

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE MEDICHE GENERALI E SCIENZE DEI SERVIZI
PROGETTO EPATONCOLOGIA

CICLO 32°

Settore Concorsuale di afferenza: 06/B1

Settore Scientifico disciplinare: MED/09

**Aspetti di terapia farmacologica nel paziente affetto da
Epatocarcinoma**

Presentata da Francesca Benevento

Coordinatore del Dottorato

Prof. Fabio Piscaglia

Supervisore

Prof. Fabio Piscaglia

Esame finale anno 2020

INDICE

ABSTRACT	2
1. INTRODUZIONE: L'EPATOCARCINOMA	6
2. SCOPO DELLA TESI	20
3. STUDI PER ESTESO	
3.1 Studio 1	21
3.2 Studio 2	36
3.3 Studio 3	47
4. BIBLIOGRAFIA	62

Abstract della Tesi

In Italia, la maggior parte dei casi di epatocarcinoma (HCC) insorge in pazienti affetti da cirrosi epatica, che presentano un grado variabile di insufficienza epatica. Pertanto, la prognosi dei pazienti con HCC è condizionata non solo dalla estensione della neoplasia, ma anche dalla residua funzione epatica. Una corretta valutazione della cirrosi e della funzione epatica residua è fondamentale non solo ai fini prognostici, ma anche per evitare che il trattamento del tumore comporti un danneggiamento della funzione epatica tale da compromettere i potenziali vantaggi dell'azione antineoplastica o finanche ridurre le aspettative di vita rispetto alla storia naturale.

Scopo della Tesi

Analizzare i principali aspetti della terapia farmacologica del paziente affetto da HCC: in particolare gli obiettivi sono stati tre, ricercati tramite studi separati mirati a:

1. Ricerca di predittori clinico-laboratoristici di risposta al Sorafenib in pazienti ambulatoriali con HCC;
2. Indagare se il decorso naturale e la risposta al trattamento anticoagulante della Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) nei pazienti con cirrosi complicata da carcinoma epatocellulare (HCC) differisca da quelli senza HCC;
3. Fornire nuovi aggiornamenti sull'immunoterapia antineoplastica che promette di plasmare il futuro scenario terapeutico dell'HCC mediante una revisione della letteratura.

Risultati

Studio 1

Tale studio ha utilizzato il database derivato da una piattaforma on-line contenente i dati relativi a pazienti con HCC in terapia con Sorafenib inseriti da un totale di 9 centri partecipanti italiani Ospedaliero-Universitari, tra i quali il nostro centro di Epatologia - Medicina Interna Prof. Piscaglia- Policlinico S.Orsola-Malpighi, ed è stato approvato da tutti i comitati etici locali dei centri partecipanti (CE Policlinico S.Orsola-Malpighi cod 098/2014/OSS). In tale coorte multicentrica italiana sono stati arruolati retrospettivamente/prospettivamente pazienti consecutivi con HCC in terapia con Sorafenib dal 1 gennaio 2008 al 31.12.2018.

I Criteri di inclusione al presente studio prevedevano:

- firma del consenso informato;
- diagnosi di HCC basata su criteri radiologici e ove possibile istologici;
- trattamento con Sorafenib (a qualsiasi dosaggio) per un periodo superiore ai 12 mesi.

Come criteri di esclusione:

- mancanza di dati pregiudicanti le finalità della nostra ricerca (data inizio e fine terapia con Sorafenib, durata di trattamento, CPT score basale, burden di malattia neoplastica basale, presenza o meno di eventi avversi);

Sulla base dei criteri di inclusione sono state individuate 2 popolazioni che hanno beneficiato del trattamento con Sorafenib per un periodo di tempo inferiore o superiore a 12 mesi. Tali popolazioni sono state poi confrontate per le principali differenze clinico-laboratoristiche inficianti la prognosi sulla base dei dati presenti in letteratura.

Della coorte totale multicentrica di 616 pazienti, 49 pazienti (8%) sono stati esclusi sulla base dei criteri di esclusione, dei restanti 567 pazienti (98%), 125 rispettavano i criteri di inclusione al presente studio.

Pertanto sono state individuate 2 popolazioni:

- la prima, che non incontrava i criteri di inclusione, definita dei “Poor Responders” di 442 pazienti
- la seconda che incontrava i criteri di inclusione allo studio, definita dei “Good Responders” di 125 pazienti.

Il confronto tra le due popolazioni ha evidenziato una differenza significativa tra i tassi CPT A5 (218 vs 82, $p=0.022$), di TD medio (125.6 vs 901.18 giorni, $p<0.000$) e di OS media (539 vs 1393 giorni, $p<0.000$) a favore del gruppo dei “Good Responders”.

