

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

SCIENZE MEDICO-CHIRURGICHE GASTROENTEROLOGICHE E DEI TRAPIANTI

Ciclo XXI

Settore scientifico disciplinare di afferenza: MED18

**INCIDENZA DI TUMORI DE NOVO NEI PAZIENTI  
TRAPIANTATI DI FEGATO: CORRELAZIONI CON I REGIMI  
IMMUNOSOPPRESSIVI.**

Presentata da : MASSIMO DEL GAUDIO

Coordinatore Dottorato

Prof. Massimo Campieri

Relatore

Prof. Gian Luca Grazi

Esame finale anno 2008

## INTRODUZIONE

Il trapianto ortotopico di fegato (OLT) è una procedura ben consolidata in termini di operazione salvavita per pazienti con malattia epatica acuta e cronica del fegato. In molti centri trapianto di fegato sono state ottenute sopravvivenze del paziente e dell'organo ad 1 anno superiori al 90% (1). I riceventi del trapianto di fegato sono comunque soggetti ad una terapia immunosoppressiva per tutta la durata della vita con i suoi tanti rischi attesi conseguenti. Negli ultimi anni, i tumori de novo dopo OLT sono stati riportati in aumento in letteratura (2-14), e sono considerati come una causa di mortalità tardiva in questa popolazione (15-17). L'incidenza riportata dei tumori de novo varia dal 3% al 26% (2-14), che è significativamente aumentata paragonata con tale incidenza nella popolazione generale (6,8). Studi precedenti sull'incidenza, i risultati ed eventuali fattori di rischio per lo sviluppo di tumori de novo dopo OLT, hanno mostrato risultati differenti a seconda della lunghezza del follow-up, la diagnosi di malattia epatica pre-trapianto ed il tipo di neoplasia considerato (16). Non sono stati prodotti studi controllati per determinare pienamente l'impatto dei tumori de novo sulla sopravvivenza a lungo termine dopo trapianto. Noi riportiamo la nostra esperienza di un'istituzione singola con un follow-up a lungo termine di tutti i pazienti con diagnosticato un tumore de novo post-trapianto in un periodo di 23 anni. Un gruppo di controllo di riceventi di OLT senza neoplasia è stato identificato e paragonato con l'incidenza dei casi considerando il sesso, l'età, la data del trapianto ed il tipo di malattia epatica per meglio definire l'impatto dei tumori de novo sulla sopravvivenza a lungo termine. Inoltre abbiamo meglio caratterizzato il tempo di sviluppo, i risultati specifici a seconda della malattia presentata e lo spettro di questi tumori de novo dopo OLT.

## MATERIALI E METODI

Un totale di 1300 pazienti adulti sono stati sottoposti ad OLT all'Università di Bologna durante un periodo di 23 anni tra il 1986 ed il 2009. All'interno di questo gruppo di pazienti, 65 pazienti (5%) hanno sviluppato un tumore de novo durante il periodo di follow-up e sono stati identificati mediante una ricerca effettuata tramite un database computerizzato dell'ospedale. I singoli dati di questi pazienti sono stati retrospettivamente analizzati considerando in particolare l'età al momento della diagnosi del tumore, la causa della malattia epatica che ha portato al trapianto di fegato, l'intervallo di tempo tra il momento del trapianto e la diagnosi della malattia tumorale, il tipo di tumore sviluppato e le caratteristiche isto-patologiche, il regime immunosoppressivo, eventuali episodi di rigetto acuto, l'età ed il sesso del donatore ed infine la sopravvivenza del paziente. In tutti i casi esaminati, la diagnosi di tumore de novo è stata confermata dall'istologia. Pazienti con una diagnosi precedente al trapianto di tumore a localizzazione extraepatica e pazienti che sono stati sottoposti a trapianto per tumori primitivi epatici e che hanno sviluppato una recidiva tumorale dopo trapianto sono stati esclusi dall'analisi. Tutti i pazienti indirizzati al trapianto sono stati sottoposti ad uno screening routinario pre-OLT mediante radiografia del torace, mammografia, e colonscopia. 65 riceventi di trapianto che non avevano alcuna evidenza di malattia tumorale durante il periodo di follow-up sono stati considerati come gruppo di controllo e sono stati matchati con un rapporto 1-1 con i casi in termini di età ( $\pm 3$  anni), epoca del trapianto, sesso, e quando possibile, tipo di malattia epatica. Naturalmente, le sopravvivenze dei pazienti nel gruppo di controllo al momento del matching con i casi non erano note. L'analisi statistica è stata effettuata con il software SPSS 17.0. I risultati sono stati espressi come medie (deviazione standard) se le variabili continue avevano una distribuzione normale e come mediane (range) se avevano una distribuzione non-parametrica. Le variabili categoriche erano presentate come percentuali. La probabilità di morte era stimata con il metodo Kaplan-Meier e paragonata usando il log-rank test. Lo sviluppo del tumore è considerato

