

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE GENERALI E DEI SERVIZI.
PROGETTO IN ULTRASONOLOGIA UMANA E VETERINARIA.

Ciclo XXVII

Settore Concorsuale di afferenza: 06/B1

Settore Scientifico disciplinare: MED/09

Cambiamenti epidemiologici dell'epatocarcinoma agli inizi del XXI secolo: dal ruolo emergente delle malattie dismetaboliche quali fattori eziopatogenetici, alla necessità di revisione del sistema di stadiazione.

Presentata da: **Dott.ssa Anna Pecorelli**

Coordinatore Dottorato

Chiar.mo Prof. Nicola Rizzo

Relatore

Prof. Fabio Piscaglia

Correlatore

Dr. Alessandro Granito

Esame finale anno 2015

Indice

Introduzione e scopi.....	Pagina 3
Pazienti e metodi.....	Pagina 6
Studio 1	Pagina 6
Analisi statistica.....	Pagina 6
Risultati.....	Pagina 6
Studio 2	Pagina 9
Analisi statistica.....	Pagina 10
Risultati.....	Pagina 11
Studio 3	Pagina 17
Analisi statistica.....	Pagina 18
Risultati.....	Pagina 19
Studio 4	Pagina 26
Analisi statistica.....	Pagina 27
Risultati.....	Pagina 28
Discussione.....	Pagina 35
Conclusioni.....	Pagina 39
Bibliografia.....	Pagina 40

Introduzione e scopi

L'epatocarcinoma (HCC-hepatocellular carcinoma) è la neoplasia primitiva del fegato di più frequente riscontro, rappresentando oltre il 90% delle lesioni epatiche maligne primitive.

Incidenza e mortalità stanno progressivamente e parallelamente aumentando. Si stima che nel 2012 siano stati circa 782.000 i nuovi casi di HCC nel mondo e che attualmente rappresenti la seconda causa di morte per cancro (la quinta causa tra gli uomini e la nona tra le donne) [1].

La prognosi dell'HCC è infausta essendo responsabile di circa 750.000 decessi/anno, con una mortalità che in alcune aree geografiche eguaglia la sua incidenza [1]. L'elevata letalità è la conseguenza di una larga quota di casi tuttora, ad oggi, diagnosticati in uno stadio avanzato.

In oltre il 90% dei casi, l'HCC insorge nel contesto di una epatopatia cronica ad evoluzione cirrotica, rappresentando la principale causa di morte in questa categoria di pazienti [2]. Nei paesi Occidentali l'infezione cronica da virus dell'epatite C (HCV) rappresenta il più comune fattore di rischio per lo sviluppo di HCC, seguiti dal consumo cronico di alcol e dall'infezione da epatite B (HBV). Altri fattori eziopatogenetici sono responsabili della carcinogenesi dell'epatocarcinoma. Tra questi sta assumendo un ruolo emergente, la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) una condizione che da malattia cronica del fegato può progredire alla sua manifestazione clinica più avanzata, la steato-epatite non alcolica (NASH), fino ad un quadro di cirrosi conclamata [3]. La NAFLD rappresenta la manifestazione epatica della sindrome metabolica e la sua prevalenza sta aumentando rapidamente, soprattutto nei paesi occidentali, parallelamente all'aumento delle malattie dismetaboliche e al diabete mellito di tipo 2. Studi recenti mostrano inoltre come sia l'obesità che mellito di tipo 2 siano fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di HCC [4]. Tuttavia in letteratura c'è ancora scarsa conoscenza in merito al rapporto tra NAFLD e le caratteristiche tumorali alla diagnosi, o in merito all'applicabilità di trattamenti potenzialmente curativi e non in questi pazienti, e soprattutto manca un confronto con le caratteristiche dell'HCC insorto su una epatopatie virale.

Il sistema di stadiazione dell'HCC attualmente utilizzato nei paesi occidentali ed adottato dalle linee guida sia americane [5] che europee [6] è il Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) [7;8]. Si tratta di un sistema di stadiazione integrato in quanto, per definire gli stadi, prende in considerazione variabili legate sia all'estensione tumorale (in particolare il numero dei noduli, le dimensioni del nodulo maggiore, la presenza di invasione vascolare e di metastasi a distanza) sia la funzione epatica espressa attraverso lo score di Child-Pugh. Un'innovazione apportata dal BCLC rispetto agli altri sistemi di stadiazione proposti, è l'introduzione, tra le variabili, del Performance Status che definisce la presenza o meno di sindrome costituzionale legata al tumore, classificata secondo la Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) come segue [9]:

PS 0= piena attività, senza limitazioni nello svolgere le normali occupazioni.

PS 1= limitazione nelle attività che richiedono un pesante sforzo fisico, ma nessuna limitazione nello svolgere le occupazioni quotidiane o il lavoro d'ufficio.

PS 2= presenza di disturbi in grado di attendere al lavoro d'ufficio per più del 50% del tempo. Nessuna limitazione nella cura personale.

PS 3= capace di provvedere alla sola cura personale. Costretto a letto o in poltrona per più del 50% della giornata.

PS 4= completamente non autosufficiente. Costretto a letto o in poltrona.

Il BCLC identifica cinque diversi stadi: very early (BCLC-0), precoce (BCLC-A), intermedio (BCLC-B), avanzato (BCLC-C) e terminale (BCLC-D) e la sua utilità non è solo quella di definire la prognosi del paziente ma anche di abbinare per ciascuno stadio il tipo di trattamento ritenuto più idoneo o efficace.

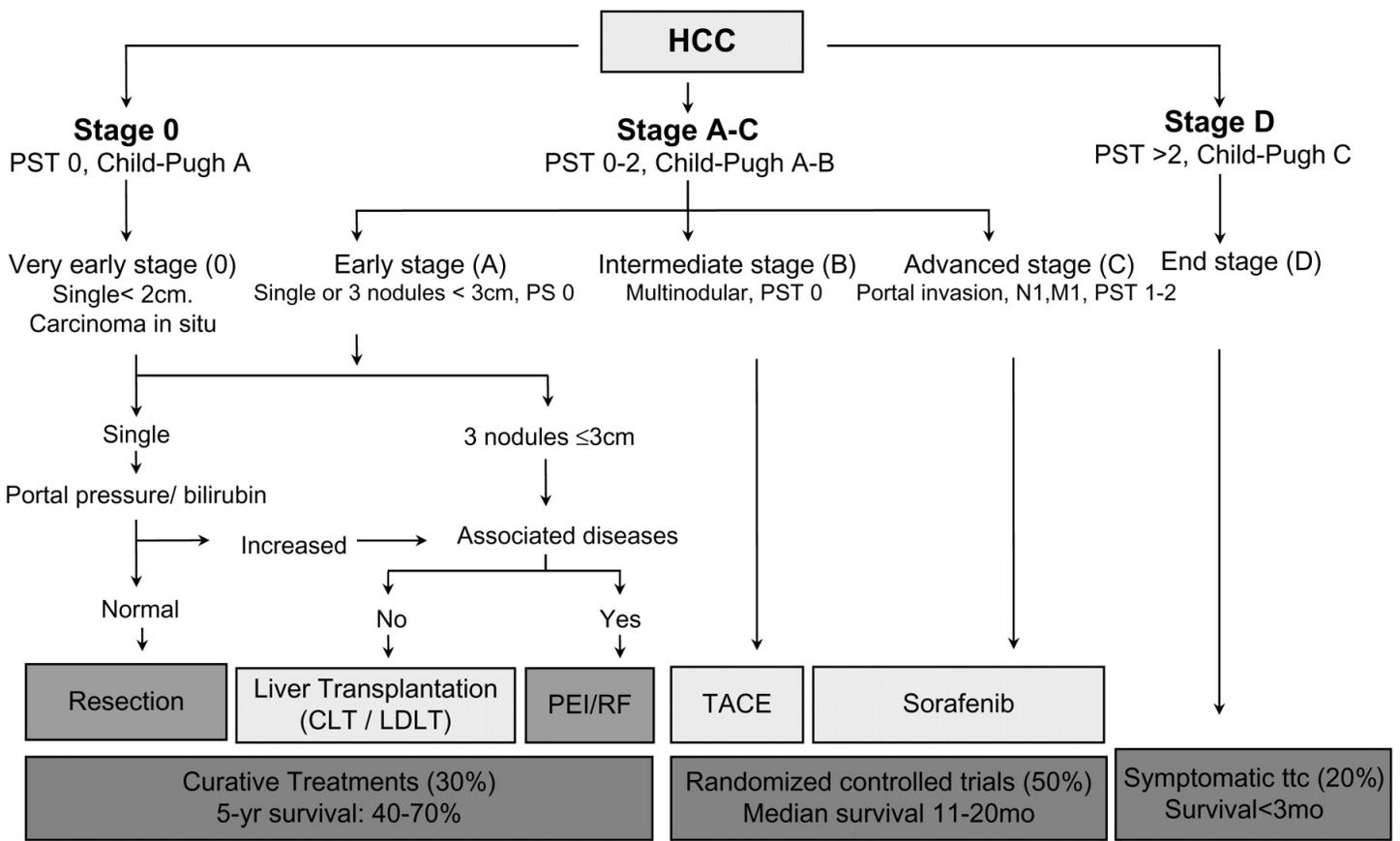


Figura 1. Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) staging system. Llovet J M et al. JNCI J Natl Cancer Inst 2008;100:698-711

Nonostante i progressi apportati dal BCLC nella gestione del paziente affetto da HCC, rimangono numerosi punti critici in questo sistema di stadiazione, ideato ormai oltre 10 anni fa [8], tra cui il ruolo controverso del performance status [10;11] e l'eterogeneità dei pazienti in stadio intermedio [12].

In merito al ruolo dell'ECOG, la scala di PS è stata disegnata su pazienti oncologici nel 1982 ma manca ancora una validazione dei vari gradi del PS nel contesto delle malattie epatiche. Nella maggior parte dei casi, come sopra citato, l'HCC insorge nel contesto di un fegato cirrotico, condizione che già di per sé può determinare un peggioramento del PS. Secondo il BCLC un PS=1 classifica un paziente come avanzato, indipendentemente dall'estensione tumorale e dalla funzione epatica (Figura 1), pregiudicando in questo modo un trattamento di tipo curativo. Nella pratica clinica quotidiana è spesso difficile dirimere se un lieve peggioramento del PS (PS=1), che indica una lieve restrizione delle sole attività che richiedono un intenso sforzo fisico, sia da attribuire alla presenza di HCC, alla malattia epatica sottostante o alla presenza di altre condizioni cliniche concomitanti e non correlate al tumore.

In merito invece alla criticità dello stadio intermedio, occorre inizialmente puntualizzare che la principale innovazione del BCLC, rispetto ad altri sistemi di stadiazione, è stata quella di fornire un algoritmo terapeutico da abbinare ad ogni stadio tumorale. Tuttavia, grazie ai continui progressi nel management dell'HCC, è risultato evidente, nella comune pratica clinica, come non sia sempre possibile seguire tale algoritmo, sottoponendo il singolo paziente ad un trattamento diverso da quanto suggerito dalle linee guida. Questo avviene soprattutto per lo stadio intermedio (BCLC-B) che comprende il gruppo più eterogeneo di pazienti. Infatti, rientrano in questo stadio pazienti che possono presentare un nodulo singolo di grandi dimensioni, ritenuto non operabile, o HCC multinodulare (più di tre noduli di cui il maggiore di dimensioni superiori ai 3cm), senza invasione vascolare né metastasi a distanza, con funzione epatica ben conservata (Child Pugh A) oppure modicamente compromessa (Child Pugh B) in assenza di sindrome costituzionale (PS 0). Per questi pazienti il trattamento raccomandato dalle linee guida è la chemio-embolizzazione trans-arteriosa

(TACE) (livello di evidenza 1iiA, raccomandazione 1A), secondo il risultato di una meta-analisi di sei trial randomizzati controllati, che ha mostrato un aumento della sopravvivenza da 16 a 20 mesi per i pazienti trattati con TACE rispetto a placebo [13]. Tuttavia alcuni pazienti appartenenti “tecnicamente” allo stadio BCLC-B potrebbero beneficiare di trattamenti potenzialmente curativi, come la radiofrequenza, la resezione epatica o anche il trapianto di fegato; mentre, dall’altra parte, per altri la chemioembolizzazione potrebbe rappresentare un over-treatment o essere addirittura controindicata. Per questo motivo un gruppo di esperti ha recentemente proposto una sotto-stadiazione dello stadio intermedio, non ancora validata. Tale sotto-stadiazione è basata su parametri che comprendono la funzionalità epatica, espressa dallo score Child-Pugh, la presenza di sintomi legati al tumore, definiti dal Performance Status, e l’estensione tumorale, definita attraverso i criteri *up to seven* (Ut7). In particolare, i criteri Ut7 sono derivati da una esperienza retrospettiva multicentrica condotta su una coorte di pazienti trapiantati [14]. I pazienti con HCC all’interno di questo criterio, definito come la somma tra il numero dei noduli e le dimensioni del maggiore che deve essere non superiore a sette (es. 2 noduli con diametro massimo di 5 cm; $2+5=7 \rightarrow$ Ut7-IN; 3 noduli con diametro massimo di 5 cm; $3+5=8 \rightarrow$ Ut7-OUT) hanno sopravvivenze a 5 anni dal trapianto sovrapponibili ai pazienti trapiantati all’interno dei criteri di Milano (1 nodulo di diametro non superiore a 5cm, max 3 noduli non superiori a 3cm) [14]. Sono stati così individuati quattro sottostadi e per ciascuno di essi è stata proposta la strategia terapeutica più efficace:

BCLC-B sub-stage	B1	B2	B3	B4
CPT score	5-6-7	5-6	7	8-9
Beyond Milan and within Ut7	IN	OUT	OUT	ANY
ECOG-PS	0	0	0	0-1
PVT	NO	NO	NO	NO
1° treatment	TACE	TACE or TARE		BSC
Alternative	LT TACE+ablation	Sorafenib	Trials clinici, TACE, Sorafenib	LT

Figura 2. Sottostadiazione BCLC-B.

Sulla base di queste premesse, la presente tesi ha quindi più scopi:

- 1) Analizzare i cambiamenti epidemiologici avvenuti nel campo dell’epatocarcinoma negli ultimi 10 anni;
- 2) Confrontare le caratteristiche cliniche dell’HCC insorto nel contesto di steatosi epatica non alcolica (NAFLD) con l’HCC su cirrosi epatica HCV- relata;
- 3) Valutare il ruolo prognostico delle variabili cliniche che contribuiscono a definire il BCLC, con una particolare attenzione al Performance Status;
- 4) Validare il sistema di sotto-stadiazione dello stadio intermedio (BCLC-B) proposto;
- 5) Valutare il tipo di trattamento eseguito in una larga coorte di pazienti in stadio intermedio ed il loro outcome.

Pazienti e metodi

Gli studi riportati sono stati disegnati come studi di coorte e condotti con analisi retrospettiva del database ITA.LI.CA. (ITalian LIver CAncer), comprendente 5140 pazienti arruolati consecutivamente tra il 1° Gennaio 1987 e il 31 Dicembre 2012 (ultimo aggiornamento del database), da parte di 21 centri Italiani diversi.

Tutte le analisi sono state eseguite con il software statistico SPSS v13.0 (Apache Software Foundation, Chicago, Illinois).

Studio 1:

Analisi dei cambiamenti epidemiologici avvenuti nel campo dell'epatocarcinoma negli ultimi 10 anni.

Per lo scopo di questo studio sono stati selezionati 3658 pazienti arruolati tra il 1° Gennaio 2001, data di entrata in vigore nella pratica clinica del sistema di stadiazione BCLC, e il 31 Dicembre 2012 data dell'ultimo aggiornamento del database. I pazienti sono stati suddivisi in tre gruppi sulla base della data della diagnosi di HCC: primo periodo (G1) 2001-2004 (954 pazienti), secondo periodo (G2) 2005-2008 (1122 pazienti), terzo periodo (G3) 2009-2012 (1582 pazienti).

Per ogni paziente sono state analizzate le seguenti variabili: età, sesso, eziologia della malattia di fegato, tipo di diagnosi dell'HCC (se in sorveglianza, se casuale o se sintomatica), intervallo della sorveglianza, funzione epatica (espressa dallo score di Child-Pugh), valori di alfa-fetoproteina (AFP), stadio tumorale, tipo di trattamento, sopravvivenza.

Analisi statistica: le variabili continue, espresse come media e deviazione standard (SD), sono state confrontate usando l'analisi della varianza, mentre le variabili categoriche, espresse come numero assoluto e percentuale, sono state confrontate con il test per il trend di Cochran-Armitage.

La sopravvivenza è stata definita come l'intervallo tra la diagnosi di HCC e la morte o la fine del follow-up e riportata come mediana ed intervallo di confidenza al 95% (95% CI). Le curve sono state costruite con il metodo di Kaplan-Meier e confrontate con il log-rank test. Un p-value inferiore a 0.05 è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati:

Fattori eziologici, demografici e funzionalità epatica alla diagnosi.

Passando dal primo all'ultimo quadriennio si assiste ad un progressivo incremento dell'età al momento della diagnosi di HCC, mentre la predominanza del sesso maschile non cambia (Tabella 1).

L'eziologia HCV relata permane il principale fattore di rischio per lo sviluppo di HCC ma la sua prevalenza progressivamente diminuisce attraverso i tre periodi analizzati, a fronte di un aumento dei casi di HCC insorti nel contesto di una epatopatia dismetabolica (NAFLD/NASH) o di una cirrosi criptogenetica, soprattutto dopo il 2008. L'infezione da HBV, la co-infezione HBV-HCV e il consumo alcolico, non mostrano un trend significativo nel tempo (Figura 3).