La presenza di trombosi neoplastica nella popolazione dei “Poor Responders” ha un impatto statisticamente significativo sulla OS ($p<0.001$), mentre tale evidenza non si conferma nella popolazione dei “Good Responders”($p=0.252$)

Studio 2

Abbiamo retrospettivamente individuato una coorte di 162 pazienti seguiti tra Gennaio 2008 e Marzo 2016, affetti da Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) in due centri di riferimento per l'epatologia, uno in Italia (Policlinico S. Orsola Malpighi di Bologna) e l'altro in Romania (Istituto Regionale di Gastroenterologia ed Epatologia di Cluj-Napoca). Tra questi, 30 pazienti erano affetti da HCC attivo (la maggioranza in stadio precoce), i quali sono stati poi confrontati con 132 pazienti che non avevano mai presentato HCC. La terapia anticoagulante era stata somministrata al 43.3% dei pazienti con HCC e al 42.4% dei pazienti senza HCC. Per quanto riguarda l'estensione della PVT al momento della diagnosi, l'interessamento parziale/totale del tronco portale era simile nei due gruppi : pazienti con HCC 73.3%/6.7% e pazienti senza HCC del 67.4% / 6.1% ($p=0.760$).

Complessivamente la ricanalizzazione della PVT, inclusi i pazienti trattati e non trattati, è stata osservata nel 30% dei pazienti con HCC rispetto al 37.9% dei pazienti senza HCC ($p=0.530$). Il tasso di ricanalizzazione era del 61,5% nei pazienti con HCC e del 60,7% nei pazienti senza HCC nei pazienti trattati con i farmaci anticoagulanti ($p=1$). L'incidenza delle complicanze emorragiche era quasi identica: 3,3% nei pazienti con HCC rispetto al 3.8%, nei pazienti senza HCC ($p=1$). Anche la progressione della PVT dopo l'interruzione della terapia anticoagulante non differiva tra i due gruppi analizzati, infatti era stata osservata nel 10% nei pazienti con HCC e nel 15.9% dei pazienti senza HCC ($p=0.109$).

Studio 3

Negli ultimi anni l'immunoterapia antineoplastica ha rivoluzionato il panorama terapeutico in oncologia, dimostrando di essere efficace nel trattamento del melanoma e del carcinoma polmonare non a piccole cellule. Ad oggi gli inibitori del checkpoint immunitario sono in fase di valutazione anche per il trattamento del carcinoma epatocellulare (HCC) con risultati preliminari particolarmente promettenti. Il nostro studio è consistito in una analisi della letteratura e dei siti ufficiali per fornire nuovi aggiornamenti sulle sperimentazioni in corso o da poco concluse di questi nuovi agenti terapeutici che promettono di plasmare il futuro scenario terapeutico dell'HCC.

Conclusioni

Studio 1: Il nostro studio multicentrico di pratica clinica ha confermato l'efficacia e il profilo di sicurezza di Sorafenib nel trattamento a lungo termine dei pazienti con HCC.

Possiamo quindi concludere affermando che il nostro studio evidenzia come il trattamento con Sorafenib può dare un significativo aumento della sopravvivenza, in presenza anche di un soddisfacente profilo di sicurezza, in una rilevante quota di pazienti (22%). La presenza di trombosi neoplastica permane un fattore prognostico negativo nei pazienti non responsivi a Sorafenib, tuttavia se presente, non inficia la buona risposta al trattamento.

Lo studio 2 ha dimostrato che la presenza di HCC attivo non influisce negativamente sul decorso della Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) e sull'efficacia del trattamento anticoagulante. Inoltre, la presenza dell'HCC non causa alcuna preoccupazione aggiuntiva in termini di sicurezza, rispetto ai pazienti con cirrosi senza HCC e ai pazienti non trattati con gli anticoagulanti. Pertanto, il paziente con HCC che soffre anche di una Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale, non presenta condizioni sfavorevoli al trattamento con anticoagulanti, eventualmente permettendo, in caso di risoluzione della trombosi, terapie altrimenti controindicate (ad es. TACE)

Lo studio 3 conferma come l'immunoterapia per l'HCC sembra essere un campo di indagine molto intenso, suscitando la speranza che nuove opportunità terapeutiche molto efficaci diventino presto disponibili e portino a nuove e più vantaggiose strategie nella gestione dei pazienti con HCC.

Al momento è difficile fare previsioni sullo scenario preciso dell'immunoterapia per l'HCC. Gli studi in corso sono numerosi e il loro campo di applicazione spazia dal setting neo-adiuvante al trattamento sistemico di seconda linea, passando per le quello adjuvante e di prima linea.

1. INTRODUZIONE: L'EPATOCARCINOMA

Epidemiologia

L'epatocarcinoma (HCC) è la quinta neoplasia più diffusa al mondo e la seconda causa più frequente di morte per cancro [1], con 854.000 nuovi casi e 810.000 decessi all'anno, pari al 7% di tutti i tumori.

