Mann DV. Selection of Patients for Liver Resection. In: Lau WY, ed. *Hepatocellular Carcinoma*. Singapore, Republic of Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte Ltd; 303-316:2008.

85) Belghiti J. Surgical Treatment. In: Lau WY, ed. *Hepatocellular Carcinoma*. Singapore, Republic of Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 387-408:2008.

86) Lau WY. Management of hepatocellular carcinoma. *J R Coll Surg Edinb*. 2002;47:389-399.

87) Lau WY, Lai EC. Hepatocellular carcinoma: current management and recent advances. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2008;7:237-257.

88) Lai EC, Lau WY. The continuing challenge of hepatic cancer in Asia. *Surgeon*. 2005;3:210-215.

89) Sala M, Fuster J, Llovet JM, Navasa M, Solé M, Varela M, et al. High pathological risk of recurrence after surgical resection for hepatocellular

carcinoma: an indication for salvage liver transplantation. Liver Transpl 2004;10:1294–1300.

90) Lencioni R. Loco-regional treatment of hepatocellular carcinoma. Hepatology 2010;52:762–773.

91) Livraghi T, Bolondi L, Lazzaroni S, Marin G, Morabito A, Rapaccini GL, et al. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. A study on 207 patients. Cancer 1992;15:925–929.

92) Kuang M, Lu MD, Xie XY, Xu HX, Xu ZF, Liu GJ, et al. Percutaneous ethanol ablation of early-stage hepatocellular carcinoma by using a multi-pronged needle with single treatment session and high-dose ethanol injection. Radiology 2009;253:552–561.

93) Lencioni R, Bartolozzi C, Caramella D, Paolicchi A, Carrai M, Maltinti G, et al. Treatment of small hepatocellular carcinoma with percutaneous ethanol injection. Analysis of prognostic factors in 105 Western patients. Cancer 1995;76:1737–1746.

94) Livraghi T, Giorgio A, Marin G, Salmi A, De Sio I, Bolondi L, et al. Hepatocellular carcinoma and cirrhosis in 746 patients: long-term results of percutaneous ethanol injection. Radiology 1995;197:101–108.

95) Khan KN, Yatsuhashi H, Yamasaki K, Yamasaki M, Inoue O, Koga M, et al. Prospective analysis of risk factors for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following ethanol injection. J Hepatol 2000;32:269–278.

96) Lau WY, Leung TW, Yu SC, et al. Percutaneous local ablative therapy for hepatocellular carcinoma: a review and look into the future. *Ann Surg*. 2003;237:171-179.

97) Livraghi T. Local Ablative Therapy. In: Lau WY, ed. *Hepatocellular Carcinoma*. Singapore, Republic of Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 2008:645-660.

98) Galandi D, Antes G. Radiofrequency thermal ablation versus other interventions for hepatocellular carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004;2:CD003046.

99) Wan Yee Lau et al. The Current Role of Radiofrequency Ablation in the Management of Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review**.** Annals of Surgery. 2009;249(1):20-25.

100) Shibata T, Iimuro Y, Yamamoto Y, et al. Small hepatocellular carcinoma: comparison of radio-frequency ablation and percutaneous microwave coagulation therapy. *Radiology*. 2002;223:331-337.

101) Lu MD, Xu HX, Xie XY, et al. Percutaneous microwave and radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: a retrospective comparative study. *J Gastroenterol*. 2005;40:1054-1060.

102) Ohmoto K, Yoshioka N, Tomiyama Y, et al. Radiofrequency ablation versus percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinomas: a retrospective comparative study. *Hepatogastroenterology*. 2007;54:985-989.

103) Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, et al. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiology*. 1999;210:655-661.

104) Lencioni RA, Allgaier HP, Cioni D, et al. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology*. 2003;228:235-240.

105) Lin SM, Lin CJ, Lin CC, et al. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. *Gut*. 2005;54:1151-1156.

106) Lin SM, Lin CJ, Lin CC, et al. Radiofrequency ablation improves prognosis compared with ethanol injection for hepatocellular carcinoma < or = 4 cm. *Gastroenterology*. 2004;127:1714-1723.

107) Shiina S, Teratani T, Obi S, et al. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2005;129:122-130.

108) Buscarini L, Buscarini E, Di Stasi M, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of small hepatocellular carcinoma: long-term results. *Eur Radiol*. 2001;11:914-921.

109) Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, et al. Early-stage hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. *Radiology*. 2005;234:961-967.

110) Raut CP, Izzo F, Marra P, et al. Significant long-term survival after radiofrequency ablation of unresectable hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Ann Surg Oncol*. 2005;12:616-628.

111) Machi J, Bueno RS, Wong LL. Long-term follow-up outcome of patients undergoing radiofrequency ablation for unresectable hepatocellular carcinoma. *World J Surg*. 2005;29:1364-1373.

112) Tateishi R, Shiina S, Teratani T, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer*. 2005;103:1201-1209.