come co-variata tempo dipendente. Un valore di  $p < 0.05$  era considerato statisticamente significativo in tutte le analisi.

## RISULTATI

La tabella 1 mostra le caratteristiche basilari cliniche per i casi ed i controlli. La tabella 2 mostra le caratteristiche demografiche. L'età mediana al momento del trapianto era 53 anni (20-65 anni) per i casi e 51 (24-66) per i controlli. C'erano 47 (71%) uomini e 18 (29%) donne tra i casi, e 46 (69%) uomini e 19 (31%) donne tra i controlli. Il regime immunosoppressivo primario non era significativamente differente tra i casi ed i controlli, ed includeva una triplice terapia a base di ciclosporina, azathioprina e prednisone nella maggioranza dei pazienti. Tacrolimus in combinazione con il prednisone era il regime immunosoppressivo usato in una minoranza di soggetti. La dose di prednisone era diminuita fino a 5 mg giornalieri dopo 3 mesi dal trapianto e definitivamente sospesa dopo 1 anno dal trapianto. L'azathioprina era continuata per 6 mesi dopo OLT. L'immunosoppressione veniva diminuita o sostituito l'inibitore della calcineurina con Sirolimus (Rapamune) in tutti i pazienti con diagnosi di disordine linfoproliferativo post OLT (PTLD) e dove possibile, dopo la diagnosi di tumore non relata alla pelle mediante un approccio caso per caso. L'epatite cronica C, HBV relata e la cirrosi alcolica sono le tre principali cause di malattia epatica tra i casi ed i controlli (Tabella 2 ). Non è stato possibile matchare 2 casi con altrettanti controlli in termine di diagnosi di malattia epatica. Un caso di sindrome di Crijgler-Najar ed un caso di epatite fulminante B che sono stati matchati rispettivamente con una malattia di Wilson ed un caso di epatite cronica B, rispettivamente. I casi ed i controlli non differivano tra loro statisticamente in maniera significativa considerando i regimi immunosoppressivi, il numero ed il trattamento degli episodi di rigetto, l'età media del donatore (Tabella 1).

Tabella 1. Caratteristiche cliniche e demografiche tra i casi ed i controlli.

	Casi (65)	Controlli (65)	P
Età all'OLT			
Mediana	53	51	ns
Range	20-65	24-66	
Sesso			
Maschi	47 (71%)	46 (69%)	ns
Femmine	18 (29%)	19 (31%)	
Età media donatore			
Media	48.89 ± 20.3	44.27 ± 17.3	ns
Episodi di rigetto (n.)			
Media	1.1	1.1	ns
Numero deceduti	24	18	ns
Immunosoppressione			
Ciclosporina	45	44	ns
Tacrolimus	15	18	

Tabella 2. Malattia epatica di base dei casi e dei controlli.

Diagnosi	N casi	%	N controlli	%
Epatite cronica C	32	49	32	49
Epatite cronica B	13 (1 HIV*)	20	14	21.5
Epatite alcoolica	12	18.4	12	18.4
Cirrosi biliare primitiva	4	6.1	4	6.1
Wilson	1	1.5	2	3
Epatite fulminante	1	1.5	-	-
Crijgler-Najar	1	1.5	-	-
Amiloidosi	1	1.5	1	1.5

### Tipi di tumori de novo

La tabella 3 mostra la distribuzione dei 65 tumori de novo che si sono presentati nella popolazione oggetto dello studio. Il tumore della pelle è quello più comune ( 26.1 %), seguito da quelli del tratto gastroenterico ( 24.6%) ed ematologici ( 16.9 %).

Tabella 3. Tipi di tumori de novo sviluppati post-OLT nei 65 pazienti.