Rappresenta circa il 90% delle neoplasie primitive maligne del fegato e costituisce un grave problema di salute globale. L'incidenza dell'HCC aumenta progressivamente con l'avanzare dell'età in tutte le popolazioni, raggiungendo un picco a 70 anni [2,3]. Nelle popolazioni Cinese e dell'Africa Subsahariana, l'età media dei pazienti con il tumore è notevolmente più giovane. Questo è in netto contrasto con il Giappone, dove l'incidenza dell'HCC è più alta nella coorte di uomini di età compresa tra 70 e 79 anni [4,5].

Il tasso di incidenza dell'HCC è più alto nel sesso maschile, con un rapporto maschio/femmina di 5:1 [6], e mostra un disequilibrio geografico significativo, con tassi di incidenza più alti in Asia orientale (oltre il 50% dei casi in Cina) e nell'Africa Subsahariana, che rappresentano complessivamente circa l'85% di tutti i casi [6].

In Europa, l'incidenza è più bassa ad eccezione dell'Europa meridionale, dove l'incidenza negli uomini è significativamente più elevata [7].

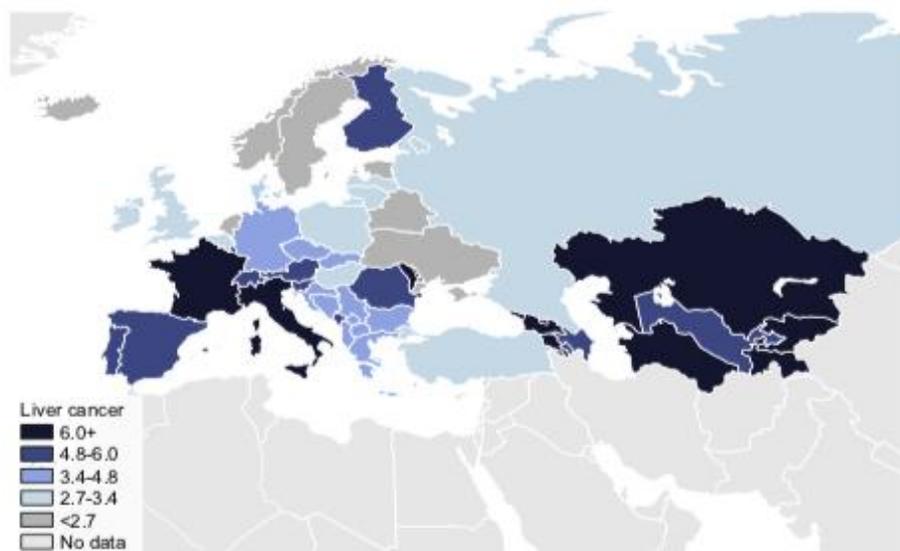


Fig 1. Distribuzione geografica dei tassi di incidenza dell'HCC standardizzati per età per 100,000 in Europa. EASL CPG HCC. J Hepatol 2018 ²⁷

L'incidenza dell'HCC è cresciuta su scala globale. I casi di HCC diagnosticati tra il 1990 ed il 2015 sono aumentati del 75%, principalmente a causa di cambiamenti quali l'età e la crescita della popolazione. I tassi di incidenza per età sono aumentati in molti paesi ad alto indice socio-demografico come gli Stati Uniti, il Canada, l'Australia, la Nuova Zelanda e la maggior parte dei paesi europei; al contrario, alcuni paesi con alti tassi di incidenza come la Cina e l'Africa Subsahariana hanno registrato un calo di oltre il 20% [1].

Eziologia e fattori di rischio

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 [8].

Complessivamente, un terzo dei pazienti cirrotici, svilupperà HCC, durante la vita [9].

I principali fattori di rischio possono essere distinti in quattro sottogruppi sulla base della loro natura:

- virale: soprattutto i virus dell'epatite B (HBV) e dell'epatite C (HCV);
- tossica: alcool ed aflatossine;
- metabolica: emocromatosi ereditaria, diabete mellito, NAFLD (Non Alcoholic Fatty Liver Disease), morbo di Wilson, deficit di α 1-antitripsina;
- immuno-mediata: epatite autoimmune, cirrosi biliare primitiva, colangite sclerosante primitiva.