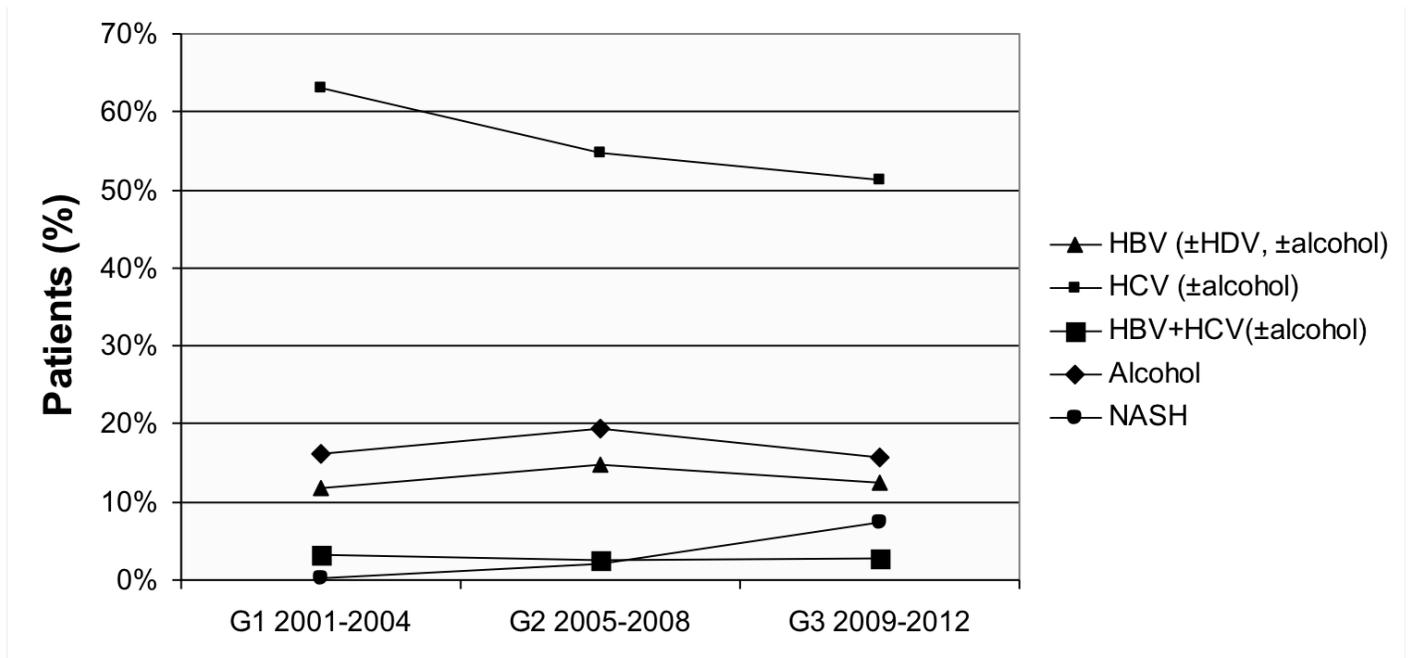


Figura 3. Trend temporale delle eziologie attraverso i quadrienni.

In ciascun periodo, la funzione epatica è ben conservata (classe A di Child-Pugh) al momento della diagnosi, con un incremento della prevalenza nel quadriennio 2009-2012, a scapito di una riduzione dei casi diagnosticati in classe B o C di Child-Pugh (Tabella 1)

Tabella 1. Caratteristiche demografiche, eziologiche e di funzionalità epatica della popolazione in studio suddivisa nei tre quadrienni.

	All patients 3658	2001-2004 954 (26.1%)	2005-2008 1122 (30.7%)	2009-2012 1582 (43.2%)	<i>p value</i>
Age (mean±SD)	3655 (99.9%)	66.9±9.5	67.4±10.2	68.0±10.6	<0.050
Male sex (N;%)	2779 (76.0)	720 (75.5)	841 (75.0)	1218 (77.0)	0.754
Aetiology					
HBV (N;%)	446 (12.9)	112 (11.7)	165 (14.7)	196 (12.4)	0.562
HCV (N;%)	2028 (55.4)	601 (63.0)	615 (54.8)	812 (51.3)	<0.0001
HBV+HCV (N;%)	102 (2.8)	31 (3.2)	29 (2.6)	42 (2.7)	0.149
Alcohol (N;%)	619 (16.9)	155 (16.2)	217 (19.3)	247 (15.6)	0.442
NASH (N;%)	145 (4.0)	3 (0.3)	24 (2.1)	118 (7.5)	<0.0001
Cryptogenic (N;%)	111 (3.0)	10 (1.0)	20 (1.8)	81 (5.1)	<0.0001
Other (N;%)	98 (2.7)	36 (3.8)	38 (3.4)	24 (1.5)	<0.0001
Child-Pugh Class					
A (N;%)	1760 (48.1)	427 (53.4)	488 (53.5)	845 (64.8)	<0.0001
B (N;%)	998 (27.3)	293 (36.6)	321 (35.2)	384 (29.4)	0.003
C (N;%)	258 (7.0)	80 (10.0)	103 (11.3)	75 (5.8)	0.001

Modalità di diagnosi, stadio tumorale e trattamento

Nonostante la predominanza dell'eziologia virale, le diagnosi di HCC poste in sorveglianza rappresentano poco più del 50% dei casi, senza differenze nei tre periodi. Tra questi si osserva un aumento progressivo dei casi che eseguono ecografia semestrale. Parallelamente si assiste a un aumento modesto ma statisticamente significativo dei casi diagnosticati quando sintomatici (Tabella 2).

Per quanto riguarda lo stadio tumorale, nell'ultimo quadriennio si registra un aumento dei casi di HCC diagnosticati in stadio very early (BCLC-0) a fronte di una riduzione dei casi diagnosticati in stadio intermedio

(BCLC-B) e terminale (BCLC-D). Le diagnosi in stadio precoce e avanzato non mostrano un trend temporale (Tabella 2, Figura 4).

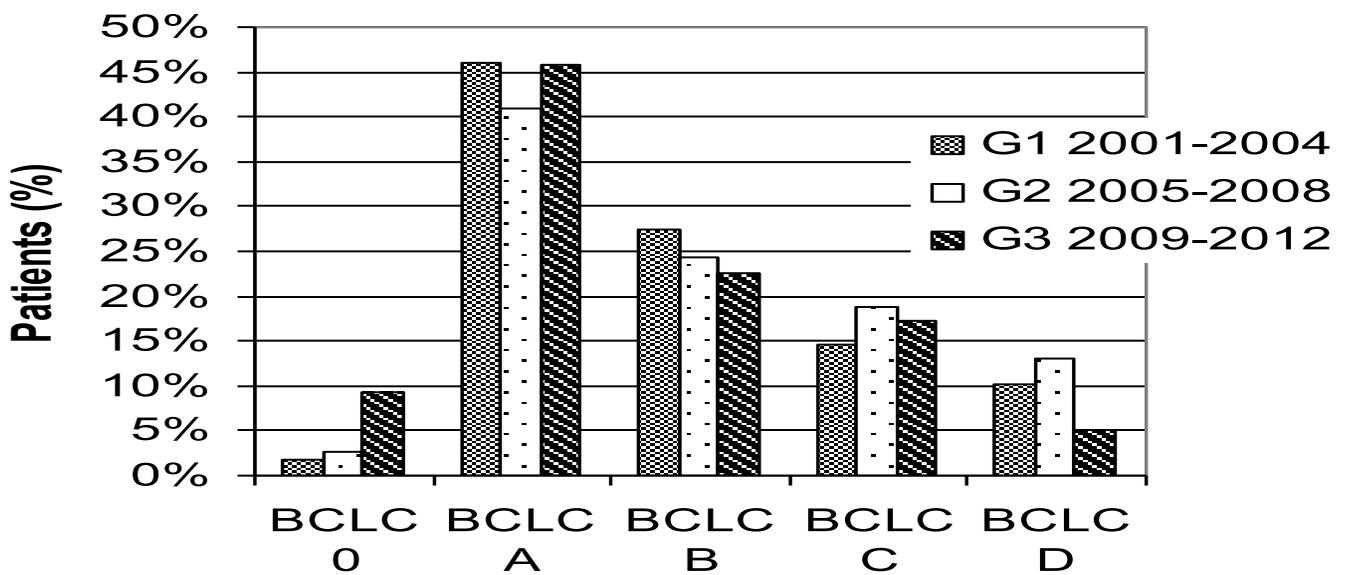


Figura 4. Trend temporale degli stadi attraverso i tre quadrienni.

In tutti i tre periodi, il trapianto di fegato rappresenta il main treatment in una minima percentuale dei casi con un trend in riduzione. Aumentano i casi trattati con radiofrequenza, a scapito di una riduzione del trattamento con PEI. Permangono stabili i trattamenti di resezione e TACE.

Interessante notare come, dopo il 2008, i pazienti trattati con Sorafenib sostituiscano perfettamente la percentuale di pazienti trattati in precedenza con altre terapie (Tabella 2).

Tabella 2. Caratteristiche tumorali e trattamenti della popolazione in studio suddivisa nei tre quadrienni.

	Total	2001-2004	2005-2008	2009-2012	<i>p value</i>
	3658	954 (26.1%)	1122 (30.7%)	1582 (43.2%)	
Modality of diagnosis					
Surveillance (N;%)	1909 (52.2)	505 (52.9)	599 (53.4)	805 (50.9)	0.156
Incidental (N;%)	1053 (28.8)	280 (29.4)	310 (27.6)	463 (29.3)	0.611
Symptomatic (N;%)	470 (12.8)	104 (10.9)	133 (11.9)	233 (14.7)	<0.013
BCLC stage					
O (N;%)	192 (5.2)	17 (1.8)	30 (2.7)	145 (9.2)	<0.0001
A (N;%)	1625 (44.4)	439 (46.0)	460 (41.0)	726 (45.9)	0.328
B (N;%)	891 (24.3)	262 (27.5)	273 (24.3)	356 (22.5)	<0.010
C (N;%)	625 (17.1)	140 (14.7)	211 (18.8)	274 (17.3)	0.279
D (N;%)	324 (8.8)	96 (10.1)	147 (13.1)	81 (5.1)	0.0001
Treatment					
Transplant (N;%)	89 (2.4)	39 (4.1)	22 (2.0)	28 (1.8)	0.007
Resection (N;%)	433 (11.8)	118 (12.4)	117 (10.4)	198 (12.5)	0.483
RF (N;%)	608 (16.6)	138 (14.5)	184 (16.4)	286 (18.1)	0.017
PEI (N;%)	479 (13.1)	209 (21.9)	151 (13.5)	119 (7.5)	<0.0001
TACE (N;%)	829 (22.7)	201 (21.1)	255 (22.7)	373 (23.6)	0.581
Sorafenib (N;%)	126 (3.4)	0	4 (0.4)	122 (7.7)	<0.0001
Other (N;%)	286 (7.8)	104 (10.9)	122 (10.9)	60 (3.8)	<0.0001
Palliation (N;%)	330 (9.0)	80 (8.4)	89 (7.9)	161 (10.2)	<0.0001

Sopravvivenza

Nell'ultimo quadriennio 2009-2012, si assiste ad un aumento dell'overall survival, con sopravvivenze mediane nei tre periodi di 34 mesi (95% CI 30.69-37.31), 30 mesi (95% CI 27.10-32.90) e 40 mesi (95% CI 34.43-45.56), rispettivamente.

Le corrispondenti percentuali di sopravvivenza a 1 e 3 anni sono risultate del 77.7%, 77.3% e 83.5% ($p=0.046$) e 50.4%, 47.9% e 59.3% ($p<0.0001$) rispettivamente (Figura 5).

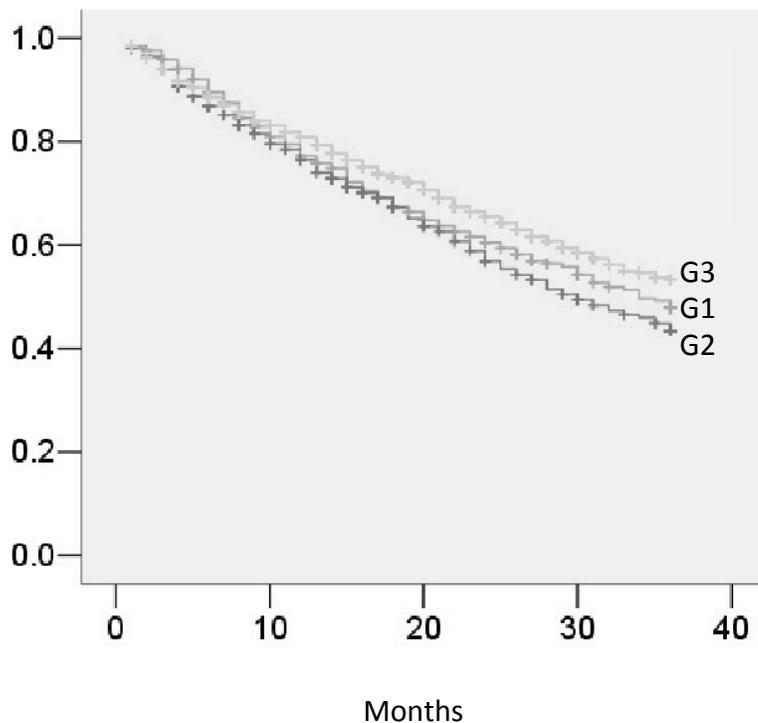


Figura 5. Curve di sopravvivenza a tre anni della popolazione in studio suddivisa nei tre quadrienni.

Studio 2:

Confronto delle caratteristiche cliniche dell'HCC insorto nel contesto di steatosi epatica non alcolica (NAFLD) con l'HCC su cirrosi epatica HCV- relata.

Per lo scopo di questo studio sono stati arruolati consecutivamente i pazienti affetti da HCC insorto su steatosi epatica non alcolica (NAFLD) nel periodo compreso tra il 1° Gennaio 2010 ed il 31 Dicembre 2012, da parte di diciassette centri italiani di terzo livello, la maggiore parte dei quali appartenenti all'ITA.LI.CA. study group.

I criteri d'inclusione per l'arruolamento comprendevano:

- diagnosi di HCC secondo quanto raccomandato dalle ultime linee guida [5;6];
- diagnosi di NAFLD istologica e/o ultasonografica con esclusione di tutte le altre possibili cause di epatopatia.

I criteri di esclusione erano i seguenti:

- Storia pregressa di abuso alcolico, definita come consumo superiore ai 30 g/die;
- Positività per HBSAg, anti HBc o anti HBs in assenza di documentazione di avvenuta vaccinazione;
- Positività per anticorpi anti HCV;
- Utilizzo di farmaci inducenti una steatosi epatica;
- Evidenza di seconda neoplasia concomitante, sia primitive che metastatiche;

La diagnosi di sindrome metabolica è stata postulata in presenza di almeno 3 dei seguenti criteri:

- BMI ≥ 25 con una circonferenza addominale ≥ 94 cm negli uomini e ≥ 88 cm nelle donne;
- Glicemia a digiuno ≥ 110 mg/dL o diagnosi di diabete mellito di tipo 2;

- Trigliceridi ≥ 1.7 mmol/L (150 mg/dL);
- Colesterolo HDL < 1.0 mmol/L (40 mg/dL) negli uomini e < 1.3 mmol/L (50 mg/dL) nelle donne;
- Pressione arteriosa $\geq 130/85$ mmHg o trattamento antiipertensivo in corso.

Il gruppo di studio finale, comprendente 145 pazienti con HCC su NAFLD (HCC-NAFLD), è stato confrontato con un gruppo di 611 pazienti affetti da HCC su cirrosi epatica HCV relata (HCC-HCV), estratti dal database ITA.LI.CA. ed arruolati nello stesso periodo del gruppo di studio (2010-2012).

Per ogni paziente, al momento dell'arruolamento, sono stati registrati i seguenti dati: profilo metabolico (diabete, ipertensione arteriosa, trigliceridemia, colesterolemia, segni di aterosclerosi), estensione tumorale (numero e diametro della lesione di maggiori dimensioni, presenza di forma infiltrante, trombosi vascolare o metastasi a distanza), esami di funzionalità epatica, livelli di AFP e tipo di trattamento.

L'età e il tipo di riscontro di HCC (in sorveglianza, sintomatica o casuale), sono stati registrati al momento della diagnosi.

Analisi statistica: le variabili continue sono espresse come media e deviazione standard (SD) o come mediana e range interquartile (IQR) in base alla distribuzione, valutata usando il test di Kolmogorov-Smirnov e confrontate usando il test t di Student o il test di Mann Whitney.

Le variabili categoriche sono riportate come numero di casi e percentuale (N;%) e confrontate utilizzando il test di Fisher.

La sopravvivenza è stata calcolata dalla data dell'arruolamento alla morte del paziente o al termine del follow-up, utilizzando il metodo di Kaplan Meier e confrontata con il log rank test.

Per minimizzare l'effetto del lead time bias, ossia l'errore nel misurare la sopravvivenza causato dal lasso di tempo di cui la diagnosi è anticipata a causa dei programmi di sorveglianza, è stato calcolato il lead time utilizzando la formula $E(s)=(1-e^{-\lambda t})/\lambda$ [15].

Per eliminare il bias dovuto alla differente distribuzione delle variabili tra le due popolazioni, è stata infine eseguita una propensity score analysis utilizzando le seguenti variabili: età, sesso, sorveglianza, dimensioni del nodulo maggiore, numero dei noduli, score di Child-Pugh e tipo di trattamento. Questo ha permesso di creare un match uno-a-uno tra i pazienti HCC-NAFLD e i pazienti HCC-HCV utilizzando il metodo del nearest-neighbor matching.

L'analisi della sopravvivenza è stata quindi ripetuta in ciascun sottogruppo per valutare l'impatto dell'eziologia sulla mortalità dopo aver rimosso tutti i fattori di confondimento.

Un p-value inferiore a 0.05 è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti sono riportate nelle tabelle 3 e 4.

Tabella 3. Caratteristiche demografiche, cliniche e di funzionalità epatica della popolazione in studio.