Tipo	Numero di tumori	Totale (%)
Pelle	17	26.1
Gastrointestinale	16	24.6
Ematologico	11	16.9
Rinomaxillo-facciale	8	12.3
Polmone	5	7.6
Mammella	4	6.1
Sistema urinario	3	4.6
Ginecologico	1	1.5

La tabella 4 riassume in dettaglio i tipi e la localizzazione dei 65 tumori de novo. La media di intervallo tra il trapianto di fegato e la diagnosi del tumore de novo era  $4.17 \pm 3.77$  anni (range 4 mesi-16.2 anni).

Tabella 4. Tipi e localizzazione dei tumori de novo post-OLT.

Organo	Sede	N	Tipo tumore primitivo	Commenti
Pelle		17	10 Carcinoma basocellulare 1 Ca. epidermoidale verrucoso 2 Carcinoma spinocellulare 3 Kaposi cutaneo 1 Melanoma	1 Kaposi viscerale  1 carcinoma colon
Gastrointestinale	Stomaco	4	4 Adenocarcinoma	1 Metastasi epatiche
	Retto	2	2 Adenocarcinoma	1 Ca . vescicale
	Pancreas	2	2 Adenocarcinoma	1 Metastasi epatiche
	Colon	7	7 Adenocarcinoma	1 Meta ep. + polm. 1 Meta uretere 1 Meta cutanee + VBP
	Ano	1	1 Adenocarcinoma	
Sangue	PTLD	11	3 Kaposi linfonodole 1 Linfoma epatico	3 HHV8+EBV+ 1 EBV+



			<p>1 Linfoma NH a grandi cellule</p> <p>1 Linfoma NH a grandi e picc. cell.</p> <p>3 Linfoma B ad alto e medio gr.</p> <p>1 Linfoma splenico</p> <p>1 Linfoma via biliare intraep.</p>	1 EBV-
Polmone	Polmone	4	<p>1 Ca. misto a piccole e grandi cell.</p> <p>3 Adenoca</p>	
	Pleura	1	1 Mesotelioma pleurico	
Rhynomaxillofacciale	Laringe	1	1 Carcinoma cell. Squamose	1 Ca. Corde vocali
	Lingua	2	2 Carcinoma cell. Squamose	
	Parotide	1		
	Tonsilla	1	1 Carcinoma cell. Squamose	
	Palato duro	1		
	Tiroide	1	Ca papillifero	
	Occhio	1	Rabdomiosarcoma embrion.	
Mammella		4	<p>3 Adenocarcinoma</p> <p>1 Tumore filloide</p>	
Ginecologico	Ovaio	1		