In Africa e in Asia Orientale, la causa principale è l'epatite B (60%), mentre nel mondo occidentale solo il 20% dei casi può essere attribuito all'infezione da HBV, e l'epatite cronica di tipo C sembra essere il principale fattore di rischio [3]. In tutto il mondo, circa il 54% dei casi può essere attribuito alla infezione da HBV (che colpisce 400 milioni di persone a livello globale), mentre il 31% può essere attribuito all'infezione da HCV (che colpisce 170 milioni di persone), lasciando circa il 15% associato ad altre cause. Tuttavia, questi calcoli sono stime approssimative che non riflettono le comorbidità e potrebbero sottostimare l'impatto della steatoepatite non alcolica/sindrome metabolica [3]. Infatti, negli ultimi anni si è registrato un netto aumento delle diagnosi di HCC a carico dei pazienti affetti da Sindrome Metabolica e nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)[10]. Questo dato è molto preoccupante se si considera l'elevata prevalenza nei Paesi Occidentali di obesità e diabete di tipo II, identificati già da tempo fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di HCC[11,12]. Infine, studi epidemiologici hanno evidenziato come l'infezione da virus

dell'HIV, in particolar modo nei pazienti co-infetti da HCV e/o HBV, e l'esposizione al fumo di sigaretta rappresentino due ulteriori fattori di rischio di sviluppo della neoplasia epatica, mentre il consumo di caffè sembra avere un ruolo protettivo [13,14].

Prevenzione e Sorveglianza

La prevenzione primaria dell'HCC si effettua attraverso la vaccinazione contro l'infezione da HBV, che è raccomandata in tutti i neonati e nelle popolazioni ad alto rischio [15], e la messa in atto di politiche volte a ridurre il rischio di trasmissione interindividuale dei virus dell'epatite (campagne educazionali della popolazione e precauzioni volte a minimizzare il rischio di trasmissione iatrogena).

Nel corso degli anni si è profuso un enorme impegno nel tentativo di dimostrare la necessità di standardizzare e uniformare la politica di sorveglianza. L'unico studio randomizzato controllato (RCT-Randomized Controlled Trial) pubblicato finora (sorveglianza vs. non sorveglianza), ha evidenziato notevoli benefici in termini di miglioramento della sopravvivenza attraverso una sorveglianza semestrale con alfa-fetoproteina (AFP) ed ecografia nonostante un'aderenza subottimale dei pazienti [16].

Un ulteriore studio ha confermato che la percentuale di diagnosi di HCC raggiungeva l'80% nei pazienti sottoposti a sorveglianza contro il 52,9% di quelli non sottoposti a sorveglianza [17]. Il programma di sorveglianza è quindi raccomandato sia nei pazienti con cirrosi che potrebbero beneficiare di un potenziale trattamento per l'HCC sia nei pazienti con infezione da HBV senza cirrosi con un rischio di incidenza di HCC maggiore dello 0-2% [18].

Ad oggi, l'esame ecografico è usato come test di sorveglianza, perché ha una sensibilità tra il 65 e l'80% e una specificità maggiore del 90% [17], del tutto superiori ai test sierologici. Il test sierologico maggiormente utilizzato è l'AFP anche se non ci sono evidenze che supportino l'uso dell'AFP come test di screening. Secondo le raccomandazioni EASL (European Association of the Study of the Liver) quindi, la sorveglianza dei pazienti a rischio per HCC deve essere fatta mediante esame ecografico eseguito semestralmente [19].

Diagnosi

La corretta diagnosi di HCC rappresenta una tappa fondamentale per la definizione del più adeguato percorso terapeutico e per la definizione della prognosi dei pazienti. Un corretto approccio diagnostico prevede l'identificazione precoce di lesioni focali epatiche, in particolare su fegato cirrotico, e la loro caratterizzazione.

Viene pertanto definita "lesione focale", una lesione che emerga dallo sfondo ecografico in modo più distinto, o ad altra tecnica di imaging, e che in genere ha dimensioni di almeno 5 mm [21]. Il percorso di cancerogenesi epatica nel 90% dei casi avviene a tappe, con una progressione dal micro-nodulo rigenerativo (non visibile alle tecniche di imaging) al macro-nodulo rigenerativo (talora visibile all'imaging, con dimensioni superiori ai 5 mm) nel quale si verificano alterazioni istologiche che portano alla displasia, dapprima lieve poi progressivamente più grave, fino all'insorgere di un micro-focolaio di carcinoma che progressivamente si estenderà a tutto il nodulo ed oltre. E' pertanto difficile e allo stesso tempo importante identificare la natura di un nodulo rilevato nel contesto di un fegato cirrotico [20]. Dal punto di vista istologico, le trasformazioni che avvengono durante la cancerogenesi sono accompagnate dalla progressiva formazione di vasi arteriosi anomali (neo-angiogenesi tumorale) e perdita della componente portale [22]. Ciò fornisce all'HCC un particolare comportamento nelle diverse fasi contrastografiche che le tecniche di imaging sfruttano per identificare con sicurezza questo tumore.