Variables	HCC on NAFLD (n= 145)	HCC on HCV (n=611)	P value	D value
Demographic and clinical				
Age in years (mean; SD)	67.8 (9.0)	71.08 (9,5)	< 0.0001	-0.354
Male gender (N;%)	115 (79.3%)	374 (61.2%)	< 0.0001	0.286
BMI (mean; SD)	29.1 (5.0)	27.6 (34.4)	0.430	0.061
Alcohol (N;%)	66 (45.5%)	41(8.6%)	< 0.0001	0.645
Tobacco (N;%)	84 (60.9%)	108 (23.8%)	< 0.0001	0.572
Metabolic risk factors				
Diabetes (N;%)	106 (73.1%)	148 (24.9%)	< 0.0001	0.777
Hypertension (N;%)	106 (73.1%)	204 (37.1%)	< 0.0001	0.548
Hypertriglyceridemia (N;%)	37 (25.7%)	17 (3.8%)	< 0.0001	0.460
Hypercolesterolemia (N;%)	47 (32.9%)	34 (7.3%)	< 0.0001	0.477
Atherosclerosis (N;%)	44 (31.0%)	89 (19.1%)	0.004	0.195
Ischemic Cardiopathy (N;%)	18 (12.4%)	47 (8.5%)	0.151	0.090
Blood glucose mg/dl (mean;SD)	124.3 (61.2)	108.0 (39.6)	< 0.0001	0.316
LDL cholesterol mg/dl (mean;SD)	90.1 (44.79)	94.5 (43.0)	0.516	-0.100
HDL cholesterol mg/dl (mean;SD)	46.9 (24.9)	43.3 (16.5)	0.204	0.170
Triglyceride mg/dl (mean;SD)	150.3 (163.2)	104.4 (48.5)	< 0.0001	0.381
Liver function				
Bilirubin mg/dl (mean;SD)	1.1 (0.7)	1.6 (2.2)	0.013	-0.306
Albumin g/dl (mean;SD)	4.8 (6.4)	3.9 (3.6)	0.015	0.173
INR (mean;SD)	1.2 (0.4)	1.0 (0.5)	< 0.0001	0.442
ECOG PS ≥2 (N;%)	22 (16.9%)	90 (16.8%)	1.000	0.002
Encephalopathy (N;%)	7 (4.9%)	31 (5.1%)	1.000	- 0.008
Ascites (N;%)	32 (22.2%)	196 (36.7%)	0.009	- 0.182
Child-Pugh score (median and range)	5.6 (5-11)	5.8 (5-12)	0.154	0.102
CPT 5-6 (N;%)	107 (82.3%)	366 (68.1%)	0.001	0.235
CPT 7 (N;%)	9 (6.9%)	71 (13.2%)	0.050	- 0.149
CPT 8-9 (N;%)	11 (8.5%)	80 (14.9%)	0.064	- 0.142
CPT ≥ 10 (N;%)	3 (2.3%)	20 (3.7%)	0.595	- 0.059

Il valore D di Cohen esprime l'effect size, che è una misura quantitative della forza (magnitudine) di un fenomeno. CPT = Child Turcotte Pugh score, ECOG PS = Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status

Tabella 4. Caratteristiche tumorali (HCC) della popolazione in studio.

Variable	HCC on NAFLD (n=145)	HCC on HCV (n=611)	P value	D value
Modality of initial tumor detection				
Surveillance (N and percent of patients)	69 (47.6%)	387 (63.3%)	0.001	-0.227
Case findings (N and percent of patients)	56 (38.6%)	150 (24.5%)	0.001	0.217
Symptomatic (N and percent of patients)	20 (13.8%)	145 (8.3%)	0.056	0.123
Tumor characteristics at observation in the study center				
Size of largest tumor in cm; mean and SD	4.1(2.6)	3.3 (2.9)	0.003	0.290
Number of nodules; mean and SD	1.8 (1.6)	1.6 (1.5)	0.080	0.129
Milan In (N and percent of patients)	76 (55.5%)	364 (68.5%)	0.005	-0.192
Milan out (N and percent of patients)	61 (44.5%)	167 (31.4%)	0.005	0.192
Infiltrative (N and percent of patients)	21 (15.4%)	21 (4.0%)	< 0.0001	0.279
Extrahepatic Mets (N and percent of patients)	13 (9.3%)	105 (17.2%)	0.020	- 0.164
Macrovasc infiltration (N and percent of pts)	25 (17.5%)	87 (14.7%)	0.436	0.054
AFP in ng/dl; median and range	7.13 (1.5-83110.2)	20.4 (1-267912)	0.001	

La diagnosi di NAFLD è stata confermata dall'istologia in 38 dei 145 pazienti (26.2%). Settantotto (53.8%) pazienti affetti da NAFLD sono risultati cirrotici (di cui 24 con conferma istologica).

Dall'analisi dei dati è emerso che i pazienti HCC-NAFLD sono più giovani (età alla diagnosi 67.8 ± 9.0 anni vs 71.1 ± 9.5 anni) e più frequentemente maschi rispetto ai pazienti con HCC-HCV. Sono inoltre più frequentemente fumatori e consumatori di modiche quantità di alcol (< 30 g/day). Come atteso, i fattori di rischio metabolico sono più spesso presenti in questa popolazione rispetto ai pazienti HCC-HCV (Tabella 3).

Per quanto riguarda la funzione epatica, i pazienti con NAFLD si presentano più spesso in classe funzionale Child-Pugh A rispetto ai pazienti con infezione HCV relata (CPT classe A 82.3% vs 68.1% , $p=0.001$, Tabella 3).

Nei pazienti con malattia epatica causata da infezione da virus C, la diagnosi di HCC è posta più frequentemente durante un programma di sorveglianza, a differenza dei pazienti NAFLD in cui l'epatocarcinoma è diagnosticato più spesso quando sintomatico ed infiltrante (15.4% vs 4% dei pazienti con cirrosi HCV relata; $p < 0.0001$) (Tabella 4).

Come conseguenza della diversa estensione tumorale e funzionalità epatica l'allocazione ai trattamenti differisce tra i due gruppi. Infatti, i pazienti con NAFLD-HCC sono maggiormente candidabili alla resezione epatica rispetto ai pazienti HCC-HCV 819.3% vs 10.6%, $p=0.002$) (Tabella 5).

Tabella 5. Trattamenti eseguiti nelle due popolazioni in studio, secondo la diversa eziologia.

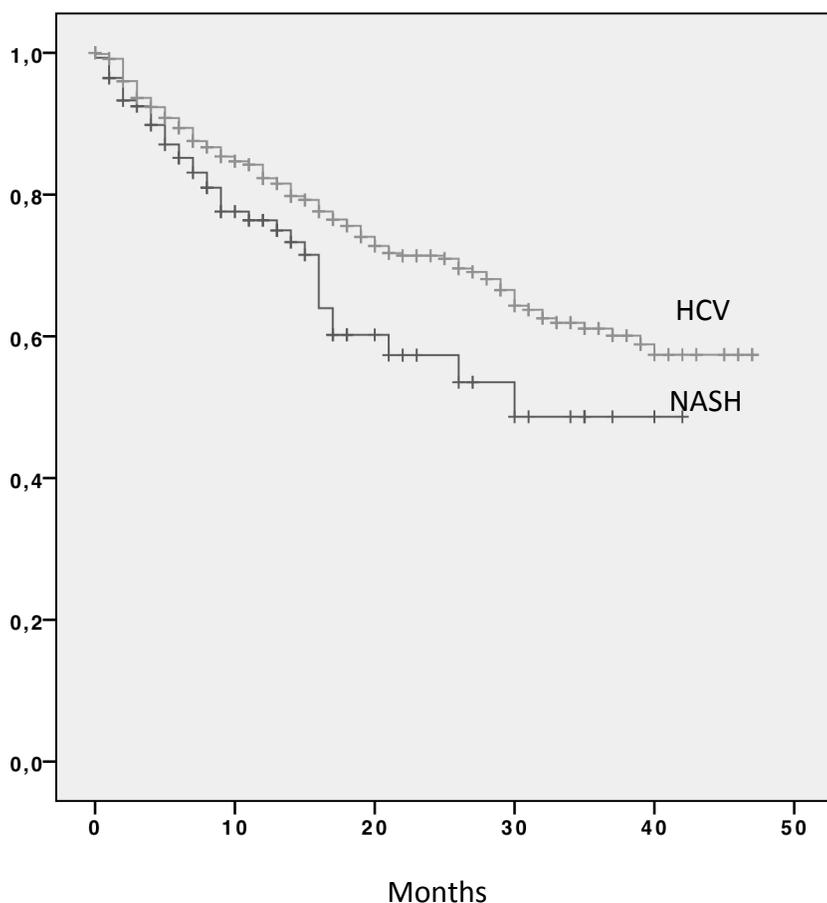
Variable	HCC on NAFLD (n= 145)	HCC on HCV (n=611)	P value	D value
Treatment				
Liver Transplantation	1 (0.7%)	10 (1.6%)	0.700	- 0.063
Surgical Resection	28 (19.3%)	65 (10.6%)	0.002	0.173
PEI	2 (1.4%)	57 (9.3 %)	0.002	- 0.254
Thermal ablation*	35 (24.1%)	169 (27.6%)	0.915	- 0.057
TACE**	37 (25.5%)	182 (29.8%)	0.606	- 0.068
Sorafenib	4 (2.8%)	53 (8.7%)	0.028	- 0.182
BSC or trials*	38 (26.2%)	75 (12.3%)	<0.0001	0.254

* Le ablazioni percutanee sono state eseguite nella maggior parte dei casi con termoablazione

** Nel trattamento TACE rientrano anche pochi pazienti tratti con radioembolizzazione con Itrio 90. (4 pazienti HCV, 1 patients NAFLD).

Il termine trial include trial randomizzati di Fase 2 o Fase 3 riguardanti l'utilizzo di terapie sistemiche o trattamenti chemioterapici off label sia di prima che di seconda linea. BSC includono la terapia ormonale o alter terapie di non provata efficacia.

Dopo un follow-up mediano di 13 mesi (IQR 5-47), 188 pazienti sono morti (24.9%), di cui 38 (26.2%) HCC-NAFLD (26.2%) e 150 (24.5%) HCC-HCV, con una differenza statisticamente significativa nella sopravvivenza mediana tra i due gruppi (27.2 mesi (95% CI 23.5-30.9) versus 34.4 mesi (95% CI 32.7-36.0), $p= 0.015$) e con tassi di sopravvivenza a 1 e 3 anni di 76.4% e 48.7% versus 84.2 e 61.1% (Figura 6).

**Figura 6.** Curve di sopravvivenza dei pazienti HCC-NAFLD e HCC-HCV dalla data dell'arruolamento.

Per minimizzare il bias sull'outcome dato dalla maggior percentuale di HCC diagnosticati durante la sorveglianza nei pazienti con cirrosi HCV relata rispetto ai pazienti NAFLD, la sopravvivenza è stata aggiustata per il lead time bias. Anche dopo questa correzione si è osservata una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi: 25.5 mesi (95% CI 21.9-29.1) nei pazienti HCC-NAFLD e 33.7 mesi (95% CI 31.9-35.4) nei pazienti HCC-HCV ($p= 0.017$), con tassi di sopravvivenza a 1 e 3 anni di 74.7% e 48.3% versus 81.5% e 59.5% rispettivamente (Figura 7).

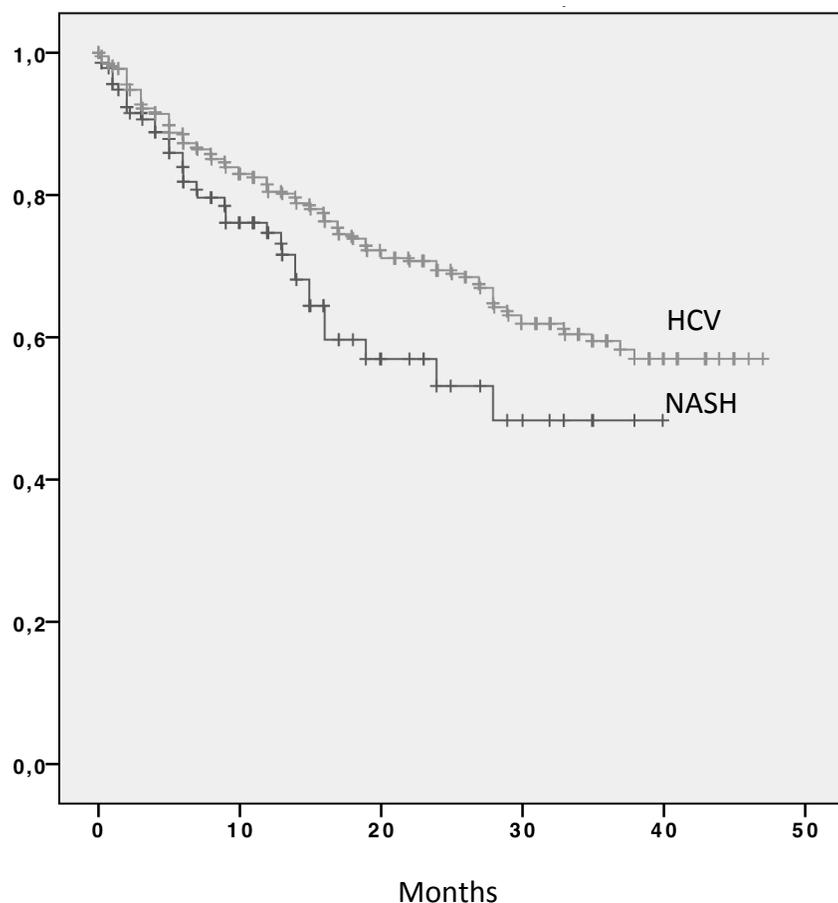


Figura 7. Curve di sopravvivenza dei pazienti HCC-NAFLD e HCC-HCV dalla data dell'arruolamento, dopo la correzione per il lead-time bias.

Per conoscere meglio l'aggressività intrinseca dell'epatocarcinoma nelle due eziologie e l'effetto sulla sopravvivenza, abbiamo eliminato tutti i possibili fattori di confondimento utilizzando una propensity score analysis, a seguito della quale 64 pazienti NAFLD-HCC sono stati accoppiati a 64 pazienti HCC-HCV (Tabella 6).

Tabella 6. Caratteristiche demografiche, cliniche e tumorali della popolazione in studio dopo propensity score analysis.

Variable	HCC on NAFLD (n=64)	HCC on HCV (n=64)	P value	D value
Demographic				
Age in years; meand and SD	68.9 (8.4)	69.3 (9.4)	0.83	0.56
Male gender; N and percent	50 (78.1%)	49 (76.6%)	1	0.026
Liver function				
CPT 5-6; N and percent	47 (73.4%)	51 (79.7%)	0.53	-0.105
CPT 7; N and percent	7 (10.9%)	4 (6.2%)	0.53	0.119
CPT 8-9; N and percent	7 (10.9%)	9 (14.1%)	0.79	-0.067
CPT ≥ 10; N and percent	3 (4.7%)	0	0.24	0.222
Tumor characteristics				
Size largest nodule in cm; mean and SD	3.2 (1.9)	3.4 (2.0)	0.58	- 0.004
Tumor size ≤ 2 cm; N and percent	24 (37.5%)	23 (35.9%)	1	0.023
Tumor size 2.1-3 cm; N and percent	17 (26.6%)	16 (25.0%)	1	0.025
Tumor size 3.1-5 cm; N and percent	15 (23.4%)	15 (23.4%)	1	0.000
Tumor size ≥ 5 cm; N and percent	8 (12.5%)	10 (15.6%)	0.8	- 0.064
Number of nodules: 1; N and percent	44 (68.7%)	43 (67.2%)	1	0.024
Number of nodules: 2-3; N and percent	15 (23.4%)	15 (23.4%)	1	0.000
Number of nodules: > 3; N and percent	5 (7.8%)	4 (6.2%)	1	0.037
Infiltrative; N and percent	1 (1.6%)	3 (4.7%)	0.62	-0.128
Detection on surveillance; N and percent	29 (45.3%)	44 (68.7%)	0.12	-0.354
Treatments				
Liver Transplantation ; N and percent	1 (1.6%)	1 (1.6%)	1	0.000
Surgical Resection; N and percent	14 (21.9%)	17(26.6%)	0.68	- 0.077
PEI; ; N and percent	2 (3.1%)	3 (4.7%)	1	- 0.057
Thermal ablation; N and percent	21 (32.8%)	19 (29.7%)	0.85	0.048
TACE; N and percent	23 (35.9%)	20 (31.2%)	0.71	0.070
Sorafenib; N and percent	0	0		
BSC or trials; N and percent	0	0		

Dopo il match, le mediane di sopravvivenza tra due gruppi non differiscono più in maniera statisticamente significativa: 30.2 mesi (95% CI 25.3-35.2) nei pazienti HCC-NAFLD e 36.9 mesi (95% CI 32.6-41-1) nei pazienti HCC-HCV (p=0.330), con tassi di sopravvivenza a 1 e 3 anni di 91.9% e 63.3% versus 87.4% e 72.6% rispettivamente (Figura 8).

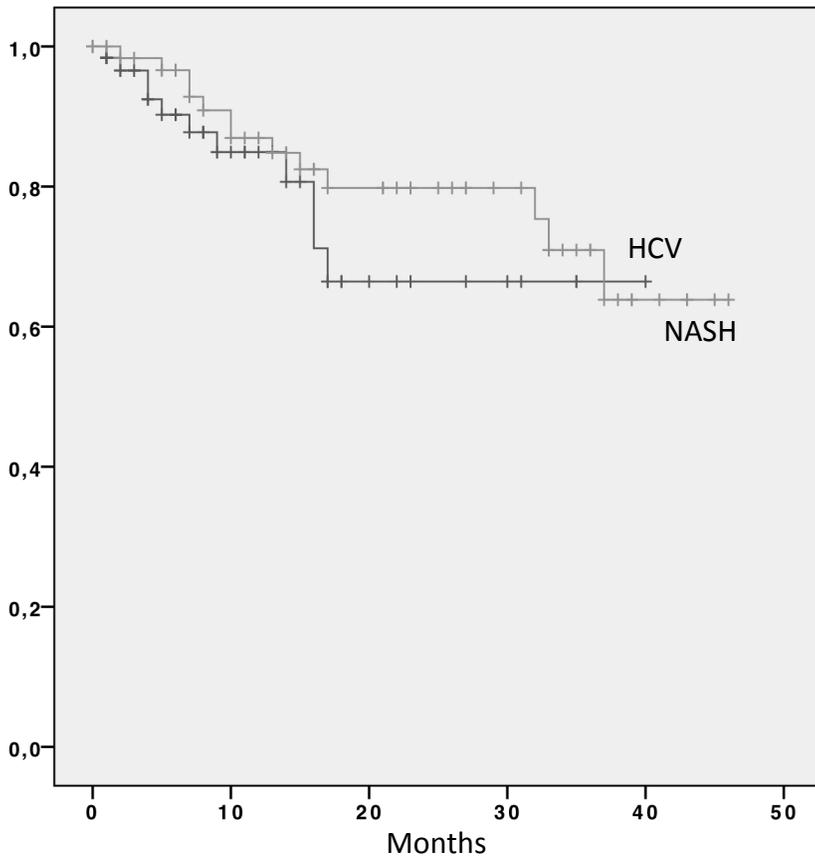


Figura 8. Curve di sopravvivenza dei pazienti HCC-NAFLD e HCC-HCV dalla data dell'arruolamento, dopo propensity score analysis.

Ancora una volta la sopravvivenza è stata aggiustata considerando il lead-time. Dopo la correzione per questo possibile bias la differenza di sopravvivenza tra i due gruppi si è mantenuta non statisticamente significativa: 25.8 mesi (95% CI 23.7-33.4) nei pazienti HCC-NAFLD e 35 mesi (95% CI 30.8-39.1) nei pazienti HCC-HCV ($p=0.344$), con tassi di sopravvivenza a 1 e 3 anni di 92.2% e 63.7% versus 85.4% e 63.9% rispettivamente (Figura 9).