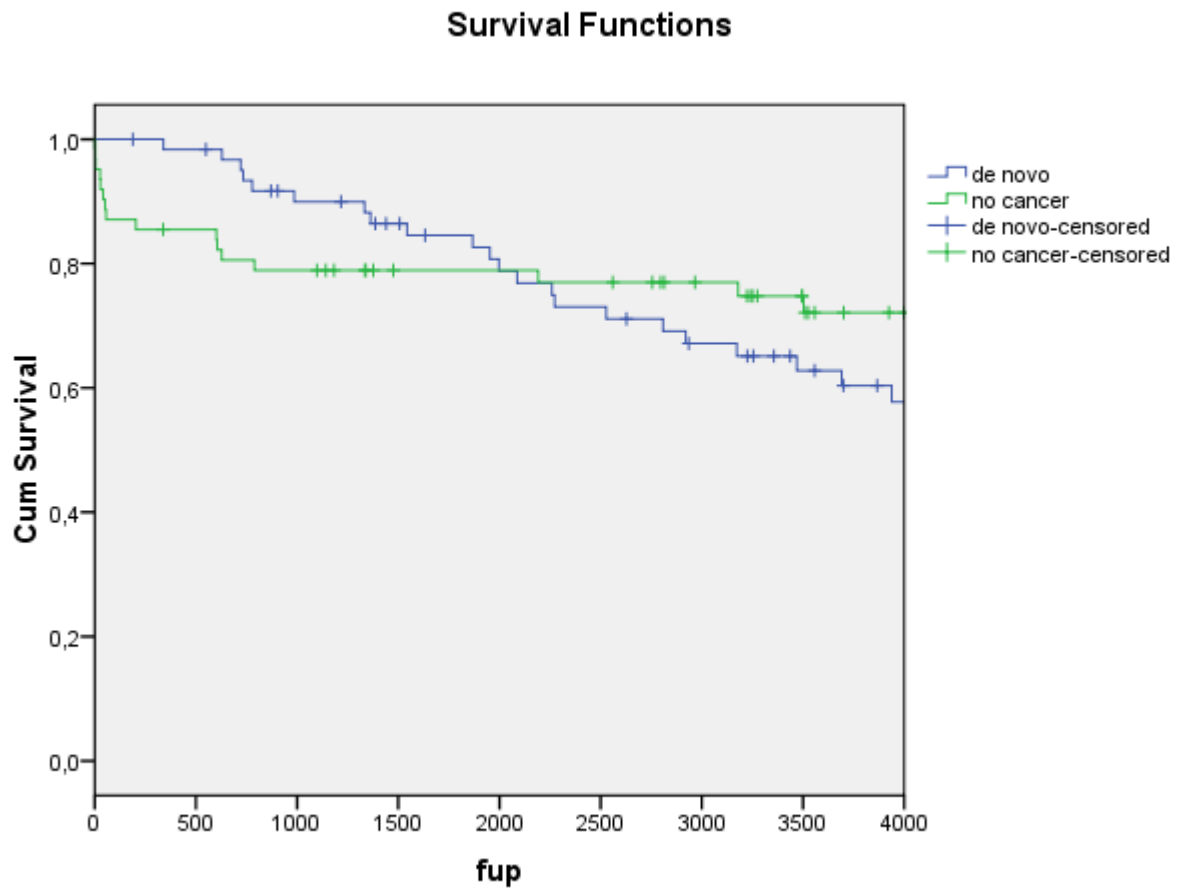
Sistema urinario	Vescica	1	2 Carcinoma cell. chiare	1 trombosi v. cava inf.
	Rene	2		

Considerando il tempo di sviluppo dei tumori de novo dopo OLT: l'intervallo mediano tra il trapianto di fegato e lo sviluppo di un tumore della pelle era di 4 anni (range 0.4-10 anni). L'intervallo mediano tra OLT e lo sviluppo di tumori del tratto gastroenterico era 4.2 anni (range 0.5-11.7 anni). L'intervallo medio tra l'OLT e lo sviluppo di malattie linfoproliferative era 2 anni (range 0.4-6 anni). L'intervallo medio tra OLT e sviluppo di cancro polmonare era 0.8 anni (range 0.6-1 anno). L'intervallo medio tra OLT e lo sviluppo di tumore al seno era 3 anni (range 1- 12 anni). Dei tumori del tratto rinomaxillo facciale , 5 sono stati diagnosticati entro 1.4 anni (range 1- 3.5 anni) dal trapianto. Tra i 4 casi di tumore urogenitale, 3 sono stati scoperti entro 11.2 anni (2.9- 16.2) dal trapianto .