Nel complesso, i noduli di nuovo riscontro vanno indagati con RM e/o TC multifasiche con mezzo di contrasto, sia per identificare un pattern diagnostico tipico dell'HCC ("ipervascolarizzazione" in fase arteriosa e wash-out in fase venosa/tardiva) sia per effettuare una stadiazione necessaria per definire la prognosi e la migliore terapia possibile, qualora si confermasse la malignità. Il ruolo dell'ecografia con mezzo di contrasto (CEUS-Contrast Enhanced Ultrasound) nella diagnosi di HCC è stato messo in discussione per la scarsa capacità di differenziare il colangiocarcinoma intraepatico dall'HCC con questa metodica. Tale rischio è comunque stimabile in non più dell'1% dei nuovi noduli comparsi su cirrosi [23].

La valutazione istologica di HCC comprende la definizione del grado di differenziazione, sebbene non vi sia un accordo generale sul metodo da utilizzare. Tradizionalmente il grading dell'HCC è stato suddiviso in 4 categorie in base alle caratteristiche nucleari e architetturali, secondo i criteri proposti da Edmondson e Steiner. Più recentemente la WHO (2010), un

documento di consenso [24] e l'International Collaboration on Cancer Reporting raccomandano l'utilizzo di tre gradi di differenziazione: bene, moderatamente e scarsamente differenziato. In questo approccio il grado 1 e 2 di Edmondson-Steiner sono combinati nella categoria di HCC ben differenziato. Il grado di differenziazione deve essere definito in base alla componente meno differenziata, indipendentemente dalla sua rappresentazione quantitativa.

Prima di qualsiasi trattamento va eseguita una corretta stadiazione dell'HCC, ricercando eventuali ulteriori noduli.

E'opportuno che l'inquadramento diagnostico (radiologico e/o istologico) dei noduli su cirrosi venga sempre effettuato da personale esperto e che il paziente venga gestito in un contesto di collaborazione multidisciplinare dedicata [25].

L'alfa-fetoproteina è il marcatore sierico dell'HCC più utilizzato. Poiché il suo valore può aumentare anche in condizioni di citonecrosi epatica con rigenerazione, alcune linee guida suggerivano di impiegare, come limite diagnostico, 200 ng/dl, associati all'imaging tipico. Tuttavia, l'alfa-fetoproteina non viene più raccomandata come test diagnostico sia per la bassa sensibilità di tale soglia (circa 20%) soprattutto in caso di noduli di piccole dimensioni, sia per la scarsa specificità se si impiegano limiti più bassi (ad esempio >20 ng/dl). Pertanto, la diagnosi di HCC si basa sul riscontro di un quadro di imaging tipico di malignità in fegato cirrotico o sul rilievo istologico.

Valori elevati di alfa-fetoproteina hanno un preciso significato prognostico negativo.

Stadiazione dell'Epatocarcinoma

Prima di procedere alla scelta di trattamento dell'HCC, è sempre necessaria una adeguata stadiazione. Nel caso dell'HCC su cirrosi non esiste un unico sistema universalmente applicato, per tali motivi sono stati proposti numerosi sistemi di stadiazione: Chinese University Prognostic Index (CUPI), Japanese Integrated Staging System (JISS), ampiamente usati in Asia, l'American Joint Committee on Cancer (AJCC), Barcelona Clinic Liver Cancer staging system (BCLC), Cancer of the liver Italian Program Staging system (CLIP) utilizzati in occidente. Tutti i sistemi includono una valutazione dello stadio tumorale e la maggior parte include anche la funzionalità epatica [26].

Le Linee Guida Europee consigliano l'utilizzo della classificazione proposta dal Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) per una corretta stadiazione e trattamento dei pazienti affetti da

HCC [27]. Questa classificazione, tiene conto sia delle caratteristiche della tumore che della funzionalità epatica e del quadro clinico generale del paziente, fornendo una valutazione prognostica attendibile e consentendo di indirizzare il paziente verso la strategia terapeutica più appropriata. La classificazione BCLC suddivide i pazienti con HCC in cinque stadi (0,A,B,C,D) (Fig 2).