Infine per comprendere se la presenza di cirrosi possa avere un impatto sulla sopravvivenza, abbiamo confrontato l'outcome dei pazienti affetti da NAFLD con e senza cirrosi. Le curve di sopravvivenza in questi due sottogruppi hanno mostrato un totale overlap (dati non mostrati).

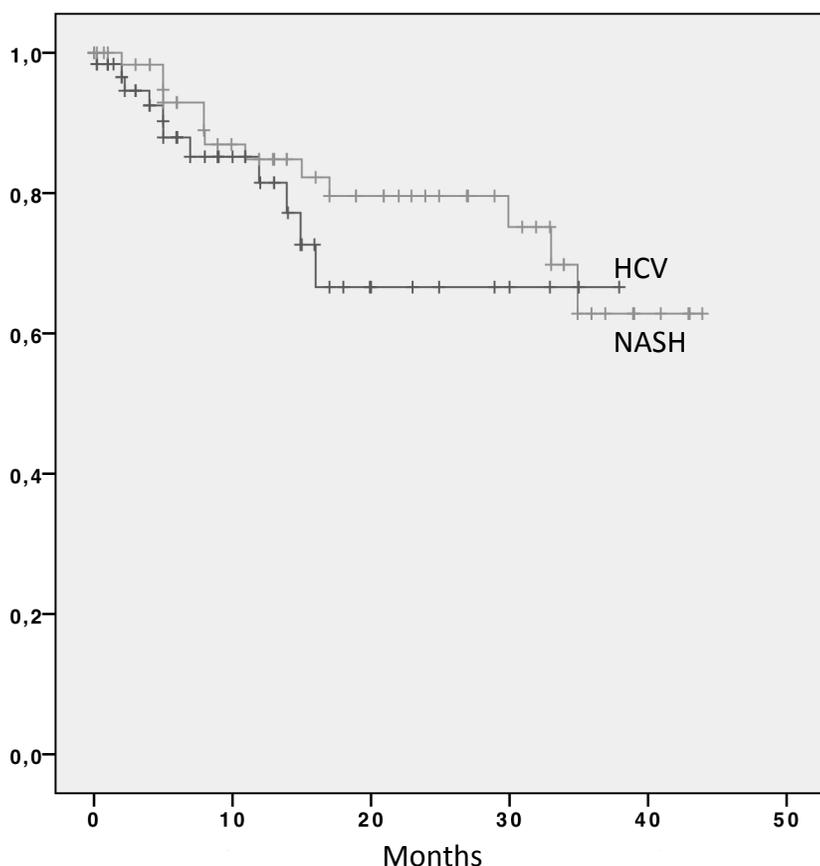


Figura 9. Curve di sopravvivenza dei pazienti HCC-NAFLD e HCC-HCV dalla data dell'arruolamento, dopo propensity score analysis e dopo correzione per il lead-time bias

Studio 3:

Valutazione del ruolo prognostico delle variabili cliniche che contribuiscono a definire il BCLC, con una particolare attenzione al Performance Status.

Validazione del sistema di sotto-stadiazione dello stadio intermedio (BCLC-B) proposto.

Per lo scopo di questo studio sono stati selezionati dal database ITA.LI.CA. 2606 pazienti con prima diagnosi di HCC fatta dopo il 1° Gennaio 2000, data di entrata in vigore del BCLC.

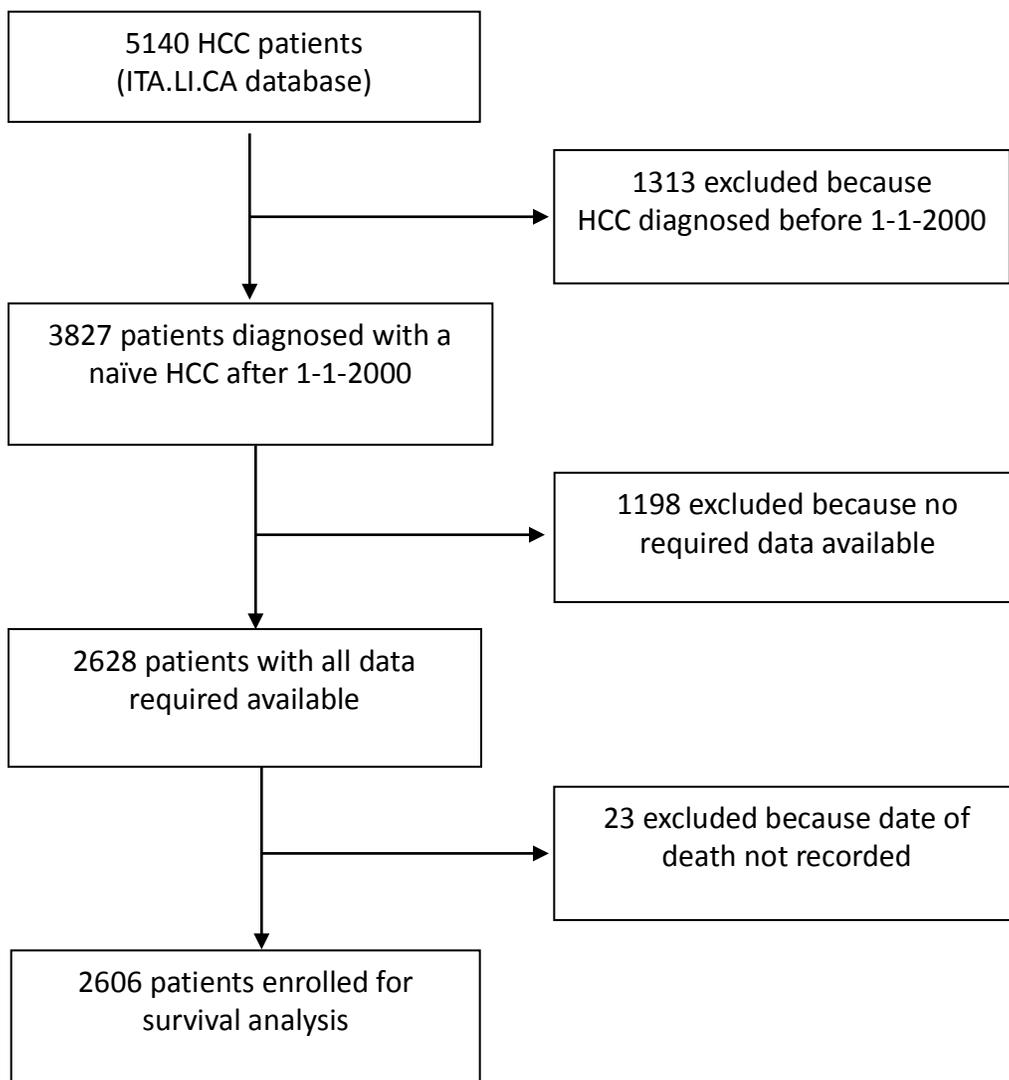


Figura 10. Diagramma dello studio.

Come discusso nel paragrafo introduttivo, in un paziente affetto da epatocarcinoma è cruciale stabilire il corretto Performance Status poiché è un parametro che pregiudica lo stadio tumorale ed il tipo di trattamento.

In questo studio è stata quindi condotta un'analisi preliminare per valutare il ruolo del PS e il suo impatto sulla sopravvivenza, considerando quattro modelli:

- 1) modello BCLC originale: tutti i pazienti con PS=1 sono stati classificati come stadio avanzato;
- 2) modello 1: i pazienti con PS=1 senza invasione vascolare né metastasi a distanza, sono stati classificati come stadio intermedio e non come avanzato, come proposto da studi recenti [10;11];
- 3) modello 2: i pazienti sono stati assegnati a stadi diversi, in base ai diversi gradi del PS, secondo quanto emerso dall'analisi uni e multivariata (vedi sotto);
- 4) modello 3: i pazienti sono classificati come nel modello 1 ma lo stadio intermedio è stato analizzato non come singolo stadio bensì suddiviso secondo la sottostadiazione proposta dagli esperti [12]. Pertanto i pazienti con PS=1, liberi da malattia extraepatica e da invasione vascolare, sono stati classificati come B4;

5) modello 4: i pazienti sono stati classificati come nel modello 2 ma suddividendo lo stadio intermedio come nel modello 3. Pertanto i pazienti con PS=1 sono stati classificati in stadio precoce od intermedio secondo l'estensione tumorale.

Analisi statistica: le variabili continue sono riportate come mediana e range interquartile (IQR) e confrontate con il test t di Student o il test di Wilcoxon, mentre le variabili categoriche come numero e percentuale e confrontate con il test del chi-quadrato o il test esatto di Fisher.

La sopravvivenza è stata calcolata dalla data della prima diagnosi di HCC alla data del decesso o dell'ultima visita di follow-up in caso di pazienti ancora vivi.

La sopravvivenza mediana è espressa come mediana e intervallo di confidenza al 95% (95% CI). Le curve di sopravvivenza sono state create con il metodo di Kaplan-Meier e confrontate con il log-rank test.

E' stata eseguita quindi un'analisi uni e multivariata utilizzando la regressione di Cox per identificare i predittori indipendenti di sopravvivenza.

La performance di ogni modello è stata testata considerando: l'"omogeneità" della sopravvivenza all'interno di ciascun gruppo di classificazione; la "capacità discriminativa" misurata dalla differenza di sopravvivenza tra gruppi adiacenti; la "monotonicità del gradiente" evidenziata dalla progressiva riduzione di sopravvivenza al progredire degli stadi [16].

Il likelihood ratio test (LHT) è stato utilizzato per valutare l'omogeneità tra stadi entro ciascun sistema di stadiazione.

La capacità discriminativa dei sistemi di stadiazione proposti e la loro monotonicità di gradiente è stata quantificata usando il linear trend chi-square e la concordanza di Harrel (c)-index.

Per neutralizzare il possibile bias nel confrontare dei sistemi prognostici con un diverso numero di stadi, i risultati della regressione di Cox sono stati espressi utilizzando anche gli Akaike Information Criterion (AIC): più basso il valore di AIC, migliore il modello.

Risultati

Ruolo prognostico delle variabili cliniche

Le caratteristiche della popolazione in studio sono riportate nella tabella 7.

Table 7. Caratteristiche della popolazione in studio ed analisi uni e multivariata

Characteristics	All patients (n = 2606)	Univariate Cox HR (95% CI), p value	Multivariate Cox HR (95% CI), p value
Age, yr , median (IQ range)	69 (61-75)	1.09 (0.99-1.21), 0.0774	-
Male Sex (N;%)	1960 (75%)	1.02 (0.91-1.14), 0.7495	-
History of alcohol abuse (N;%)	1147 (44%)	1.14 (1.02-1.26), 0.0160	1.03 (0.90-1.18), 0.6676
HCV positive (N;%)	1459 (56%)	0.91 (0.82-1.01), 0.0743	-
HBV positive, (N;%)	391 (15%)	0.97 (0.84-1.11), 0.6303	-
ECOG performance status (N;%)		<0.0001	0.0003
0	1866 (72%)		
1	372 (14%)	1.18 (1.01-1.37)	1.15 (0.93-1.42)
≥ 2	368 (14%)	2.15 (2.21-2.90)	1.34 (1.03-1.75)
BIOCHEMICAL VALUES, median (IQ range)			
Albumin (g/l)	36 (31-40)	0.58(0.52-0.64), <0.0001	0.76 (0.64-0.89), 0.0006
Bilirubin (mg/dl)	1.2 (0.8-1.9)	1.71(1.55-1.89), <0.0001	1.20 (1.03-1.39), 0.0213
INR	1.2 (1.1-1.4)	1.46(1.32-1.61), <0.0001	0.97 (0.83-1.13), 0.6823
Creatinine (mg/dl)	0.9 (0.8-1.1)	1.20 (1.08-1.33), 0.0005	1.08 (0.94-1.23), 0.2812
Sodium (mmol/l)	139 (136-141)	0.66(0.59-0.75), <0.0001	0.85 (0.74-0.98), 0.0238
Platelet count (n/ml)	114 (79-165)	0.96 (0.87-1.06), 0.4539	-
ASCITES, (N;%)	799 (31%)	2.16(1.95-2.40), <0.0001	1.53 (1.30-1.80), <0.0001
ENCEPHALOPATHY, (N;%)	178 (7%)	2.09(1.74-2.49), <0.0001	1.08 (0.84-1.39), 0.5387
Alpha-fetoprotein, ng/ml, median (IQ range)	16 (6-112)	1.72(1.55-1.91), <0.0001	1.38(1.21-1.60), <0.0001
NUMBER OF NODULES, (N;%)		<0.0001	<0.0001
Single	1419 (54%)		
Oligonodular (2-3)	611 (23%)	1.60 (1.41-1.81)	1.23 (1.04-1.46)
Multinodular (>3)	576 (22%)	2.02 (1.76-2.31)	1.43 (1.18-1.73)
SIZE OF LARGEST TUMOR, cm, median (IQ range)	3.0 (2.0-4.5)	1.65(1.49-1.82), <0.0001	1.44(1.25-1.66), <0.0001
PORTAL VEIN THROMBOSIS, (N;%)	434 (17%)	3.26(2.88-3.69), <0.0001	1.57(1.30-1.88), <0.0001
METASTASES AT DIAGNOSIS, (N;%)	85 (3%)	2.77(2.15-3.52), <0.0001	1.25 (0.88-1.73), 0.1992
TREATMENT, (N;%)		<0.0001	<0.0001
Surgery	357 (14%)		
Liver transplantation	55 (2%)		
Resection	302(12%)		
Percutaneous ablation (PEI, RF) ±	827 (32%)	1.34 (1.12-1.63)	1.36 (1.07-1.74)
TACE	573 (22%)	1.53 (1.33-1.75)	1.22 (1.00-1.48)
Trans-arterial loco-regional therapies	849 (32%)	2.55 (2.24-2.91)	1.89 (1.56-2.29)
Systemic therapy or Supportive care			

Sia all'analisi univariata che multivariata, sono risultati predittori indipendenti di sopravvivenza sia le variabili utilizzate per creare il Child-Pugh score (albumina, bilirubina e ascite), che le dimensioni del nodulo maggiore, il numero di noduli e la presenza d'invasione vascolare, variabili che contribuiscono a definire gli stadi del BCLC. Anche il PS è associato con la sopravvivenza ma solo un $PS \geq 2$ è un predittore indipendente.

La validazione prognostica del BCLC convenzionale è stata dimostrata dalla progressiva riduzione di sopravvivenza passando dallo stadio 0 allo stadio D, in particolare: stadio 0= 69 mesi (95% CI 57-81), stadio A= 46 mesi (95% CI 44-50); stadio B= 27 mesi (95% CI 24-31); stadio C= 21 mesi (95% CI 19-24); stadio D= 8 mesi (95% CI 8-10).

Poichè il BCLC è l'unico sistema di stadiazione che abbina per ogni stadio (e sottostadio) il trattamento più efficace, è stato analizzato anche il ruolo dei diversi trattamenti applicati ai pazienti.

Prendendo come riferimento le procedure chirurgiche, l'ablazione percutanea non è risultata associata ad una prognosi peggiore all'analisi multivariata, al contrario di TACE e terapie farmacologiche sistemiche (Tabella 7).

Confronto dei differenti modelli

Come riportato sopra solo un $PS \geq 2$ è risultato essere un predittore indipendente di sopravvivenza.

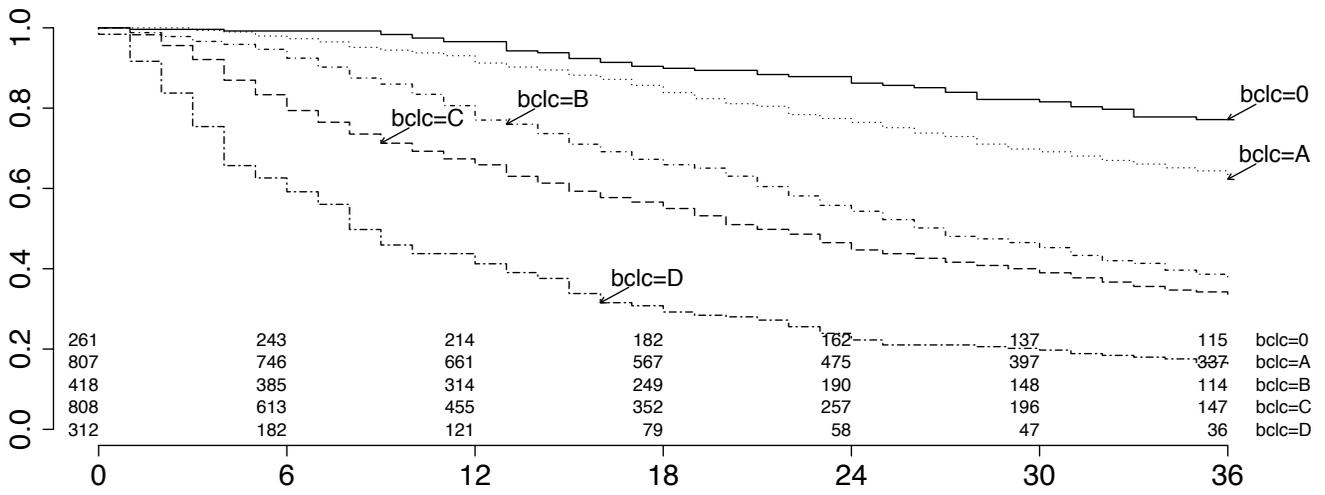
Per tale motivo abbiamo testato la performance di quattro diversi modelli di BCLC in cui i pazienti sono stati classificati in stadi diversi secondo gradi diversi di PS, come discusso sopra.

Nel modello 1 i pazienti con $PS=1$ sono stati categorizzati come intermedi e non come avanzati.