#### Analisi della sopravvivenza

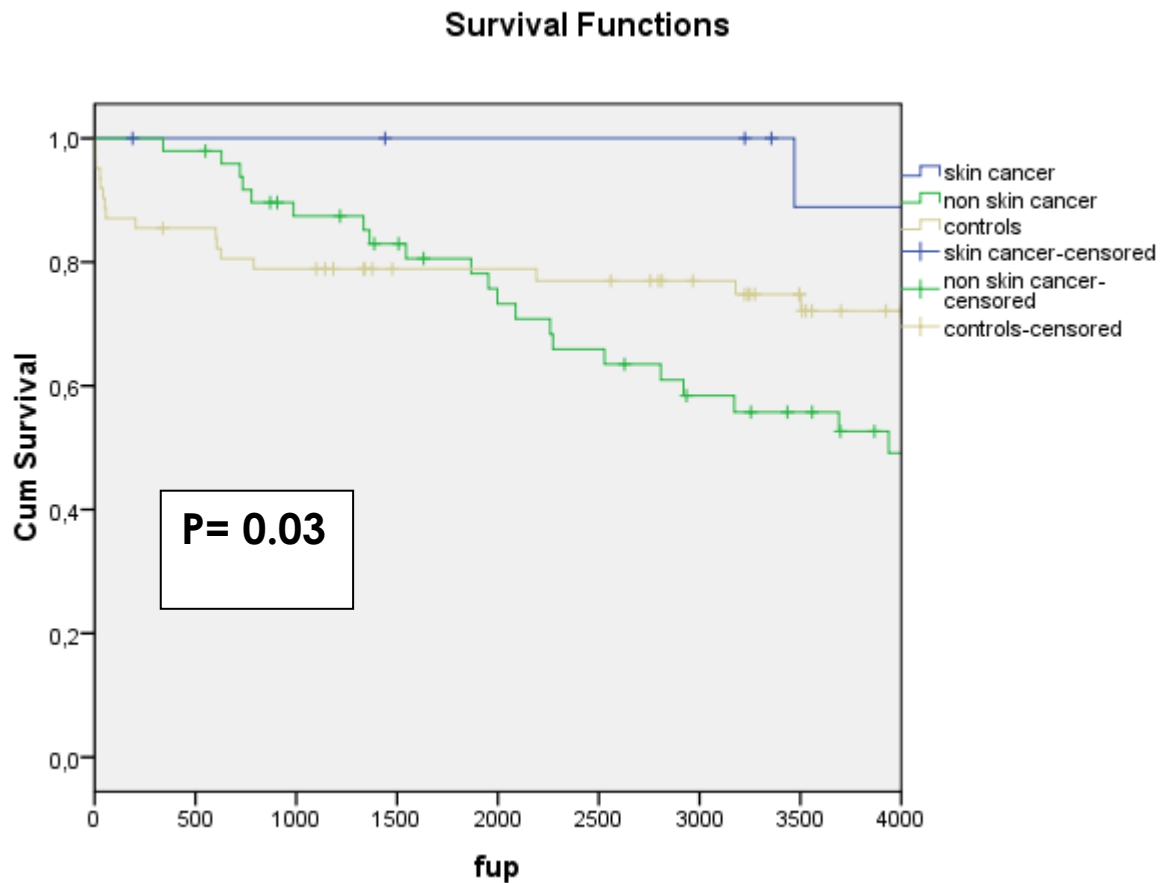
Il follow-up mediano dopo OLT era 8.8 anni (range, 0.5 – 19.6 anni) per i casi e 8.9 anni (range, 0- 21 anni) per i controlli. All'ultimo follow-up, 36.9% dei casi e 27.6% dei controlli sono deceduti. La sopravvivenza secondo Kaplan-Meier a 5 e 10 anni per i casi era 84.6% e 62.8%, rispettivamente, versus 78.9% e 72.1%, rispettivamente per i controlli (p= ns -sec. Log-rank test)(Fig.1).

Figura 1. Sopravvivenza a 5 e 10 anni dei casi e dei controlli.