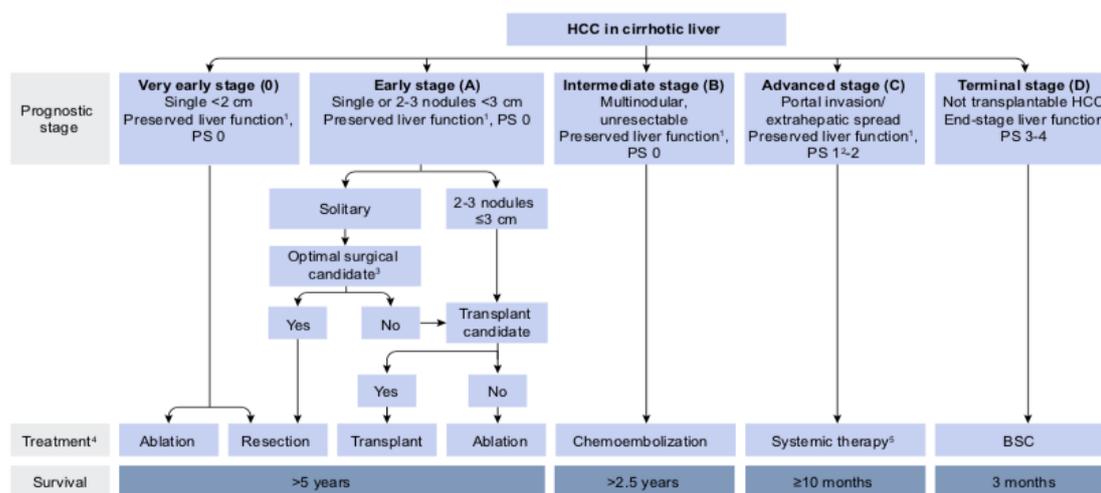


Fig 2 : Stadiazione secondo BCLC²⁷

- *stadio molto precoce (BCLC-0)*: è definito dalla presenza di un tumore singolo di diametro inferiore a 2 cm in assenza di metastasi o invasione vascolare, in pazienti con funzione epatica ben conservata e buone condizioni cliniche generali ECOG 0. Questi pazienti mostrano un ottimo outcome in termini di sopravvivenza, che a 5 anni dopo la resezione epatica è pari all'80-90% [28]. La radiofrequenza (RFA) in questa classe di pazienti, può essere considerata al pari della resezione epatica, con tassi di sopravvivenza di circa il 70% [29,30].

- *stadio precoce (BCLC-A)*: è definito dalla presenza di un tumore singolo >20 mm o massimo tre noduli con un diametro < 30 mm, in un paziente con una buona funzionalità epatica e un ECOG 0. I pazienti con BCLC A sottoposti a resezione, trapianto o ablazione hanno una sopravvivenza media a 5 anni del 50-70% [27]. In questa classe di pazienti la migliore opzione terapeutica dipende dalla funzionalità epatica e dal grado di ipertensione portale. Se la pressione portale e la bilirubinemia sono nella norma, il trattamento di scelta è

rappresentato dalla resezione. Allo stesso modo, una classe di Child-Pugh A costituisce il fattore prognostico più importante nei pazienti che sono sottoposti all'ablazione, mentre la presenza di un nodulo singolo < 50 mm o di tre noduli ma con diametro \leq 30 mm (Criteri di Milano) rappresentano i fattori prognostici più incisivi per una possibile valutazione al trapianto [31,32].

- *stadio intermedio (BCLC-B)*: è rappresentato da un HCC multifocale, senza invasione metastatica o vascolare, in un paziente con ECOG 0. In considerazione dei risultati ottenuti da Trial Randomizzati Controllati (RCT) la chemioembolizzazione trans-arteriosa (TACE) è considerata come l'opzione terapeutica di prima scelta in questa classe di paziente, con una sopravvivenza media stimata di 40 mesi [33,34].

- *stadio avanzato (BCLC-C)*: è definito dalla presenza di un tumore metastatico o con invasione macro vascolare, in un paziente sintomatico per neoplasia (ECOG 1-2). In questo gruppo di pazienti la sopravvivenza media è di circa 6-8 mesi e strettamente dipendente non solo dalle caratteristiche del tumore ma anche dallo stato funzionale del fegato [35].

Fino al 2007 non erano disponibili trattamenti di prima linea per i pazienti con HCC in stadio avanzato, ma lo scenario è cambiato con l'introduzione del Sorafenib, un inibitore multichinasico, la cui evidenza di efficacia si basa sui risultati ottenuti dallo studio SHARP [36], che ha dimostrato un aumento della sopravvivenza nei pazienti trattati con Sorafenib.

Come indicato dalle Linee Guida Europee [27], lo scenario nel trattamento dei pazienti con HCC in stadio avanzato, sta cambiando grazie ai dati ottenuti da trials clinici randomizzati: solo di recente, Regorafenib, un inibitore multichinasico orale con un meccanismo d'azione simile a Sorafenib, ha dimostrato un miglioramento della sopravvivenza ed è raccomandato in seconda linea nei pazienti con documentata progressione radiologica al Sorafenib. Lenvatinib, anch'esso un inibitore multichinasico, ha dimostrato una sopravvivenza non inferiore al Sorafenib, nel trattamento di prima linea. Infine, Cabozantinib, un inibitore di MET, VEGFR2 e RET approvato per il carcinoma tiroideo e renale, ha mostrato benefici di sopravvivenza rispetto al placebo in seconda linea.

- *stadio terminale (BCLC-D)*: comprende tutti quei pazienti con un quadro clinico generale (ECOG >2) e una funzionalità epatica gravemente compromessi, non candidabili al trapianto di fegato, e con severa disabilità correlata alla malattia neoplastica. In questo caso la sopravvivenza media è di 3-4 mesi ed è indicata esclusivamente una terapia di supporto [35].