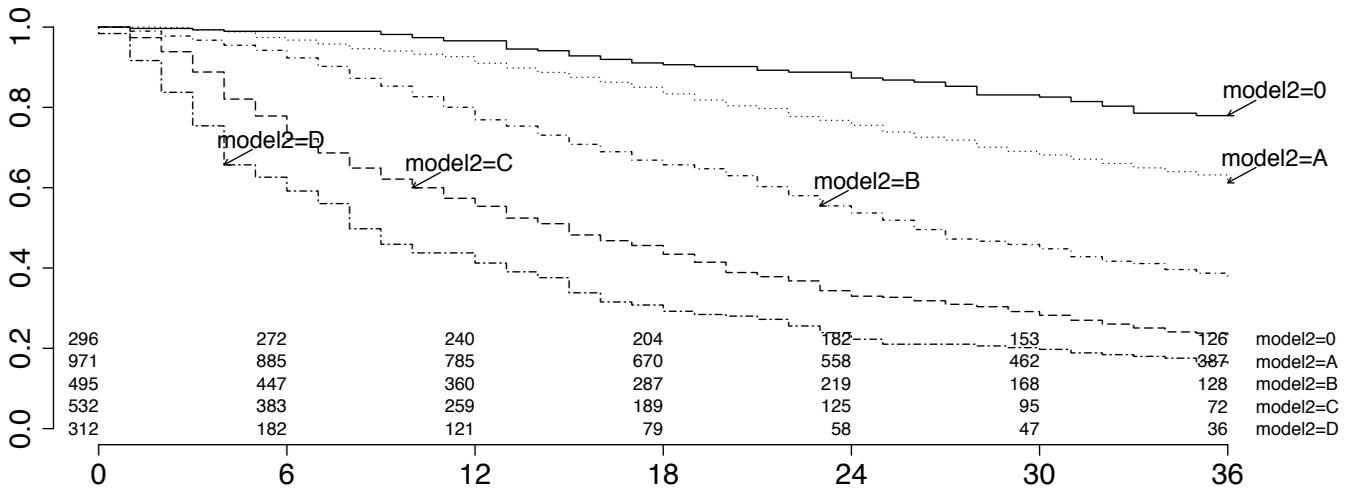
Il modello 2 è stato disegnato sulla base del risultato dell'analisi uni e multivariata che non ha mostrato un ruolo prognostico per il $PS=1$, che quindi è stato considerato equivalente a un $PS=0$. Solo a partire da un $PS=2$ i pazienti sono stati categorizzati come avanzati (BCLC-C) mentre per un $PS \geq 3$ come terminali (BCLC-D).

Nella figura 11 sono riportate le differenze nelle curve di Kaplan Meier tra il BCLC originale (pannello A), il modello 1 (pannello B) e il modello 2 (pannello C).

Pannello A



Pannello B



Pannello C

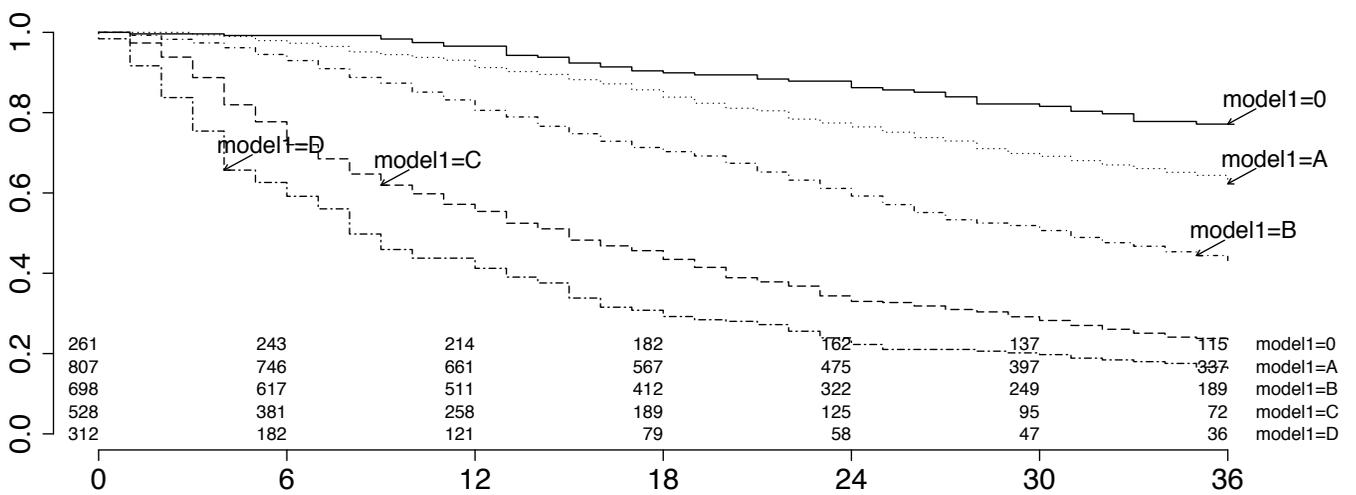


Figura 11. Curve di sopravvivenza dei pazienti affetti da HCC secondo il BCLC originale (pannello A), il modello1 (pannello B) ed il modello 2 (pannello C).

I modelli 3 e 4 rispecchiano il modello 1 e 2 rispettivamente ma con l'aggiunta della sottostadiazione del BCLC-B come recentemente proposto da un panel di esperti [12].

Tutti i modelli proposti (1, 2, 3 e 4), in cui i pazienti con PS=1 sono stati riallocati in stadi più precoci rispetto al BCLC-C, hanno mostrato una miglior capacità prognostica rispetto al BCLC originale, provata dall'aumento del valore del linear trend, likelihood ratio e c-index (Tabella 8). Tuttavia, quando messi a confronto, il modello 3 ha mostrato una lieve riduzione della capacità prognostica rispetto al modello 1, come confermato da un più alto valore di AIC. La miglior capacità prognostica è risultata quella del modello 4 che ha riportato il più basso valore di AIC (Tabella 8).

Tabella 8. Capacità discriminatoria dei modelli di BCLC nella popolazione in studio.

BCLC classification	Linear Trend χ^2 test	c-index (SE)	LHR χ^2 test (p value)	AIC
All patients (n=2606)				
BCLC original	10.14 (<0.0001)	0.685 (0.008)	337.60 (<0.0001)	10780
BCLC model 1	12.64 (<0.0001)	0.700 (0.008)	442.40 (<0.0001)	10730
BCLC model 2	13.49 (<0.0001)	0.705 (0.008)	461.00 (<0.0001)	10720
BCLC model 3	11.19 (<0.0001)	0.701 (0.008)	393.4 (<0.0001)	10750
BCLC model 4	13.59 (<0.0001)	0.708 (0.008)	473.6 (<0.0001)	10710

Abbreviazioni: c, concordance; SE, standard error; LHR, likelihood ratio; χ^2 , chi square; AIC, Akaike information criterion.

Per capire il comportamento dei valori di AIC nei diversi modelli è stata analizzata la sopravvivenza nella sottostadiazione del BCLC-B, in accordo con i modelli 3 e 4. Il forte impatto sulla sopravvivenza che hanno mostrato le variabili testate all'analisi uni e multivariata nella intera popolazione in studio, supporta il loro contributo anche nell'identificazione dei sottostadi del BCLC-B. Infatti i livelli di bilirubina, di albumina e la presenza di ascite contribuiscono a definire lo score di Child-Pugh, mentre il numero e le dimensioni dei noduli, determinano i criteri up to seven [12].

Le caratteristiche cliniche e demografiche del sottogruppo di pazienti appartenenti allo stadio intermedio e suddivisi nei quattro sottostadi secondo il modello 4 sono riportate nella tabella 9.

Tabella 9. Caratteristiche dei pazienti in stadio intermedio secondo il BCLC e secondo la sottostadiazione proposta da Bolondi et al. secondo il modello 4.

Variables	BCLC-B sub stages				
	All Patients (n=495)	B1 (n=196)	B2 (n=164)	B3 (n=53)	B4 (n=82)
AGE, yrs, median (IQ range)	69 (61-75)	71 (64-76)	68 (61-75)	68 (61-74)	66 (61-74)
Male sex, (N;%)	406 (82%)	159 (81%)	140 (85%)	45 (85%)	62 (76%)
HCV positive, (N;%)	255 (51%)	111 (57%)	73 (45%)	29 (55%)	42 (51%)
HBV positive, (N;%)	84 (17%)	34 (17%)	26 (16%)	9 (18%)	15 (18%)
History of alcohol abuse (N;%)	265 (54%)	92 (47%)	93 (57%)	30 (56%)	50 (61%)
Child-Pugh score, (N;%)					
A5	181 (37%)	86 (44%)	95 (58%)	0	0
A6	130 (26%)	61 (31%)	69 (42%)	0	0
B7	102 (21%)	49 (25%)	0	53 (100%)	0
B8	41 (8%)	0	0	0	41 (50%)
B9	41 (8%)	0	0	0	41 (50%)
MELD score, median (IQ range)	8 (7-12)	8 (7-11)	8 (6-9)	10 (7-13)	15 (13-17)
ASCITES, (N;%)	107 (22%)	23 (12%)	16 (10%)	18 (34%)	50 (61%)
SIZE OF LARGEST TUMOR, cm, median (IQ range)	5 (4-7)	4 (3-5)	7 (5-9)	6 (5-7)	4 (4-7)
Tumor number, (N;%)					
1 tumor	107 (21%)	47 (24%)	39 (24%)	11 (21%)	10 (12%)
2 tumors	193 (39%)	96 (49%)	47 (29%)	14 (26%)	36 (44%)
≥ 3 tumors	195 (40%)	53 (27%)	78 (47%)	28 (53%)	36 (44%)
Alpha-fetoprotein, ng/ml, median (IQ range)	20 (7-157)	22 (7-132)	19 (5-159)	19 (8-704)	18 (6-206)
ECOG, performance status (N;%)					
0	418 (84%)	166 (85%)	132 (80%)	46 (87%)	74 (90%)
1	77 (16%)	30 (15%)	32 (20%)	7 (13%)	8 (10%)

I quattro sottogruppi hanno mostrato diverse mediane di sopravvivenza, come riportato nella tabella 10.

Tabella 10. Sopravvivenza e tipo di trattamento nei differenti sottostadi BCLC-B.

SUBSTAGING SYSTEM	Patients total (%)	Median survival (95% CI), months	Surgery	Percutaneous Therapies ± TACE	Trans-arterial loco-regional therapy	Systemic therapy or Supportive care	Total
BCLC B model 3, no.(%)							
B1	166 (24)	31 (25-38)	29 (17)	45 (27)	68 (42)	24 (14)	(100)
B2	132 (19)	30 (34-35)	28 (21)	13 (10)	47 (36)	44 (33)	(100)
B3	46 (7)	24 (13-34)	5 (11)	5 (11)	19 (41)	17 (37)	(100)
B4*	354 (50)	33 (27-38)	38 (11)	115 (32)	109 (31)	92 (26)	(100)
	698 (100)						
BCLC B model 4, no.(%)							
B1	196 (40)	32 (26-38)	34 (17)	48 (25)	82 (42)	32 (16)	(100)
B2	164 (33)	27 (24-32)	30 (18)	15 (10)	61 (37)	58 (35)	(100)
B3	53 (11)	21 (12-32)	5 (9)	5 (9)	24 (45)	19 (37)	(100)
B4	82 (16)	17 (14-24)	7 (9)	14 (17)	28 (34)	33 (40)	(100)
	495 (100)						

Nel modello 3 non tutti i sottogruppi differiscono in maniera statisticamente significativa dal sottostadio più vicino, come ad esempio B3 e B4, probabilmente perchè il sottostadio B4 include tutti i pazienti con PS=1, a prescindere dall'estensione tumorale, quindi anche pazienti con un tumore precoce e prognosi migliore (Figura 12).

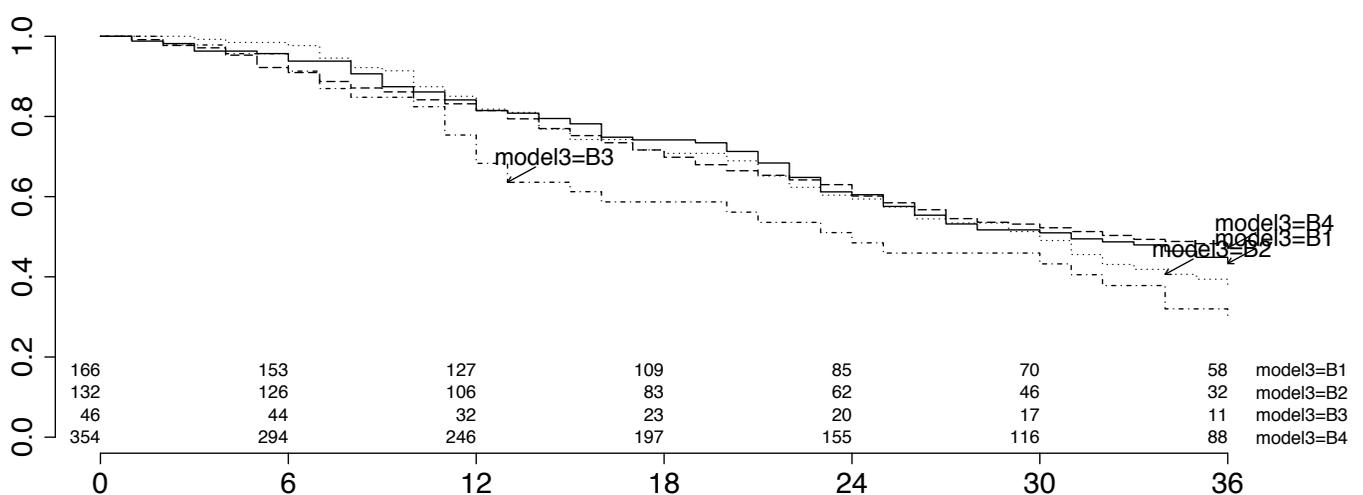


Figura 12. Curve di sopravvivenza dei pazienti appartenenti allo stadio intermedio (BCLC-B), suddivisi nei sottostadi secondo la proposta originale (modello 3).

Il modello 4 produce una buona capacità discriminativa sia tra i quattro sottogruppi, sia nell'intera popolazione in studio, essendo in grado di distinguere ciascun stadio da quello adiacente, come mostrato nella figura 13.

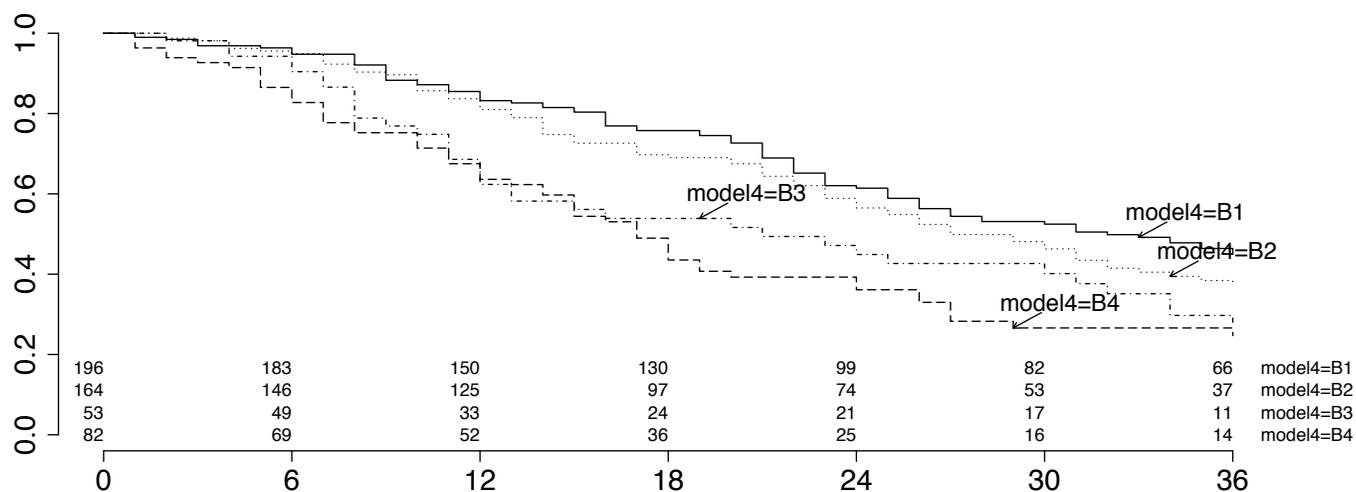


Figura 13. Curve di sopravvivenza dei pazienti appartenenti allo stadio intermedio (BCLC-B), suddivisi nei sottostadi, secondo il modello 4.

Infine è stata verificata l'allocazione al trattamento come raccomandato dagli esperti nella proposta di sottostadiazione dello stadio intermedio.

Seguendo il modello di sottostadiazione originale, la maggior parte dei pazienti appartenenti al sottostadio B4 ha un tumore in stadio precoce, quindi suscettibile di trattamenti curativi, tuttavia più del 60% è stato trattato con chemioembolizzazione, inclusi i pazienti con PS1.

L'intenzione degli esperti di proporre un perfezionamento nella scelta terapeutica per i diversi sottostadi del BCLC-B è rappresentata meglio dal modello 4 dove più dell'80% dei pazienti in stadio B1 ha ricevuto un trattamento chirurgico o locoregionale e l'applicazione della TACE scende al 45% nei pazienti in sottostadio B2 e B3. Per quanto riguarda il sottostadio B4, la maggior parte dei pazienti ha ricevuto i trattamenti raccomandati: il 43% cure palliative ed il 7% un trapianto di fegato, mentre meno della metà sono stati trattati con TACE.

Studio 4:**Valutazione del tipo di trattamento eseguito in una larga coorte di pazienti in stadio intermedio e loro outcome.**

Per questo studio sono stati selezionati 1048 pazienti appartenenti allo stadio intermedio del BCLC. Secondo le ultime linee guida europee EASL-EORTC, questo stadio include anche i pazienti in classe funzionale di Child-Pugh A5-6, con un nodulo singolo, *large* di dimensioni superiori a 5 cm senza invasione vascolare né metastasi a distanza, rappresentante quindi uno stadio tumorale che eccede quella che è la definizione di HCC in stadio precoce [6].

Di questi 1048 pazienti, 696 rientravano nei criteri d'inclusione individuati, ossia prima diagnosi di epatocarcinoma eseguita tra il 1° Gennaio 2000 e il 31 Dicembre 2012 (Figura 14).