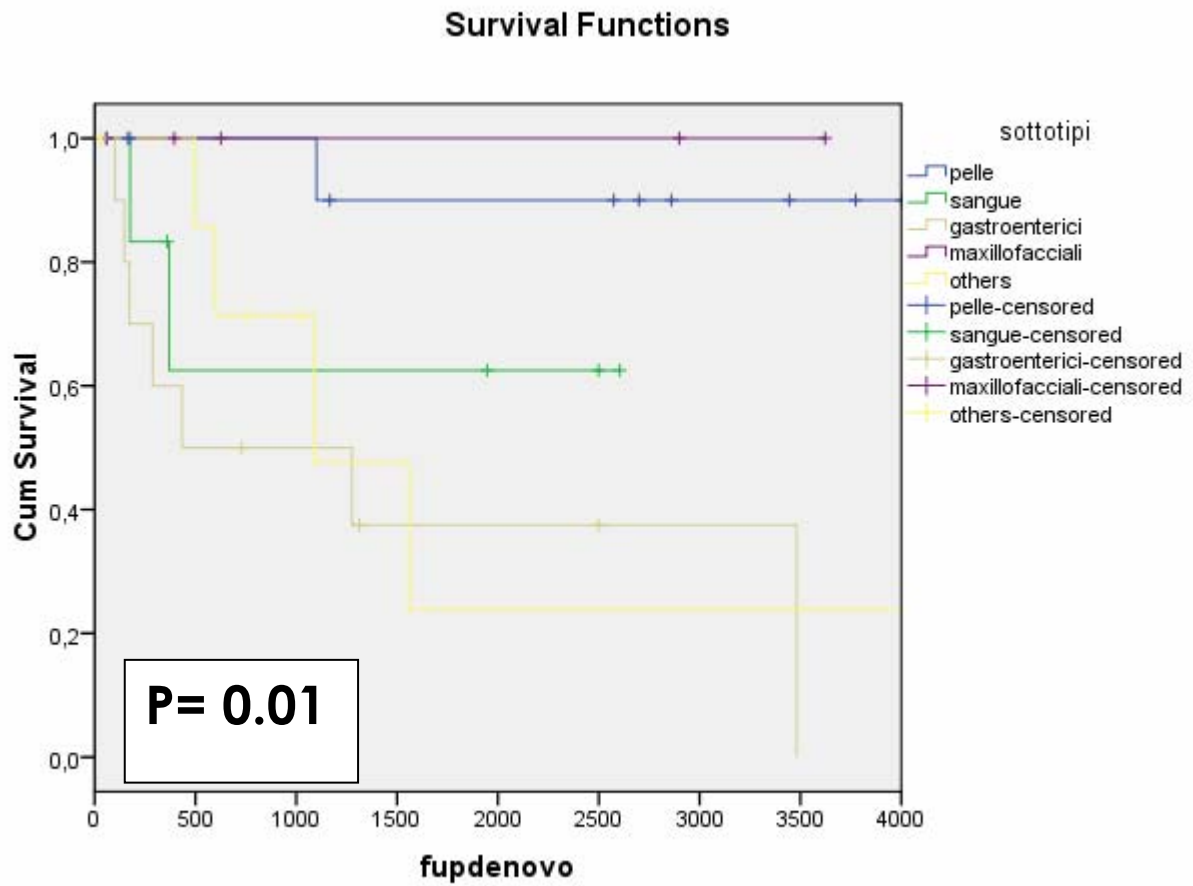
La sopravvivenza differiva tra i casi di tumore della pelle e di tumore non della pelle. La figura 2 mostra la curva di sopravvivenza di Kaplan-Meier per i tumori non della pelle vs. quelli della pelle. I pazienti con tumore della pelle avevano una sopravvivenza post-OLT simile ai controlli, ma significativamente meglio di quelli con tumore non della pelle ( $p=0.03$ ). Considerando i casi, 23 dei 24 deceduti erano dovuti a tumori non della pelle

Figura 2. Sopravvivenza a 5 e 10 anni dei tumori de novo della pelle vs de novo non della pelle.



La Figura 3 mostra la sopravvivenza Kaplan-Meier dal momento della diagnosi di tumore de novo stratificata per tipo di tumore. Si è evidenziata pertanto una differenza statisticamente significativa nella sopravvivenza tra i differenti tipi di tumore rispetto a quelli della pelle ( $p= 0.01$  sec. Log-rank test). La sopravvivenza a 5 anni dopo diagnosi di tumore per pazienti con localizzazione gastrointestinale ed ematologica era 37% vs 65% , rispettivamente; la sopravvivenza a 10 anni mostra inoltre che nessun paziente è vivente a 10 anni dall'insorgenza della neoplasia gastroenterica vs. il 65% dei pazienti che avevano sviluppato un tumore ematologico.

Figura 3.