Opzioni terapeutiche

Le opzioni terapeutiche disponibili per i pazienti affetti da HCC possono essere suddivise in curative e non curative. Le prime comprendono la resezione epatica, il trapianto e le tecniche ablative percutanee, mentre i trattamenti non curativi sono rappresentati dalla chemioembolizzazione trans-arteriosa (TACE), la radioembolizzazione trans-arteriosa (TARE) e le terapie sistemiche.

Resezione epatica

La resezione epatica rappresenta il trattamento di scelta dell'HCC in quanto, in pazienti ben selezionati, è la metodica che è stata vista essere correlata al miglior outcome in termini di sopravvivenza, con tassi a 5 anni del 60-80% [27].

Per quanto riguarda i pazienti non cirrotici, la resezione epatica rappresenta sicuramente il trattamento curativo di scelta, essendo correlata a tassi relativamente molto bassi di complicanze post-intervento. Secondo le raccomandazioni EASL per quanto riguarda i pazienti cirrotici, un'attenta previsione del rischio di scompenso post-chirurgico, sulla base di variabili oggettive ed indagini non invasive, deve essere eseguita prima di ogni tipo di trattamento chirurgico, tenendo in considerazione la funzione epatica, la presenza d'ipertensione portale e le caratteristiche del tumore [27]. In base alle dimensioni, al numero di noduli, la localizzazione del tumore e l'esperienza dell'operatore, l'approccio chirurgico può essere convenzionale o mini-invasivo laparoscopico, preferendo quest'ultimo specialmente in presenza di noduli tumorali antero-laterali e molto superficiali [27].

Il trapianto di fegato

Attualmente l'HCC rappresenta l'unico tumore con indicazione al trapianto solido d'organo [37]. In Europa, circa il 30-35% dei pazienti in lista per trapianto di fegato sono rappresentati da pazienti affetti da HCC, il quale rappresenta, insieme alla cirrosi epatica NAFLD-relata, un'indicazione sempre più diffusa all'OLT [38]. I criteri di Milano (nodulo singolo di HCC ≤ 50 mm o ≤ 3 noduli di dimensioni inferiori ai 30 mm, assenza d'invasione vascolare) rappresentano, il parametro più affidabile per la collocazione in lista OLT dei pazienti affetti da HCC, con una sopravvivenza a cinque anni che raggiunge il 65-80% e un tasso di recidiva inferiore al 15% [39]. Nel caso in cui i pazienti non soddisfino i criteri di Milano, la prognosi post-OLT è infatti nettamente peggiore, con tassi di sopravvivenza tra il

45 e 55% [40]. Il trapianto di fegato rappresenta quindi il trattamento di prima linea per tutti i pazienti che soddisfano i Criteri di Milano, ma non possono essere sottoposti a resezione epatica [27]. Ad ogni modo la presenza d'invasione macro vascolare o diffusione metastatica rappresentano due controindicazioni assolute al trapianto, in quanto costituiscono due fattori di rischio indipendenti per la ricorrenza di HCC e sono entrambi associati ad una riduzione significativa della sopravvivenza [41].

Trattamenti ablativi percutanei

I trattamenti ablativi percutanei sono stati ideati per il trattamento su base chimica o termica delle neoplasie. L'iniezione percutanea di etanolo (PEI), sfrutta la capacità dell'etanolo di penetrare all'interno della lesione provocando la necrosi coagulativa del tessuto neoplastico, l'occlusione chimica dei vasi tumorali, con conseguente necrosi ischemica del tessuto tumorale. L'ablazione a radiofrequenza (RFA), ha lo scopo di provocare un danno termico tissutale attraverso energia elettromagnetica [42]. La PEI induce una necrosi completa nel 90% delle lesioni tumorali di diametro < 20 mm, mentre nei noduli con diametro maggiore il tasso di successo è inferiore, determinando la ricomparsa della neoplasia nel 49% dei casi [43-44]. L'RFA rappresenta la metodica di scelta nei pazienti con BCLC 0 e A che non sono candidabili alla resezione epatica, con tassi di overall survival del 67.9% e di recurrence-free survival del 25.9% [45].