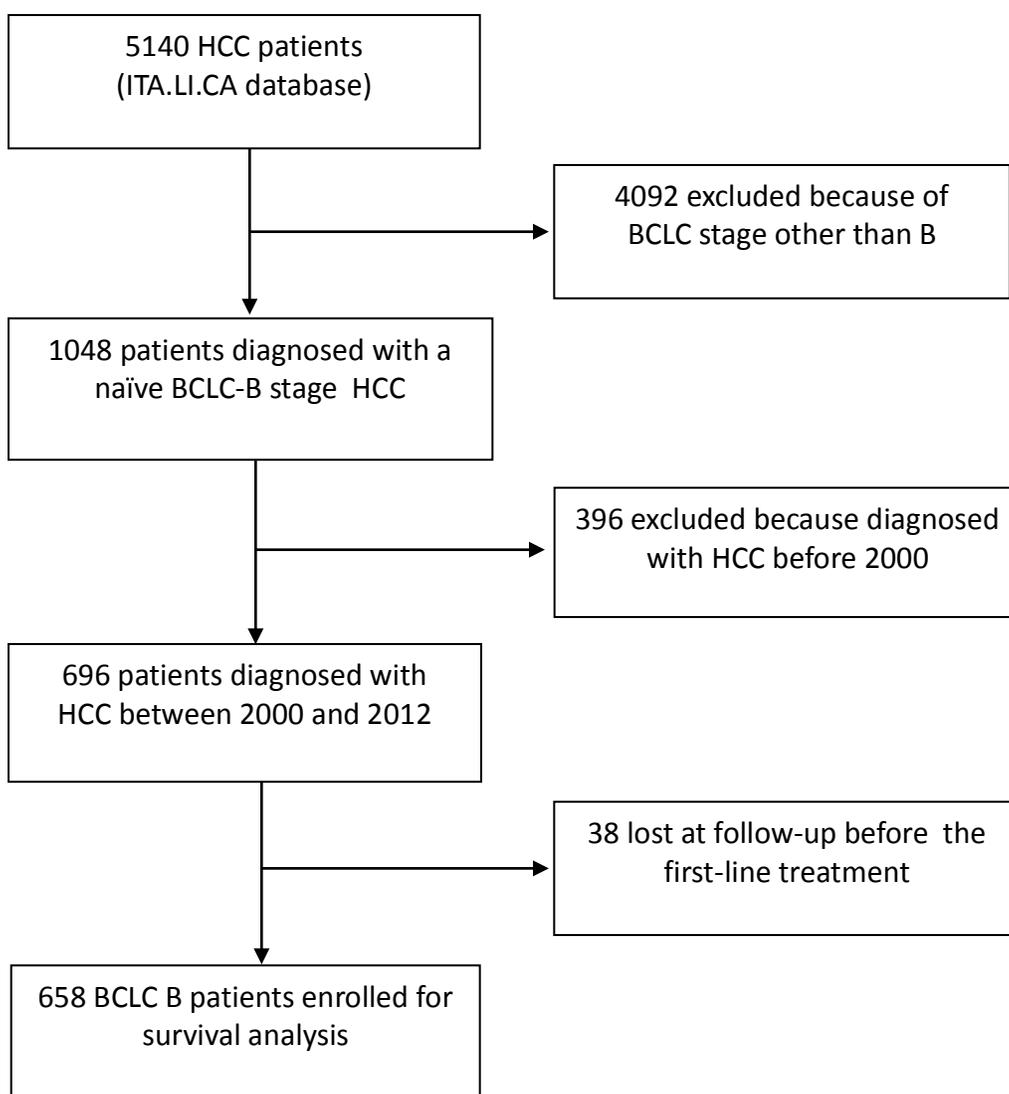


Figura 14. Diagramma dello studio. ITA.LI.CA, Italian Liver Cancer; HCC, hepatocellular carcinoma; BCLC Barcelona Clinic Liver Cancer.

La popolazione in studio è stata quindi suddivisa in quattro sottogruppi sulla base del tipo di trattamento eseguito, in ordine decrescente in termini di efficacia:

- 1- Trattamento curativo: trapianto di fegato, resezione, ablazioni percutanee (PEI o RF);
- 2- Chemoembolizzazione intra-arteriosa (TACE);
- 3- Terapia sistemica con sorafenib;
- 4- Altri tipi di trattamento non evidence-based: capecitabina a dosaggio metronomico, radioembolizzazione, doxorubicina;
- 5- Trattamento palliativo (Best Supportive Care, BSC).

In ciascun centro epatologico la scelta del tipo di trattamento è stata concordata dopo discussione collegiale da parte di un team multidisciplinare, tenendo conto della funzione epatica, dello stadio tumorale, delle comorbidità e delle controindicazioni, scegliendo come possibilità alternative alla TACE il trapianto di fegato in caso di protocollo di down staging [17], la resezione epatica in caso di malattia unifocale o in caso di pochi noduli contigui ed in presenza di funzione epatica conservata (Child-Pugh A, MELD >10), l'ablazione percutanea per noduli singoli ≤ 4 cm o meno di 4 noduli, il sorafenib nei pazienti con controindicazioni al trattamento con TACE o nei pazienti in cui tale trattamento è stato ritenuto inefficace (HCC bilobare, disseminato o esteso), altri trattamenti o cure palliative nei pazienti non candidabili ad altro.

I pazienti sono stati monitorati nel tempo con valutazione clinica e con tecniche di imaging (TAC o RMN) ad un mese dal trattamento e poi ad intervalli di 3-4 mesi.

Oltre al trattamento sono state analizzate le seguenti variabili: sesso, età, eziologia della malattia di base, tipo di diagnosi (durante o fuori da un programma di sorveglianza), funzione epatica (Child-Pugh e MELD score), estensione tumorale (numero dei noduli e diametro del maggiore), alfa-fetoproteina sierica (AFP), creatinina, sodio e comorbidità (esprese tramite lo score di Charlson [18]).

Analisi statistica: le variabili continue sono espresse come media e deviazione standard (SD), mentre le variabili categoriche come numero di casi e percentuale. La distribuzione delle variabili continue è stata valutata tramite il test di Kolmogorov-Smirnov e sono state poi confrontate con il test della varianza (ANOVA). Le variabili categoriche sono state confrontate invece utilizzando il test del chi-quadrato con la correzione di Yates.

La sopravvivenza, calcolata come l'intervallo di tempo tra la diagnosi di HCC e il decesso o l'ultima visita di follow-up, è stata espressa come mediana ed intervallo di confidenza al 95% (95% CI). Le curve di sopravvivenza sono state ottenute mediante il metodo di Kaplan-Meier e confrontate con il log-rank test.

L'analisi univariata di Cox è stata eseguita con le variabili sopra menzionate per testare l'associazione con la sopravvivenza. Per questa analisi la sodiemia, lo score MELD e lo score di Charlson sono stati dicotomizzati al loro valore mediano. L'estensione tumorale è stata categorizzata come nodulo singolo ≤ 10 cm, HCC multifocale, nodulo singolo > 10 cm o infiltrante, mentre i livelli di AFP sono stati dicotomizzati a 200 ng/mL. Le variabili associate con la sopravvivenza ($p < 0.10$) all'analisi univariata, sono state poi testate con il modello di regressione multivariata di Cox. Prima di eseguire l'analisi multivariata è stato calcolato il variance inflation factor (VIF) per controllare la multicollinearità tra le variabili. Un VIF < 0.5 è stato considerato indicativo di non-collinearità.

L'hazard ratio e il 95% CI è stato calcolato per i predittori indipendenti di sopravvivenza.

Successivamente è stata condotta un'analisi di regressione logistica per ottenere un propensity score per i pazienti appartenenti ai due gruppi di trattamento con un evidente survival benefit rispetto al best supportive care, ossia trattamenti curativi e TACE. Questo modello è stato poi utilizzato per creare un match uno-a-uno utilizzando il metodo del nearest neighbor matching [19]. L'analisi di sopravvivenza è stata quindi ripetuta dopo il match per valutare l'impatto del trattamento sulla mortalità, dopo aver eliminato ogni possibile fattore di confondimento.

Risultati

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei pazienti sono riportate nella tabella 11.

L'età media della popolazione in studio, di cui la maggior parte uomini (75.9%) è di 67.4 ± 9.7 anni. L'infezione da virus dell'epatite C si è confermata la principale causa di malattia epatica (43.4%), seguita dall'abuso di alcol (17.5%). L'epatocarcinoma è stato diagnosticato durante un programma di sorveglianza nel 37.6% di pazienti.

Tabella 11. Caratteristiche demografiche, cliniche e tumorali della popolazione in studio.

Variable	All patients (n=696)	Curative (n= 243)	TACE (n= 296)	Sorafenib (n= 25)	Other (n= 57)	BSC (n= 37)	P value
Age	67.4 ± 9.7	66.4 ± 10.4	67.5 ± 8.7	65.3 ± 9.4	72.0 ± 9.2	67.8 ± 11.5	0.002
Male sex	528 (75.9%)	198 (81.5%)	240 (81.1%)	21 (84.0%)	39 (68.4%)	30 (81.1%)	0.229
Etiology*							0.524
HBV	99 (14.2%)	41 (16.9%)	47 (15.9%)	2 (8.0%)	5 (8.8%)	4 (10.8%)	0.371
HCV	302 (43.4%)	105(43.2%)	139 (46.9%)	12 (48.0%)	30 (52.6%)	16 (43.2%)	0.736
HBV+HCV	24 (3.4%)	8 (3.3%)	13 (4.4%)	1 (4.0%)	2 (3.5%)	0	0.744
Alcohol	122 (17.5%)	41 (16.9%)	56 (18.9%)	2 (8.0%)	10 (17.5%)	13 (35.1%)	0.072
Others	76 (10.9%)	28 (11.5%)	32 (10.8%)	5 (20.0%)	8 (14.0%)	3 (8.1%)	0.617
Diagnosis and management							
Surveillance	262 (37.6%)	92 (37.9%)	140 (47.3%)	10 (40.0%)	12 (21.0%)	8 (21.6%)	0.001
Liver function							
Child-Pugh class **							0.001
A	390 (56.0%)	155 (63.8%)	174 (58.9%)	15 (60.0%)	32 (56.1%)	14 (37.8%)	0.001
B7	76 (10.9%)	22 (9.0%)	40 (13.5%)	0	10 (17.5%)	4 (10.8%)	0.146
B8-9	72 (10.3%)	22 (9.0%)	30 (10.1%)	1 (4.0%)	7 (12.3%)	12 (32.4%)	<0.001
MELD ≤9	270 (38.8%)	119 (49.0%)	115 (38.8%)	12 (48.0%)	17 (29.8%)	7 (18.9%)	<0.001
Laboratory tests							
AFP***							
≤200 ng/mL	438	177	197	14	32	18	<0.001
>200 ng/mL	123	29	56	4	21	13	<0.001
Creatinine	1.05 ± 0.5	1.05 ± 0.3	1.03 ± 0.6	1.10 ± 0.3	1.12 ± 0.4	1.09 ± 0.4	0.783
Sodium	138.7 ± 3.8	138.4 ± 3.9	139.3 ± 3.3	137.9 ± 2.9	138.2 ± 5.1	136.9 ± 4.0	0.011
Comorbidities							
Charlson score ≤2	425 (%)	175 (72.0%)	180 (60.8%)	18 (72.0%)	38 (66.7%)	14 (37.8%)	0.001
Tumor burden							
Size of largest nodule	5.3 ± 3.1	5.6 ± 3.3	4.7 ± 2.3	5.8 ± 5.5	6.5 ± 2.7	6.9 ± 4.5	<0.001
Single nodule <10 cm	162 (61.1%)	87 (35.8%)	56 (18.9%)	1 (4.0%)	13 (22.8%)	5 (13.5%)	<0.001
Multinodular	456 (65.5%)	145(59.7%)	233 (78.7%)	18 (72.0%)	39 (68.4%)	21 (56.7%)	<0.001
Single nodule ≥10 cm or diffuse	32 (4.6%)	8 (3.3%)	5 (1.7%)	4 (16.0%)	5 (8.8%)	10 (27.0%)	<0.001

*data available in 623 (89.5%) patients; **data available in 567 (81.5%) patients; *** data available in 561 (80.6%) patients.

Trentotto pazienti (5.4%) sono stati persi al follow-up prima di ricevere qualsiasi tipo di trattamento. Dei rimanenti 658 pazienti meno della metà (n = 296, 44.9%) hanno ricevuto un trattamento con TACE, mentre 243 (36.9%) un trattamento curativo (12 OLT, 111 resezioni, 45 RF e 75 PEI), 25 (3.8%) sorafenib, 57 (8.7%) altri trattamenti e 37 (5.6%) BSC (Figura 15).

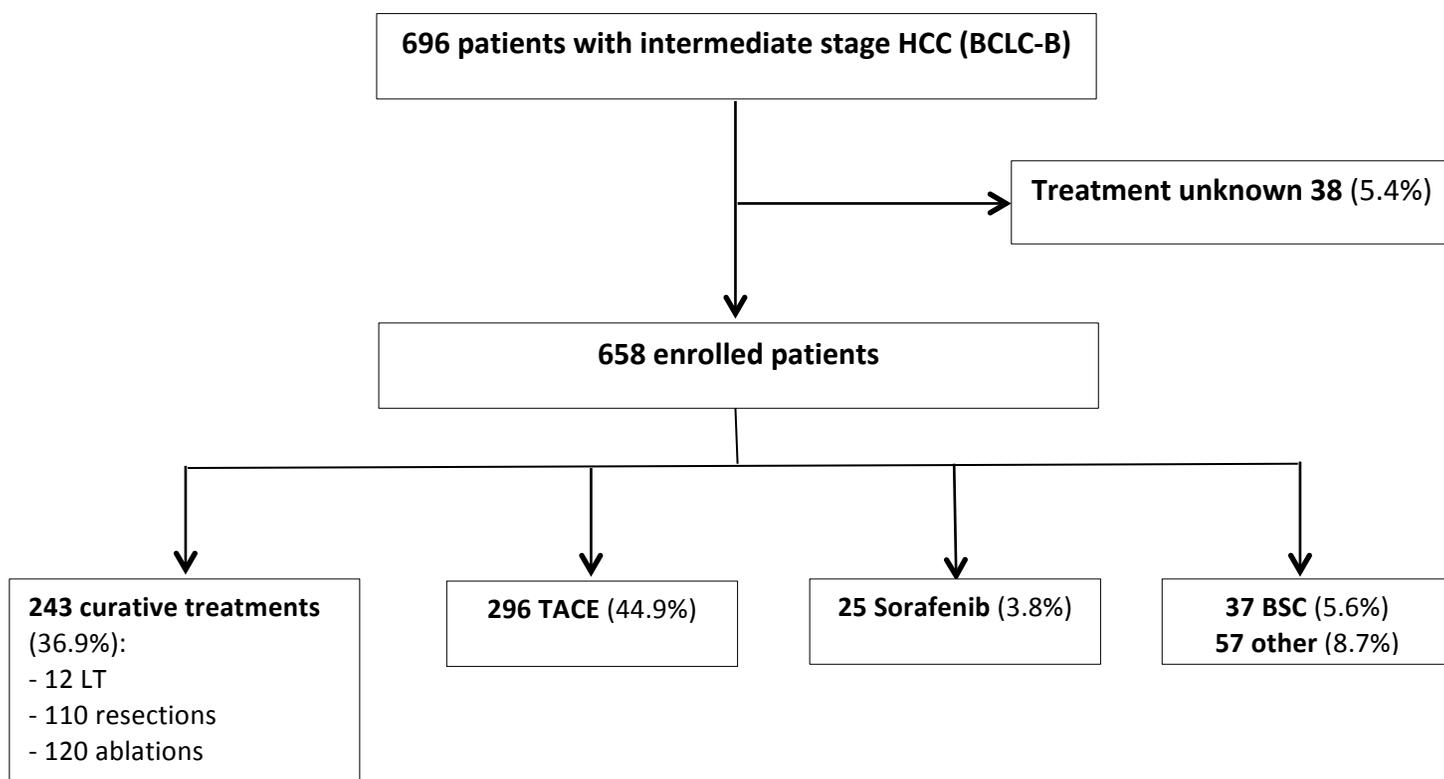
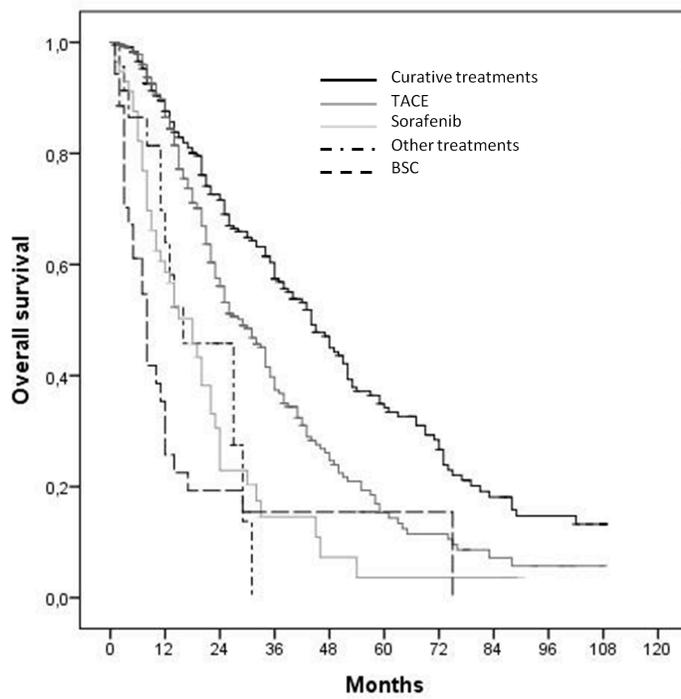


Figura 15. Distribuzione dei trattamenti nei pazienti con nuova diagnosi di HCC in stadio intermedio.

Dall'analisi statistica è emerso che, al momento della diagnosi, i pazienti trattati con approcci curativi esordiscono più frequentemente con HCC monofocale, rispetto ai pazienti trattati con TACE ($p < 0.0001$), mentre i pazienti trattati con cure palliative presentano più spesso una scarsa funzione epatica (Child-Pugh B9) ed un HCC massivo ($p < 0.0001$).

Il follow-up mediano è stato di 20 mesi (range 1-150), durante il quale 152 pazienti (21.8%), hanno ricevuto un secondo trattamento dopo la terapia di prima linea e 423 pazienti (60.8%) sono deceduti per progressione tumorale ($n= 255$; 60.3%), insufficienza epatica ($n=31$; 7.3%), altre neoplasie ($n=10$; 2.4%), sanguinamenti gastrointestinali/peritoneali ($n=5$; 1.2%), malattie cardiovascolari ($n=5$; 1.2%) e cause non note ($n= 109$; 25.8%). La distribuzione delle cause di morte tra i gruppi di trattamento, non differisce in maniera statisticamente significativa ($p=0.226$).

La sopravvivenza mediana nell'intera popolazione è stata di 31 mesi (95% CI: 27.4-34.6), mentre la sopravvivenza mediana per tipo di trattamento è risultata di 44 mesi (95% CI: 37.5-50.5) per il gruppo sottoposto a procedure curative, 29 mesi (95% CI: 24.5-33.5) per i pazienti sottoposti a TACE, 16 mesi (95% CI: 5.3-26.7) per il gruppo trattato con sorafenib, 18 mesi (95% CI: 11.9-24.1) per i pazienti sottoposti ad altri trattamenti ed 8 mesi (95% CI: 5.3-10.6) per i pazienti trattati con BSC, con tassi di sopravvivenza ad 1, 3 e 5 anni di 89.4%, 60.3% e 34.9% per i trattamenti curativi, 89.8%, 39.7% e 15.3% per la TACE, 69.8%, 0% e 0% per il sorafenib, 60.6%, 14.6% e 3.6% per altri trattamenti, 35.4%, 15.4% e 0% per BSC (Figura 16).