## DISCUSSIONE

In questo studio di una singola istituzione comprendente 1300 riceventi di trapianto di fegato in un periodo di 23 anni, i tumori de novo sono stati identificati essere pari al 5% dei pazienti con un intervallo medio di 4.17 anni dal momento del trapianto. Questo tasso d'incidenza è tra i più bassi riportati in letteratura (2-14). Solamente Saigal et al. (11) e Kelly et al. (5) hanno riportato una più bassa incidenza intorno al 2.6% e 4.3%, rispettivamente, ma nessuno di questi studi includeva i tumori linfoidi. Herrero et al. del gruppo spagnolo di Pamplona (14) hanno riportato la più alta incidenza di tumori post-trapianto intorno al 26% in una coorte di 187 riceventi di OLT. Una possibile spiegazione per tale discrepanza tra le serie riportate del tasso di incidenza dei tumori de novo può essere ricercata nella differenza in termine di numerosità del campione dei pazienti preso in esame e nella lunghezza del follow-up, dal momento che l'incidenza dei tumori de novo aumenta con il passare del tempo (8), il tipo di immunosoppressione usata, ed altri potenziali fattori di rischio per lo sviluppo di tali tumori. Sebbene fattori di rischio di sviluppo di tumori dopo trapianto non sono stati ben ancora elucidati, la malattia alcolica epatica appare essere il fattore di rischio più spesso citato(11,13,16,17). Nella nostra serie, la malattia alcolica epatica rappresenta una delle tre principali cause di malattia epatica tra quelle alla base dei pazienti che hanno poi sviluppato tumori de novo. È stato riportato come l'alcool aumenti le aberrazioni cariotipiche cromosomiali, l'espressione del TGF- $\beta$  in una varietà di cellule, e la soppressione dell'immunità nei confronti del cancro e delle infezioni nei modelli sperimentali (9). Nello studio presente, i casi ed i controlli non sono significativamente differenti in termini di regime immunosoppressivo e numero di episodi di rigetto. La lunghezza del follow-up rinforza ancora di più il dato di bassa incidenza di neoplasia de novo dopo OLT dal momento che la lunghezza mediana del follow-up nel nostro studio è pari a 8 anni, ed è paragonabile alle coorti di altri studi in letteratura. Nella nostra casistica, il tumore della pelle rappresenta il più comune tumore de novo, ed è in linea con i recenti report della letteratura (5,8,12,14). La sopravvivenza di tali tumori de novo non è differente dal gruppo di controllo. In base all'esperienza dell'Università di Pittsburgh, le malattie linfoproliferative post-OLT (PTLD)

erano il tipo più comune di neoplasia post-OLT (6,9). Bisogna tenere in considerazione che il lavoro dell'Università di Pittsburgh è tra i pochi report della letteratura sullo sviluppo delle neoplasie post-OLT, che prende in considerazione una popolazione di riceventi di OLT pediatrici, nei quali la frequenza di PTLD è stata riportata essere significativamente più alta che nella popolazione adulta (9,18). Nella nostra serie di malati sono stati evidenziati pochi casi di malattia linfoproliferativa post-OLT EBV-relata, ma bisogna anche valutare che la sensibilità della diagnosi di EBV è cambiata nel corso del tempo della popolazione oggetto di tale studio e quindi potremmo anche avere sottostimato la sua reale incidenza. Il presente studio è stato eseguito mediante una analisi caso-controllo in modo da meglio definire l'impatto dei tumori de novo sulla mortalità tardiva dopo OLT (Fig. 2 e 3). Sebbene i tumori de novo siano stati suggeriti in alcuni studi come una causa maggiore di mortalità tardiva dopo OLT (15,17), non ci sono studi pubblicati che prendano in considerazione la sopravvivenza a lungo termine paragonando i pazienti che hanno sviluppato tumori de novo post-OLT e quelli che non li hanno sviluppati. I nostri dati suggeriscono anche che solamente i pazienti che sviluppano tumori non della pelle hanno una diminuzione della sopravvivenza a lungo termine, mentre i pazienti che hanno sviluppato tumori della pelle dopo OLT, hanno una sopravvivenza simile quando paragonati ai controlli (Fig.3). Similarmente, Jain et al. (6) ed Herrero et al. (14) hanno riportato che la sopravvivenza dopo la diagnosi di tumore de novo era meglio per quelli della pelle rispetto a quelli a localizzazione di altri organi solidi. Un dato inaspettato nel nostro studio è l'alta proporzione di tumori del tratto gastrointestinale pari al 33.3% di tumori non della pelle, non linfoidi. L'incidenza di tumori del tratto gastro-enterico riportata tra i tumori solidi, dei tumori non linfoidi in altre serie più grandi varia dal 7 al 28% (6,9,11-14). Inoltre, l'intervallo tra OLT e la diagnosi di neoplasia del tratto gastroenterico è apparsa essere breve paragonata con altri tipi di cancro. Nonostante il routinario screening del cancro colo rettale per tutti i pazienti candidati al trapianto presso il nostro Centro trapianti, può essere possibile che sono stati sottostimati al momento del trapianto. La nostra policy di screening dei tumori solidi pre-trapianto non è cambiata durante il periodo dello studio ed includeva una colonscopia annuale per tutti i