113) Cabassa P, Donato F, Simeone F, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: long-term experience with expandable needle electrodes. *Am J Roentgenol*. 2006;186:S316-S321.

114) Choi D, Lim HK, Rhim H, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for early-stage hepatocellular carcinoma as a first-line treatment: long-term results and prognostic factors in a large single-institution series. *Eur Radiol*. 2007;17:684-692.

115) Lo CM, Ngan H, Tso WK, et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2002;35:1164-1171.

116) Llovet JM, Real MI, Montana X, et al.; Barcelona 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.

117) Llovet JM, Bruix J. Systemic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology*. 2003;37:429-442.

118) Chok KS, Ng KK, Poon RT, et al. Comparable survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma treated by radiofrequency ablation or transarterial chemoembolization. *Arch Surg*. 2006;141:1231-1236.

119) Sala M, Llovet JM, Vilana R, et al.; Barcelona Clínic Liver Cancer Group. Initial response to percutaneous ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2004;40:1352-1360.

120) Takahashi S, Kudo M, Chung H, et al. Initial treatment response is essential to improve survival in patients with hepatocellular carcinoma who

underwent curative radiofrequency ablation therapy. *Oncology*. 2007;72:98-103.

121) Guglielmi A, Ruzzenente A, Sandri M, et al. Radio frequency ablation for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prognostic factors for survival. *J Gastrointest Surg*. 2007;11:143-149.

122) Zhang YJ, Liang HH, Chen MS, et al. Hepatocellular carcinoma treated with radiofrequency ablation with or without ethanol injection: a prospective randomized trial. *Radiology*. 2007;244:599-607.

123) Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, et al. Chemoembolization combined with radiofrequency ablation for patients with hepatocellular carcinoma larger than 3 cm: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2008;299:1669-1677.

124) Lu DS, Yu NC, Raman SS, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as a bridge to liver transplantation. *Hepatology*. 2005;41:1130-1137.

125) Brillet PY, Paradis V, Brancatelli G, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma before liver transplantation: a prospective study with histopathologic comparison. *Am J Roentgenol*. 2006;186:S296-S305.

126) Llovet JM, Vilana R, Brú C, et al.; Barcelona Clínic Liver Cancer Group. Increased risk of tumor seeding after percutaneous radiofrequency ablation for single hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2001;33:1124-1129.

127) Livraghi T, Lazzaroni S, Meloni F, et al. Risk of tumor seeding after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg*. 2005;92:856-858.

128) Stigliano R, Marelli L, Yu D, et al. Seeding following percutaneous diagnostic and therapeutic approaches for hepatocellular carcinoma. What is

the risk and the outcome? Seeding risk for percutaneous approach of HCC. *Cancer Treat Rev*. 2007;33:437-447.

129) Poon RT, Ng KK, Lam CM, et al. Radiofrequency ablation for subcapsular hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2004;11:281-289.

130) Latteri F, Sandonato L, Di Marco V, et al. Seeding after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a prospective study. *Dig Liver Dis*. 2008;40:684-689.

131) Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The Liver Cancer Study Group of Japan. Hepatology 2000;32:1224–1229.

132) Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Riaz A, Ryu RK, Ibrahim S, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-term outcomes. Gastroenterology 2010;138:52–64.

133) Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. Cancer 1981;47(1): 207–214

134) Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, et al. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatmentof Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. J Natl Cancer Inst 2000;92(3):205–216.

135) Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. N Engl J Med 2008;359(4):378–390.

136) Forner A, Ayuso C, Varela M, et al. Evaluation of tumor response after locoregional therapies in hepatocellular carcinoma: are response evaluation criteria in solid tumors reliable? Cancer 2009;115(3):616–623.

137) Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al; EASL Panel of Experts on HCCEuropean Association for the Study of the Liver. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. J Hepatol 2001;35(3):421–430

138) Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, et al. Early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. Radiology 2005;234:961–967.

139) N'Kontchou G, Mahamoudi A, Aout M, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: long-term results and prognostic factors in 235 Western patients with cirrhosis. Hepatology 2009;50:1475-1483.

140) Facciorusso A, Del Prete V, Antonino M, et al. Serum Ferritin as a New Prognostic Factor in Hepatocellular Carcinoma Patients Treated with Radiofrequency Ablation. J Gastroenterol Hepatol. 2014 Nov;29(11):1905-10.

141) Zhong JH1, Ma L, Li LQ. Postoperative therapy options for hepatocellular carcinoma. Scand J Gastroenterol. 2014 Jun;49(6):649-961.

142) Tan ZM, Sun BC. Effects of antiviral therapy on preventing liver tumorigenesis and hepatocellular carcinoma recurrence. World J Gastroenterol. 2013 Dec 21;19(47):8895-8901.