Patients at risk

Months	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144
Curative	243	192	142	103	66	45	31	17	10	6	3	2	0
TACE	296	219	120	66	35	16	11	4	2	0			
Sorafenib	25	11	6	0									
Other.	57	30	11	3	1	0							
BSC	37	10	4	1	1	0							

Figura 16. Curve di sopravvivenza per tipo di trattamento (curativi vs TACE: $p < 0.0001$, TACE vs sorafenib: $p < 0.0001$, sorafenib vs altri trattamenti: $p = 0.815$, altri trattamenti vs BSC: $p = 0.078$).

Dopo aver rimosso i 38 pazienti persi al follow-up l'analisi univariata ha mostrato che lo score di Child-Pugh, il MELD, la sodiemia, lo score di Charlson, la presenza di varici, l'estensione tumorale, alti livelli di AFP e il tipo di trattamento, sono associati con la sopravvivenza (Tabella 12).

Tabella 12. Analisi uni e multivariata.

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis	
	HR	95% CI	P value	HR	95% CI
Treatment	1.493	1.376-1.620	< 0.001		
Best Supportive Care	Reference			Reference	
Other treatments	0.663	0.412-1.067	0.091	1.095	0.586-2.047
Sorafenib	0.651	0.342-1.240	0.192	1.235	0.500-3.049
TACE	0.315	0.211-0.471	< 0.001	0.492	0.284-0.854
Curative	0.202	0.134-0.304	< 0.001	0.320	0.180-0.570
Age	1.007	0.997-1.018	0.169		
Sex	0.835	0.659-1.058	0.135		
Etiology	0.999	0.924-1.080	0.979		
HBV	0.884	0.673-1.161	0.375		
HCV	1.101	0.905-1.340	0.336		
HBV+HCV	1.115	0.703-1.769	0.643		
Alcohol	1.027	0.806-1.309	0.827		
Others	0.896	0.633-1.268	0.535		
Surveillance	0.972	0.795-1.188	0.782		
Size of the largest nodule	1.003	0.970-1.037	0.873		
Tumor burden	1.386	1.128-1.704	0.002	1.287	0.971-1.707
Child-Pugh score	1.239	1.074-1.430	0.003	1.022	0.788-1.327
MELD score (>9)	1.561	1.262-1.931	< 0.001	1.348	1.012-1.797
AFP >200 ng/mL	1.940	1.525-2.469	< 0.001	1.530	1.100-2.129
Creatinine (mg/dL)	1.159	0.927-1.448	0.194		
Sodium ≤139 mmol/L	1.286	1.007-1.642	0.05	1.089	0.829-1.429
Charlson score >2	1.291	1.051-1.585	0.015	1.205	0.815-1.782

Per eliminare ogni possibile fattore di confondimento, è stata eseguita una propensity score analysis sui pazienti sottoposti a trattamenti curativi e a TACE, utilizzando le seguenti variabili: estensione tumorale, score MELD, livelli di AFP >200 ng/mL e score di Charlson (Tabella 13).

Tabella 13. Caratteristiche dei pazienti trattati con procedure curative e con TACE.

Variable	All patients (n=539)	Curative (n= 243)	TACE (n= 296)	p value
Age (mean; SD)	67.0 ± 9.5	66.4 ± 10.4	67.5 ± 8.7	0.168
Age ≤ 68 (N; %)	288 (53.4)	131 (53.9)	157 (53.0)	0.862
Male sex (N; %)	438 (81.3)	198 (81.5)	240 (81.1)	0.912
Etiology*				0.924
HBV (N;%)	88 (16.3)	41 (16.9)	47 (15.9)	0.725
HCV (N;%)	244 (45.3)	105 (43.2)	139 (46.9)	0.538
HBV+HCV (N;%)	21 (3.9)	8 (3.3)	13 (4.4)	0.656
Alcohol (N;%)	97 (18.0)	41 (16.9)	56 (18.9)	0.651
Others (N;%)	60 (11.1)	28 (11.5)	32 (10.8)	0.783
Diagnosis and management				
Surveillance (N; %)	232 (43.0)	92 (37.9)	140 (47.3)	0.012
Liver function				
Child-Pugh class **				0.247
A (N; %)	333 (61.8)	155 (63.8)	178 (60.1)	0.156
B7 (N; %)	62 (11.5)	22 (9.0)	40 (13.5)	0.130
B8-9 (N; %)	53 (9.8)	22 (9.0)	31 (10.5)	0.660
MELD ≤9 (N; %)	234 (43.4)	119 (49.0)	115 (38.8)	<0.0001
Laboratory test				
AFP ***				
≤200 ng/mL (N; %)	374 (69.4)	177 (72.8)	197 (66.5)	0.030
>200 ng/mL (N; %)	85 (15.8)	29 (11.9)	56 (18.9)	0.030
Comorbidities				
Charlson score ≤2 (N; %)	355 (65.9)	175 (72.0)	180 (60.8)	0.008
Tumor burden				
Size of largest nodule (mean; SD)	5.1 ± 2.8	5.6 ± 3.3	4.7 ± 2.3	<0.0001
Single nodule <10 cm (N; %)	143 (26.5)	87 (35.8)	56 (18.9)	<0.0001
Multinodular (N; %)	378 (70.1)	145 (59.7)	233 (78.7)	<0.0001
Single nodule ≥10 cm or diffuse (N; %)	13 (2.4)	8 (3.3)	5 (1.7)	0.266

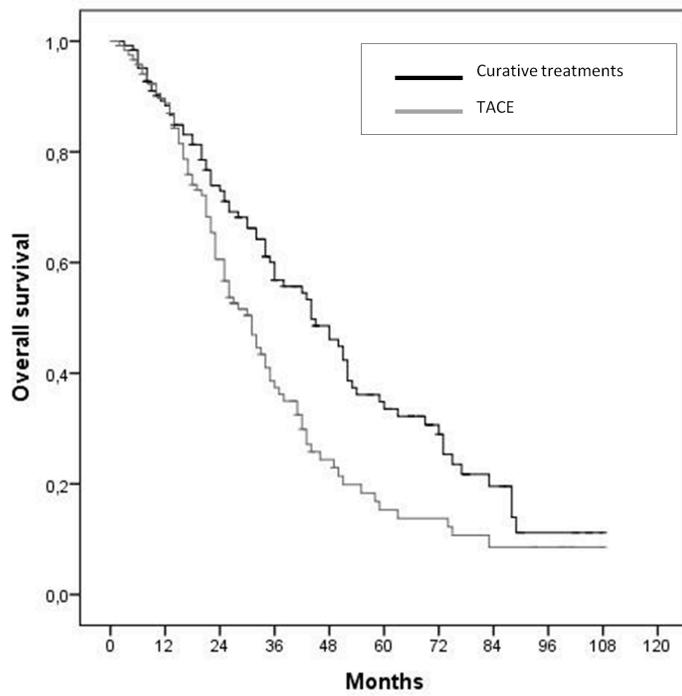
* data available in 510 (94.6%) patients; ** data available in 448 (83.1%) patients; *** data available in 459 (85.1%) patients

Attraverso questo modello sono stati accoppiati 126 pazienti trattati con procedure curative a 126 pazienti trattati con TACE (tabella 14).

Tabella 14. Caratteristiche dei pazienti trattati con procedure curative e con TACE, dopo propensity score analysis.

Variable	All patients (n=252)	Curative (n= 126)	TACE (n= 126)	p value	d value
Age (mean; SD)	67.4 ± 10.0	66.5 ± 10.9	68.3 ± 8.8	0.159	- 0.182
Age ≤ 68 (N; %)	123 (48.8)	66 (52.4)	57 (45.2)	0.313	0.101
Male sex (N; %)	208 (82.5)	108 (85.7)	100 (79.4)	0.245	0.119
Etiology					
HBV (N; %)	38 (15.1)	23 (18.2)	15 (11.9)	0.159	0.126
HCV (N; %)	111 (44.0)	54 (42.9)	57 (45.2)	0.898	- 0.034
HBV+HCV (N; %)	9 (3.6)	5 (4.0)	4 (3.2)	0.747	0.030
Alcohol (N; %)	58 (23.0)	26 (20.6)	32 (25.4)	0.456	- 0.080
Others (N;%)	28 (11.1)	12 (9.5)	16 (12.7)	0.549	- 0.072
Diagnosis and management					
Surveillance (N; %)	93 (36.9)	41 (32.5)	52 (41.3)	0.185	- 0.128
Liver function					
Child-Pugh class					
A (N; %)	187 (74.2)	94 (74.6)	93 (73.8)	0.884	0.013
B7 (N; %)	34 (13.5)	17 (13.5)	17 (13.5)	1	0.000
B8-9 (N; %)	28 (11.1)	15 (11.9)	13 (10.3)	0.842	0.036
MELD ≤9 (N; %)	118 (46.8)	58 (46.0)	60 (47.6)	0.900	- 0.022
Laboratory test					
AFP					
≤200 ng/mL (N; %)	210 (83.3)	105 (83.3)	105 (83.3)	1	0.000
>200 ng/mL (N; %)	42 (16.7)	21 (16.7)	21 (16.7)	1	0.000
Comorbidities					
Charlson score ≤2 (N; %)	153 (60.7)	76 (60.3)	77 (61.1)	1	- 0.011
Tumor burden					
Size of largest nodule (mean; SD)	4.9 ± 2.2	5.0 ± 2.2	4.8 ± 2.1	0.510	0.093
Single nodule <10 cm (N; %)	79 (31.3)	39 (30.9)	40 (31.7)	1	- 0.012
Multinodular (N; %)	168 (66.7)	84 (66.7)	84 (66.7)	1	0.000
Single nodule ≥10 cm or diffuse (N; %)	5 (2.0)	3 (2.4)	2 (1.6)	1	0.040

Dopo il match la sopravvivenza si è confermata maggiore nel primo gruppo rispetto al gruppo trattato con TACE (mediana 44 mesi [95% CI: 33.1-54.9] vs. 31 mesi [95% CI: 25.4-36.6], p=0.005) con tassi di sopravvivenza a 1, 3, e 5 anni di 89.2%, 60%, e 34.8%, vs. 89.7%, 38.6% e 15.3%, rispettivamente (Figura 17).



Patients at risk

Months	0	12	24	36	48	60	72	84	96	108	120	132	144
Curative	126	101	77	55	37	26	16	9	3	1	0		
TACE	126	99	62	31	17	10	9	4	3	0			

Figura 17. Curve di sopravvivenza nei pazienti trattati con procedure curative o TACE dopo match con il metodo del propensity score analysis.

Discussione

Negli anni passati, il campo dell'epatologia, e in particolare dell'epatocarcinoma (HCC), è stato segnato da alcuni fondamentali progressi. Tra questi vanno annoverati l'implemento dei programmi di sorveglianza con strumentazioni sempre più sofisticate nei pazienti a rischio; l'adozione da parte delle linee guida del sistema di stadiazione Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) che ha delineato per ciascun stadio il trattamento ritenuto più efficace [5;6]; l'utilizzo per i nuovi nati della vaccinazione anti HBV [20]; l'avvento dei nuovi farmaci antivirali [21]; l'introduzione nell'armamentario terapeutico, a partire dal 2008, di un nuovo farmaco sistemico ad azione antiangiogenetica per l'HCC in stadio avanzato [22]. Queste "pietre miliari" hanno contribuito a modificare l'epidemiologia dell'HCC e la presente tesi, attraverso i quattro studi presentati, ha analizzato le ripercussioni che questi cambiamenti hanno avuto nella pratica clinica quotidiana e nella gestione del paziente affetto da tale patologia.

Studio 1:

Analisi dei cambiamenti epidemiologici avvenuti nel campo dell'epatocarcinoma negli ultimi 10 anni.

I pazienti con HCC sono più vecchi e più dismetabolici.

Lo studio conferma il progressivo calo di HCC insorti nel contesto di una epatopatia HCV relata. Questo è in parte dovuto all'effetto coorte dell'infezione da virus C che ha visto la sua massima diffusione negli anni '60 e '70 del secolo scorso, e che ha iniziato a essere efficacemente controllata a partire dal 1990 con l'utilizzo dei test di screening per identificare i pazienti portatori del virus [23]. Inoltre la diffusione dei nuovi farmaci antivirali può aver contribuito a favorire questo andamento in riduzione [21].

Analogamente a quanto già osservato nei Paesi anglosassoni, stanno aumentando anche in Italia i casi di HCC in pazienti affetti da cirrosi dismetabolica o criptogenetica, confermando l'importanza della sindrome metabolica, in particolare obesità e diabete, quali fattori di rischio neoplastico [3;25]. La proporzione dei casi di HCC alcol-correlati, non ha invece subito modificazioni nel tempo. Appare pertanto verosimile che negli anni a venire, la proporzione delle eziologie non virali in particolare alcoliche e dismetaboliche raggiungerà e, forse, supererà le eziologie virali.

Questi cambiamenti eziologici giustificano: il progressivo invecchiamento dei pazienti al momento della diagnosi di HCC, l'aumento delle comorbidità extrapatiche, in particolare patologie cardio-vascolari, e il fallimento dei programmi di sorveglianza. Il primo aspetto è legato ad una diagnosi ritardata di neoplasia, dovuta alla scarsa consapevolezza dei pazienti con epatopatia alcolica, o alla mancata consapevolezza dei pazienti con epatopatia dismetabolica o criptogenetica, di essere portatori di una malattia di fegato unita all'assenza di un programma di sorveglianza.

Il secondo aspetto pregiudicherà in una larga quota di pazienti l'applicazione del trattamento standard raccomandato dalle linee guida, come peraltro evidenziato nello studio dove si osserva un aumento delle cure palliative nell'ultimo quadriennio, nonostante la riduzione di tumori diagnosticati allo stadio terminale e l'avvento del sorafenib dopo il 2008.

Per quanto riguarda il terzo ed ultimo aspetto l'aumento di HCC "non virali" giustifica il mancato aumento dei casi di HCC diagnosticati in sorveglianza a fronte di un aumento dei casi diagnosticati quando sintomatici.

I pazienti con HCC hanno una funzione epatica conservata e più frequentemente esordiscono in stadio precoce.

Dopo il 2008, la percentuale di pazienti con funzione epatica ben conservata (Child-Pugh A) al momento della diagnosi è aumentata dell'11%. A questo hanno contribuito: una miglior gestione dei pazienti affetti da ipertensione portale, i nuovi farmaci antivirali in grado di prevenire la progressione a cirrosi e quindi ad un

eventuale scompenso epatico, l'aumento del numero di pazienti dismetabolici in cui la comparsa di HCC anticipa la progressione a cirrosi [24;25].

Nell'ultimo quadriennio (2009-2012), la prevalenza di HCC in stadio very early/early ha raggiunto il 57% e il numero di HCC singoli è quasi triplicato. Nonostante non sia stato registrato un aumento dei casi diagnosticati in sorveglianza, per coloro che seguono regolarmente il follow-up, questa favorevole "migrazione di stadio" può essere attribuita all'aumento dei controlli semestrali anziché annuali e all'aumento dei casi di epatopatia ben compensata che verosimilmente non mostreranno all'ecografia un ecostruttura epatica tipo coarse-pattern, la quale potrebbe pregiudicare l'accuratezza diagnostica nella diagnosi precoce di HCC.

L'applicazione di un regolare programma di sorveglianza per i pazienti a rischio rimane comunque deludente, poiché solo la metà dei casi di HCC in Italia viene diagnosticato con questa modalità.

I pazienti con HCC mostrano un diverso scenario terapeutico.

Gli approcci terapeutici al paziente con HCC sono parzialmente cambiati attraverso gli anni. Nonostante la funzione epatica conservata e l'aumento del numero di noduli singoli alla diagnosi, non si registra un aumento dei trattamenti di tipo chirurgico. Questo probabilmente è dovuto all'aumento delle comorbidità extraepatiche e all'invecchiamento dei pazienti. Inoltre, gli ottimi risultati della termoablazione con radiofrequenza (RF) per gli HCC in stadio precoce [26] e l'esclusione dei tumori T1 dall'indicazione a trapianto di fegato [27], hanno sottratto una quota di pazienti alla chirurgia. I casi di HCC trattati con RF sono pertanto in aumento a scapito dei casi trattati con PEI.

I pazienti con HCC sopravvivono più a lungo.

L'esordio di malattia in stadio precoce e con normali livelli di AFP, unito ad una migliore funzione epatica si riflette in un progressivo aumento della sopravvivenza a partire dal 2008 (40 mesi (95% CI 34.43-45.56) vs 34 mesi (95% CI 30.69-37.31) del quadriennio 2001-2004).

Studio 2:

Confronto delle caratteristiche cliniche dell'HCC insorto nel contesto di steatosi epatica non alcolica (NAFLD) con l'HCC su cirrosi epatica HCV- relata.

A seguito di quanto emerso dallo studio 1, con riscontro anche da altri dati presenti in letteratura, appare plausibile che nei prossimi anni assisteremo ad un rapido aumento dell'incidenza di HCC su NAFLD o NASH.

La storia naturale dell'epatocarcinoma su steatosi epatica o steatopatie è tuttavia ancora poco conosciuta e soprattutto manca un confronto con le caratteristiche dell'epatocarcinoma insorto su epatopatia ad eziologia virale.

Da queste premesse nasce il rationale per il secondo studio, da cui è emerso che in circa la metà dei pazienti con NAFLD, l'HCC insorge nel contesto di un fegato non cirrotico, in linea con quanto riportato da altri studi [24;25].

Inoltre i pazienti con HCC-NAFLD hanno una sopravvivenza inferiore rispetto ai pazienti con HCC-HCV. Tuttavia le due popolazioni mostrano caratteristiche tumorali estremamente differenti, suggerendo che la sopravvivenza globale non dovrebbe essere considerata un indicatore affidabile di progressione di malattia, dato il forte impatto che ha l'estensione tumorale sulla prognosi [8;11]. Questa conclusione è supportata dall'evidenza che dopo l'eliminazione dei fattori di confondimento attraverso propensity analysis, le differenze nella sopravvivenza sono diventate meno marcate non raggiungendo più una differenza statisticamente significativa.

Approssimativamente il 15% dei pazienti HCC-NAFLD esordisce con un tumore infiltrante, quindi in stadio avanzato. Questa percentuale è alta a confronto dei pazienti con HCC-HCV della nostra casistica (in cui solo il 2% esordisce in forma infiltrante), ma è analoga a quelle riportate in altri studi in cui sono stati analizzati pazienti con HCC su epatopatie ad eziologia virale, non inseriti in un programma di sorveglianza [28].