pazienti con più di 50 anni di età, aggiornata a non oltre 1 anno prima del trapianto. Nel nostro studio, la prognosi per i pazienti con tumori gastrointestinale dopo OLT era estremamente bassa con una sopravvivenza del 37% a 5 anni dopo la diagnosi. Alla luce di questi dati, noi raccomandiamo caldamente una colonscopia di controllo almeno ogni due anni post-trapianto per lo screening del cancro intestinale. In conclusione, questo studio conferma che i pazienti con tumori post OLT non della pelle hanno una diminuita sopravvivenza a lungo termine a 10 anni dal trapianto quando paragonati con quelli del gruppo di controllo o con i pazienti che hanno sviluppato un tumore post OLT a localizzazione cutanea. Ulteriori studi sono necessari sul tempo di sviluppo e sulla sopravvivenza dei differenti sottotipi di cancro dopo OLT e debbono essere sviluppati anche migliori protocolli di sorveglianza per le neoplasie per i sopravvissuti a medio e lungo termine dal trapianto.



## BIBLIOGRAFIA

1. Yao FYK, Bass NM. Liver transplantation. In: Yamada T, Alpers DH, Kaplowitz N, Laine L, Owyang C, Powell DW eds. Textbook of Gastroenterology, 4th edn. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003: 2468.
2. Sheil AGR. Malignancy following liver transplantation: a report from the Australian combined liver transplant registry. *Transplant Proc* 1995; 27: 1247.
3. Penn I. Posttransplantation de novo tumors in liver allograft recipients. *Liver Transpl Surg* 1996; 2: 52.
4. Jonas S, Rayes N, Neumann U et al. De novo malignancies after liver transplantation using tacrolimus-based protocols or cyclosporine-based quadruple immunosuppression with an interleukin-2 receptor antibody or antithymocyte globulin. *Cancer* 1997; 80: 1141.
5. Kelly DM, Emre S, Guy SR, Miller CM, Schwartz MR, Sheiner PA. Liver transplant recipients are not at increased risk for non-lymphoid solid organ tumors. *Cancer* 1998; 83: 1237.
6. Jain AB, Yee LD, Nalesnik MA et al. Comparative incidence of de novo nonlymphoid malignancies after liver transplantation under tacrolimus using Surveillance Epidemiologic End Results data. *Transplantation* 1998; 66:1193.
7. Galve ML, Cuervas-Mons V, Figueras J et al. Incidence and outcome of de novo malignancies after liver transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 1275.
8. Haagsma EB, Hagens VE, Schaapveld M et al. Increased cancer risk after liver transplantation: a population-based study. *J Hepatol* 2001; 34: 84.
9. Fung JJ, Jain A, Kwak EJ, Kusne S, Dvorchik I, Eghtesad B. De novo malignancies after liver transplantation: a major cause of late death. *Liver Transpl* 2001;11(Suppl 1): S109.
10. Jimenez C, Rodriguez D, Marques E et al. De novo tumors after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 2002; 34: 297.

11. Saigal S, Norris S, Muiesan P, Rela M, Heaton N, O'Grady J. Evidence of differential risk for posttransplantation malignancy based on pretransplantation cause in patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl* 2002; 8: 484.
12. Sanchez EQ, Marubashi S, Jung G et al. De novo tumors after liver transplantation: a single-institution experience. *Liver Transpl* 2002; 8: 285.
13. Benlloch S, Berenguar M, Prieto M et al. De novo internal neoplasms after liver transplantation: increased risk and aggressive behavior in recent years? *Am J Transplant* 2004; 4: 596.
14. Herrero JJ, Lorenzo M, Quiroga J et al. De novo neoplasia after liver transplantation: an analysis of risk factors and influence on survival. *Liver Transpl* 2005; 11:89.
15. Pruthi J, Medkiff KA, Esrason KT et al. Analysis of causes of death in liver transplant recipients who survived more than 3 years. *Liver Transpl* 2001; 7: 811.
16. Kauffman HM, Cherikh WS, Cheng Y. Posttransplantation malignancies: a problem, a challenge, and an opportunity. *Liver Transpl* 2002; 8: 488.
17. Jain A, DiMartini A, Kashyap R, Youk A, Rohal S, Fung J. Long-term follow-up after liver transplantation for alcoholic liver disease under tacrolimus. *Transplantation* 2000; 70: 1335.
18. Leblond V, Choquet S. Lymphoproliferative disorders after liver transplantation. *J Hepatol* 2004; 40: 728.