143) Mazzaferro V, Romito R, Schiavo M, et al. Prevention of hepatocellular carcinoma recurrence with alpha-interferon after liver resection in HCV cirrhosis. Hepatology. 2006 Dec;44(6):1543-1554

144) Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, et al. Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): a phase 3,

randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet Oncol. 2015 Oct;16(13):1344-54.

145) Yoshiji H, Noguchi R, Toyohara M, et al. Combination of vitamin K and angiotensin-converting enzyme inhibitor ameliorates cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2009;51:315-321.

146) Yoshiji H, Kuriyama S, Fukui H. Blockade of renin-angiotensin system in antifibrotic therapy. J Gastroenterol Hepatol 2007;22:93-95.

147) Yoshiji H, Noguchi R, Ikenaka Y, et al. Combination of branched-chain amino acids and angiotensin-converting enzyme inhibitor suppresses the cumulative recurrence of hepatocellular carcinoma: a randomized control trial. Oncol Rep. 2011 Dec;26(6):1547-1553.

148) Tamaki Y, Nakade Y, Yamauchi T, et al. Angiotensin II type 1 receptor antagonist prevents hepatic carcinoma in rats with nonalcoholic steatohepatitis. J Gastroenterol. 2013 Apr;48(4):491-503.

149) Facciorusso A, Del Prete V, Antonino M, et al. Post-recurrence survival in hepatocellular carcinoma after percutaneous radiofrequency ablation. Dig Liver Dis. 2014 Nov;46(11):1014-1019.

150) Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 NCI, NIH, DHHS. May 29, 2009 NIH publication # 09-7473.

151) Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. Semin Liver Dis. 2010;30(1):52-60.

152) Hashemi R, Commenges D. Correction of the p-value after multiple tests in a Cox proportional hazard model. Lifetime Data Anal. 2002 Dec;8(4):335-348.

153) Mazzaferro V, Sposito C, Bhoori S, Romito R, Chiesa C, Morosi C, et al. Yttrium-90 radioembolization for intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: a phase 2 study. Hepatology 2013;57(5):1826-1837.

154) Feng X, Xu R, Du X, et al. Combination Therapy With Sorafenib and Radiofrequency Ablation for BCLC Stage 0-B1 Hepatocellular Carcinoma: A Multicenter Retrospective Cohort Study. Am J Gastroenterol. 2014 Dec;109(12):1891-9.

155) Facciorusso A, Muscatiello N, Di Leo A, Barone M. Combination therapy with sorafenib and radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: a glimmer of light after the STORM trial? Am J Gastroenterol. 2015 accepted for publication.

156) Hsu YC, Ho HJ, Wu MS, Lin JT, Wu CY. Postoperative peg-interferon plus ribavirin is associated with reduced recurrence of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. Hepatology. 2013 Jul;58(1):150-7.

157) George AJ, Thomas WG, Hannan RD. The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. Nat Rev Cancer. 2010 Nov;10(11):745-59.

158) Sørensen GV, Ganz PA, Cole SW, et al. Use of β-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin II receptor blockers, and risk of breast cancer recurrence: a Danish nationwide prospective cohort study. J Clin Oncol. 2013 Jun 20;31(18):2265-72.

159) Ager EI, Neo J, Christophi C. The renin-angiotensin system and malignancy. Carcinogenesis. 2008 Sep;29(9):1675-84.

160) Hirose A, Ono M, Saibara T, et al. Angiotensin II type 1 receptor blocker inhibits fibrosis in rat nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 2007 Jun;45(6):1375-81.

161) Kaibori M, Ishizaki M, Matsui K, , Kitade H, Matsui Y, Kwon AH. Evaluation of metabolic factors on the prognosis of patients undergoing resection of hepatocellular carcinoma. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Mar;26(3):536-43.

162) Brunton L, Chabner BA, Knollman B. Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition. 2011. McGrow-Hill. Pages 721-31.

163) Du H, Liang Z, Zhang Y, et al. Effects of angiotensin II type 2 receptor overexpression on the growth of hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. PLoS One. 2013 Dec 31;8(12):e83754.

164) Pinter M, Weinmann A, Wörns MA, et al. Use of inhibitors of the renin-angiotensin system is associated with longer survival in patients with hepatocellular carcinoma. United European Gastroenterol J. 2017 Nov;5(7):987-96.

165) Berzigotti A, Reig M, Abraldes JG, Bosch J, Bruix J. Portal hypertension and the outcome of surgery for hepatocellular carcinoma in compensated cirrhosis: a systematic review and meta-analysis. Hepatology. 2015 Feb;61(2):526-36.

166) Sipahi I, Debanne SM, Rowland DY, Simon DI, Fang JC. Angiotensin-receptor blockade and risk of cancer: meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet Oncol. 2010 Jul;11(7):627-636.

167) Ozeki K, Tanida S, Morimoto C, et al. Telmisartan inhibits cell proliferation by blocking nuclear translocation of ProHB-EGF C-terminal fragment in colon cancer cells. PLoS One. 2013;8(2):e56770.