Il frequente esordio in stadio avanzato dei pazienti con NAFLD o NASH è dovuto ad un ritardo nella diagnosi, non essendo previsto per questi pazienti un programma di sorveglianza. Appare pertanto evidente la necessità di sviluppare nuove strategie per identificare i pazienti a rischio che richiedono controlli clinici e strumentali seriati e di redigere nuove linee guida in questo senso, soprattutto per i pazienti con steatosi epatica non alcolica.

Le attuali raccomandazioni sono state disegnate considerando il rapporto tra il costo nel diagnosticare ogni nuovo HCC e la possibilità di trattarlo. Nel caso dei pazienti con NAFLD senza cirrosi mancano precise informazioni sull'incidenza di HCC ma, come emerso dal presente studio, un'alta percentuale di pazienti NAFLD è candidabile alla chirurgia, che ridurrebbe il tasso di recidiva aumentando la sopravvivenza.

Studio 3:

Valutazione del ruolo prognostico delle variabili cliniche che contribuiscono a definire il BCLC, con una particolare attenzione al Performance Status.

Validazione del sistema di sotto-stadiazione dello stadio intermedio (BCLC-B) proposto.

Il rapido incremento delle epatopatie dismetaboliche (NAFLD e NASH) che sfuggono ai programmi di sorveglianza si tradurrà in una maggior quota di pazienti con HCC diagnosticato ad uno stadio intermedio (BCLC-B) o avanzato (BCLC-C). Come discusso nel capitolo introduttivo questi sono i due stadi del BCLC più criticati, il primo per l'eterogeneità che lo caratterizza, il secondo per il ruolo rivestito dal Performance Status.

I risultati dello studio supportano la scelta di introdurre il PS tra le variabili utilizzate per definire lo stadio del paziente, poiché ha dimostrato avere un impatto sulla sopravvivenza. Tuttavia nel paziente affetto da epatocarcinoma può essere difficile stabilire il corretto PS, per la contemporanea presenza del tumore e della cirrosi sottostante. Questo è particolarmente evidente in caso di una restrizione nelle attività fisiche intense, senza alcuna limitazione nelle attività quotidiane. Tale condizione, che può verificarsi spesso nel paziente con cirrosi, corrisponde ad un PS=1 che, secondo il BCLC, classifica un paziente in stadio avanzato, indipendentemente dall'estensione tumorale, pregiudicando in questo modo la scelta del trattamento.

I risultati dell'analisi multivariata di questo studio, supportano il disappunto nel classificare un paziente con PS=1 in stadio avanzato, in accordo con quanto dimostrato da altri studi orientali [10;11].

Nella popolazione in studio la sopravvivenza dei pazienti in stadio avanzato, è risultata più lunga rispetto ai dati riportati in letteratura, ossia superiore a venti mesi, quando l'analisi è stata eseguita secondo la stadiazione del BCLC originale. Tuttavia quando il PS è stato riclassificato secondo i quattro modelli proposti, cioè non considerando più un PS = 1 come avanzato, la sopravvivenza dei pazienti in BCLC-C è tornata in linea con quanto atteso in questi pazienti (10-13 mesi). Questo indica come in realtà, nella pratica clinica quotidiana, i pazienti con PS =1 senza invasione vascolare o metastasi a distanza siano gestiti come se appartenessero allo stadio intermedio. Supportati da queste evidenze l'Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (AISF), ha recentemente rilasciato il position paper per la gestione del paziente con epatocarcinoma in cui ha stabilito che il solo PS=1 non dovrebbe impedire di utilizzare trattamenti locoregionali [36].

In questo studio è stato inoltre dimostrato come la sottostadiazione dello stadio intermedio, recentemente proposta da un gruppo di esperti per facilitare l'allocazione al trattamento, ha una capacità prognostica

soddisfacente soprattutto ridistribuendo i pazienti nei vari stadi secondo il PS, come suggerito dall'analisi multivariata. Come già sottolineato questo rappresenta lo stadio più eterogeneo, sia in termini di estensione tumorale che funzionalità epatica, comprendendo pazienti sia in Child-Pugh A che B. A tale proposito, recentemente, sia l'European Association for the Study of the Liver che l'Associazione Italiana per lo studio del Fegato ha riconosciuto che la classe Child-Pugh B non può più essere considerata un'unica entità per quanto riguarda la scelta del trattamento e, infatti, la TACE è ora raccomandata per i pazienti in classe funzionale B7, che possono meglio tollerare questo trattamento. Tutte queste ragioni giustificano la necessità di una sottostadiazione dell'intermedio per guidare la scelta terapeutica.

Studio 4:

Valutazione del tipo di trattamento eseguito in una larga coorte di pazienti in stadio intermedio e loro outcome.

Una quota considerevole di pazienti con HCC è ancora diagnosticata in stadio intermedio, generalmente al di fuori di un programma di sorveglianza. Questo stadio comprende una popolazione estremamente eterogenea che può differire per due aspetti cruciali per la prognosi e per la scelta terapeutica: l'estensione tumorale e la funzionalità epatica. Il BCLC per questi pazienti propone la TACE come unico trattamento di prima linea. Considerando i progressi nel trattamento dell'HCC non resecabile, questa indicazione appare troppo restrittiva ed obsoleta. Pertanto nella pratica clinica è comune non attenersi a quanto raccomandato dalle linee guida e gli esperti sono sempre più inclini a trattamenti flessibili e personalizzati.

Questo studio dimostra come la gestione del paziente con HCC in stadio intermedio devia dalle raccomandazioni del BCLC in oltre la metà dei casi e che la scelta del tipo di trattamento ha un forte impatto sulla prognosi del paziente in questo stadio. Le sopravvivenze, infatti, diminuiscono progressivamente dagli approcci curativi a quelli palliativi, con una differenza impressionante tra i trattamenti curativi e le TACE (sopravvivenze mediane 44 mesi vs 29 mesi, $p < 0.0001$), come peraltro già dimostrato in altri studi [29; 30] dove però la sopravvivenza non è stata aggiustata per i possibili fattori di confondimento, incluse le comorbidità, dovuti ad una diversa distribuzione dei numerosi fattori prognostici tra i sottogruppi di trattamento. Nel presente studio invece questo bias è stato eliminato usando sia l'analisi multivariata che la propensity analysis, dopo la quale si è comunque mantenuta una differenza statisticamente significativa tra la sopravvivenza dei pazienti trattati con approcci curativi e quelli trattati con TACE. La scelta del trattamento mantiene quindi la sua importanza prognostica nel paziente in stadio BCLC-B, anche dopo aver eliminato i possibili fattori di confondimento che potrebbero avere un impatto sulla sopravvivenza, confermando questo dato sia nei pazienti in Child-Pugh A e B sia nei pazienti con comorbidità.

La TACE non può più essere considerata il trattamento di prima linea per i pazienti in stadio intermedio che, in assenza di controindicazioni, dovrebbero essere indirizzati ad un trattamento più radicale come la chirurgia o l'ablazione percutanea. Questo è supportato da numerose evidenze in letteratura: studi di coorte che hanno mostrato la superiorità della chirurgia su altri trattamenti [31]; studi che hanno testato criteri di estensione o di downstaging aprendo al trapianto i pazienti in stadio BCLC-B [32;33]; trial controllati randomizzati che hanno mostrato come la resezione epatica sia superiore alla TACE in termini di sopravvivenza nei pazienti con HCC resecabile oltre i criteri di Milano [34]. Pertanto in pazienti in stadio intermedio, ben selezionati, la chirurgia e le ablazioni percutanee, dovrebbero essere considerate come una "migrazione di trattamento" favorevole, piuttosto che un overtreatment. Bisogna inoltre considerare come per alcuni pazienti la TACE possa rappresentare un trattamento inappropriato e talvolta potenzialmente dannoso, come ad esempio nei

pazienti con Child-Pugh score >7 , severe comorbidità, lesioni singole di grandi dimensioni o più di 4 noduli [35]. Inoltre nella nostra casistica, i pazienti trattati con BSC presentano più frequentemente una funzione epatica compromessa (Child-Pugh 8-9), un tumore multinodulare o infiltrativo e multiple comorbidità. Per questi pazienti l'approccio palliativo è il più indicato e quindi questa scelta non può essere considerata un under-treatment ma una decisione clinica personalizzata per il paziente.

Conclusioni e prospettive future.

L'epidemiologia dell'epatocarcinoma sta rapidamente evolvendo. Nei prossimi anni dovremmo gestire pazienti sempre più anziani e con maggiori comorbidità extraepatiche soprattutto di tipo cardiovascolare, dovute alla diffusione delle patologie dismetaboliche. Le conoscenze sulla relazione tra queste patologie e lo sviluppo di epatocarcinoma sono ancora limitate e molti sforzi si stanno compiendo in questo senso. La mancanza di un programma di sorveglianza per i pazienti affetti da NAFLD e NASH implica un ritardo nella diagnosi, quando il tumore diventa clinicamente manifesto e pertanto è necessaria un'efficace campagna di prevenzione primaria e secondaria in modo da identificare correttamente i pazienti a rischio per inserirli in un programma di sorveglianza.

A causa della diagnosi tardiva, inoltre, l'epatocarcinoma si presenterà sempre più frequentemente in forma multinodulare, diffusa od infiltrante, ossia in stadio intermedio (BCLC-B) o avanzato (BCLC-C), che attualmente comprendono la popolazione di pazienti più eterogenea.

Un primo passo per una migliore allocazione e stratificazione all'interno del sistema di stadiazione BCLC, potrebbe essere quello di considerare equivalenti i pazienti con PS=1 e PS=0. In questo modo non sarebbe pregiudicata la scelta terapeutica potendo, alcuni casi selezionati, beneficiare di trattamenti curativi che porterebbero ad un beneficio in termini di sopravvivenza.

Per quanto riguarda i pazienti in stadio intermedio, le attuali linee guida raccomandano come unico trattamento di prima linea la chemioembolizzazione intrarteriosa. Tuttavia l'approccio più corretto dovrebbe essere quello di scegliere tra un ventaglio di opzioni terapeutiche, nell'ottica di una *medicina* personalizzata che tenga conto dell'estensione tumorale, della funzionalità epatica, delle comorbidità e della scelta del paziente, preferendo, quando possibile e dopo discussione multidisciplinare, un trattamento di tipo curativo in quanto associato ad una prognosi migliore.

Bibliografia

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015 Mar 1;136(5).
- [2] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012;379:1245-1255.
- [3] Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, Lochan R, Graham J, Das D, Aslam T, Patanwala I, Gaggar S, Cole M, Sumpter K, Stewart S, Rose J, Hudson M, Manas D, Reeves HL. Hepatocellular cancer: the impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol*. 2014 Jan;60(1):110-7.
- [4] El-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004 Feb;126(2):460-8.
- [5] Bruix J, Sherman M; Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005 Nov;42(5):1208-36.
- [6] European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012 Apr;56(4):908-43.
- [7] Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. *Semin Liver Dis* 2010;30:61-74.
- [8] Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999;19:329-338.
- [9] Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T., Carbone, P.P.: Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 5:649-655, 1982.
- [10] Hsu CY, Lee YH, Hsia CY, Huang YH, Su CW, Lin HC, Lee RC, Chiou YY, Lee FY, Huo TI. Performance status in patients with hepatocellular carcinoma: determinants, prognostic impact, and ability to improve the Barcelona Clinic Liver Cancer system. *Hepatology*. 2013 Jan;57(1):112-9.
- [11] Yau T, Tang VY, Yao TJ, Fan ST, Lo CM, Poon RT. Development of Hong Kong Liver Cancer staging system with treatment stratification for patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2014 Jun;146(7):1691-700.
- [12] Bolondi L, Burroughs A, Dufour JF, Galle PR, Mazzaferro V, Piscaglia F, Raoul JL, Sangro B. Heterogeneity of patients with intermediate (BCLC B) Hepatocellular Carcinoma: proposal for a subclassification to facilitate treatment decisions. *Semin Liver Dis*. 2012 Nov;32(4):348-59.
- [13] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003;37:429-42.
- [14] Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, Bhoori S, Schiavo M, Mariani L, Camerini T, Roayaie S, Schwartz ME, Grazi GL, Adam R, Neuhaus P, Salizzoni M, Bruix J, Forner A, De Carlis L, Cillo U, Burroughs AK, Troisi R, Rossi M, Gerunda GE, Lerut J, Belghiti J, Boin I, Gugenheim J, Rochling F, Van Hoek B, Majno P; Metroticket Investigator Study Group. Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol*. 2009 Jan;10(1):35-43.
- [15] Cucchetti A, Trevisani F, Pecorelli A, Erroi V, Farinati F, Ciccarese F, Rapaccini GL, Di Marco M, Caturelli E, Giannini EG, Zoli M, Borzio F, Cabibbo G, Felder M, Gasbarrini A, Sacco R, Foschi FG, Missale G, Morisco F, Baroni GS, Virdone R, Bernardi M, Pinna AD; Italian Liver Cancer Group. Estimation of lead-time bias and its impact on the outcome of surveillance for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2014

Aug;61(2):333-41.

- [16] Ueno S, Tanabe G, Sako K, Hiwaki T, Hokotate H, Fukukura Y, Baba Y, Imamura Y, Aikou T. Discrimination value of the new western prognostic system (CLIP score) for hepatocellular carcinoma in 662 Japanese patients. *Cancer of the Liver Italian Program. Hepatology*. 2001 Sep;34(3):529-34.
- [17] Ravaioli M, Grazi GL, Piscaglia F, Trevisani F, Cescon M, Ercolani G, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: results of down-staging in patients initially outside the Milan selection criteria. *Am J Transplant*. 2008;8:2547-57.
- [18] Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40:373-83.
- [19] D'Agostino RB Jr. Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non randomized control group. *Stat Med* 1998;17:2265-81.
- [20] Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. *Vaccine*. 2008 Nov 18;26(49):6266-73.
- [21] Singal AK, Singh A, Jaganmohan S, Guturu P, Mummadi R, Kuo YF, Sood GK. Antiviral therapy reduces risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010 Feb;8(2):192-9.
- [22] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2008 Jul 24;359(4):378-90.
- [23] Nordenstedt H, White DL, El-Serag HB. The changing pattern of epidemiology in hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2010 Jul;42 Suppl 3:S206-14.
- [24] Paradis V, Zalinski S, Chelbi E, Guedj N, Degos F, Vilgrain V, Bedossa P, Belghiti J. Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):851-9.
- [25] Mittal S, Sada YH, El-Serag HB, Kanwal F, Duan Z, Temple S, May SB, Kramer JR, Richardson PA, Davila JA. Temporal Trends of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Related Hepatocellular Carcinoma in the Veteran Affairs Population. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug 19.
- [26] 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 Jan;47(1):82-9.
- [27] Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, Gores GJ, Langer B, Perrier A; OLT for HCC Consensus Group. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol*. 2012 Jan;13(1):e11-22.
- [28] Kneuert PJ, Demirjian A, Firoozmand A, Corona-Villalobos C, Bhagat N, Herman J, Cameron A, Gurakar A, Cosgrove D, Choti MA, Geschwind JF, Kamel IR, Pawlik TM. Diffuse infiltrative hepatocellular carcinoma: assessment of presentation, treatment, and outcomes. *Ann Surg Oncol*. 2012 Sep;19(9):2897-907.
- [29] D'Avola D, Iñarrairaegui M, Pardo F, Rotellar F, Marti P, Bilbao JI, Martinez-Cuesta A, Benito A, Alegre F, Mauleón E, Herrero JI, Quiroga J, Prieto J, Sangro B. Prognosis of hepatocellular carcinoma in relation to treatment across BCLC stages. *Ann Surg Oncol*. 2011 Jul;18(7):1964-71.
- [30] Ho EY, Cozen ML, Shen H, Lerrigo R, Trimble E, Ryan JC, Corvera CU, Monto A; HOVAS Group (Hepatocellular Carcinoma Treatment Outcome at VA San Francisco). Expanded use of aggressive therapies

- improves survival in early and intermediate hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford)*. 2014 Aug;16(8):758-67.
- [31] Lin CT, Hsu KF, Chen TW, Yu JC, Chan DC, Yu CY, Hsieh TY, Fan HL, Kuo SM, Chung KP, Hsieh CB. Comparing hepatic resection and transarterial chemoembolization for Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) stage B hepatocellular carcinoma: change for treatment of choice? *World J Surg*. 2010 Sep;34(9):2155-61.
- [32] Ravaioli M, Grazi GL, Piscaglia F, Trevisani F, Cescon M, Ercolani G, Vivarelli M, Golfieri R, D'Errico Grigioni A, Panzini I, Morelli C, Bernardi M, Bolondi L, Pinna AD. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: results of down-staging in patients initially outside the Milan selection criteria. *Am J Transplant*. 2008 Dec;8(12):2547-57.
- [33] Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, Bhoori S, Schiavo M, Mariani L, Camerini T, Roayaie S, Schwartz ME, Grazi GL, Adam R, Neuhaus P, Salizzoni M, Bruix J, Forner A, De Carlis L, Cillo U, Burroughs AK, Troisi R, Rossi M, Gerunda GE, Lerut J, Belghiti J, Boin I, Gugenheim J, Rochling F, Van Hoek B, Majno P; Metroticket Investigator Study Group. Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol*. 2009 Jan;10(1):35-43.
- [34] Yin L, Li H, Li AJ, Lau WY, Pan ZY, Lai EC, Wu MC, Zhou WP. Partial hepatectomy vs. transcatheter arterial chemoembolization for resectable multiple hepatocellular carcinoma beyond Milan Criteria: a RCT. *J Hepatol*. 2014 Jul;61(1):82-8.
- [35] Golfieri R, Renzulli M, Mosconi C, Forlani L, Giampalma E, Piscaglia F, Trevisani F, Bolondi L; Bologna Liver Oncology Group (BLOG). Hepatocellular carcinoma responding to superselective transarterial chemoembolization: an issue of nodule dimension? *J Vasc Interv Radiol*. 2013 Apr;24(4):509-17.
- [36] Italian Association for the Study of the Liver (AISF); AISF Expert Panel; AISF Coordinating Committee, Bolondi L, Cillo U, Colombo M, Craxì A, Farinati F, Giannini EG, Golfieri R, Levrero M, Pinna AD, Piscaglia F, Raimondo G, Trevisani F, Bruno R, Caraceni P, Ciancio A, Coco B, Fraquelli M, Rendina M, Squadrito G, Toniutto P. Position paper of the Italian Association for the Study of the Liver (AISF): the multidisciplinary clinical approach to hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis*. 2013 Sep;45(9):712-23.