Trattamenti trans-arteriosi

I trattamenti trans-arteriosi fanno parte dei trattamenti non curativi, ossia non hanno lo scopo di eradicare la malattia neoplastica, ma solo di aumentare il tasso di sopravvivenza del paziente. Questo tipo di trattamento si esegue sotto controllo angiografico tramite inserimento, mediante accesso femorale, di un catetere flessibile che viene indirizzato nei rami dell'arteria epatica che irrorano il nodulo tumorale. Esistono diverse tipologie di trattamento: la chemioembolizzazione trans-arteriosa (TACE), l'embolizzazione transarteriosa (TAE), la chemioterapia intrarteriosa e la radioembolizzazione trans-arteriosa (TARE). La TACE rappresenta il trattamento più largamente utilizzato come terapia di prima linea nei pazienti con HCC non operabile, in stadio BCLC B [46]. Il suo razionale consiste nell'infusione intra-arteriosa di agenti chemioterapici, seguita dall'embolizzazione dei rami arteriosi che irrorano il tumore, con un conseguente danno combinato ischemico e

citotossico. Quindi, per ottenere una necrosi completa della lesione tumorale è sempre raccomandata, una chemioembolizzazione super-selettiva dei rami arteriosi che irrorano il tumore.

I farmaci chemioterapici più comunemente utilizzati per questo tipo d'approccio, da soli o in combinazione, sono la doxorubicina o epirubicina, il cisplatino o miriplatino. Gli eventi avversi più comunemente correlati alla manovra sono rappresentati da: un rialzo degli enzimi di epato-cito-necrosi (18.1%), la febbre (17.2%), la tossicità midollare (13.5%), il dolore (11%) e il vomito (6%). La TACE è largamente utilizzata nella pratica clinica non solo come terapia di scelta nei pazienti con BCLC B, ma anche come trattamento alternativo in quei pazienti con un early HCC, non candidabili a resezione, trapianto o trattamenti ablativi.

La radioembolizzazione transarteriosa (TARE) consiste invece, nell'infusione di sostanze radioattive, le microsferi di Itrio-90, nell'arteria epatica. Le microsferi iniettate vengono convogliate all'interno del nodulo tumorale, emettendo radiazioni ad alta energia con bassa penetrazione nel tessuto epatico circostante [48]. In base alle dimensioni e alla localizzazione della neoplasia, il trattamento può essere quindi lobare, settoriale o segmentario. La TARE rappresenta quindi una valida opzione terapeutica in tutti i pazienti con HCC localmente avanzato. Studi di coorte hanno mostrato un tempo di sopravvivenza medio di 16.9-17.2 mesi nei pazienti con HCC allo stadio intermedio, e dai 10 ai 12 mesi nei pazienti con HCC avanzato ed invasione neoplastica della vena porta [49]. Attualmente comunque non è stato ancora accertato un suo vantaggio in termini di sopravvivenza rispetto al Sorafenib per i pazienti con HCC in stadio BCLC B e C, per cui un suo utilizzo in questi casi richiede un'attenta valutazione collegiale multidisciplinare [27].

Terapie sistemiche

L'epatocarcinoma è uno tra i tumori più resistenti ai più comuni trattamenti chemioterapici. Il problema dell'utilizzo di tali terapie nei pazienti affetti da HCC deriva, infatti, dalla coesistenza di due condizioni: la presenza di cirrosi, che può modificare il metabolismo dei farmaci aumentandone la tossicità, e l'elevato rischio di complicanze, soprattutto di tipo infettivo, che nei pazienti cirrotici gravemente immuno-compromessi sono responsabili di un elevato tasso di mortalità [27].

Solo tre tipi di trattamenti sistemici hanno mostrato un beneficio in termini di sopravvivenza in trial clinici di fase III per pazienti con HCC in stadio avanzato: Sorafenib e Lenvatinib [50], come trattamenti di prima linea, e Regorafenib, come terapia di seconda linea [51].

Il Sorafenib rappresenta attualmente la terapia sistemica di prima linea nei pazienti con una buona funzionalità epatica (Child-Pugh-Score A) e HCC in stadio avanzato (BCLC C) o in stadio intermedio ma in progressione dopo l'esecuzione di terapie loco-regionali [27].

Il Sorafenib è un inibitore multichinasico ed è il primo farmaco che ha dimostrato apportare un vantaggio in termini di sopravvivenza tra i pazienti con HCC avanzato. L'efficacia di Sorafenib, è stata dimostrata da 2 studi randomizzati controllati di fase III: lo studio SHARP [36] e lo studio Asia-Pacific [52]. I due studi erano significativamente diversi in termini di caratteristiche dei pazienti, in quanto lo studio SHARP era stato condotto nel mondo occidentale (Europa, America, Israele, Australia), mentre l'altro studio in nazioni dell'Asia orientale (Cina, Taiwan e Corea).

In entrambi gli studi, il trattamento con Sorafenib (somministrato alla dose di 400 mg 2 volte al giorno, fino a progressione strumentale e clinica o fino a insorgenza di tossicità inaccettabile), aveva determinato un significativo prolungamento della sopravvivenza globale e un aumento del tempo alla progressione di malattia. In termini assoluti, il prolungamento della sopravvivenza mediana era stato pari a circa 3 mesi nello studio SHARP, e a circa 2 mesi nello studio asiatico, ma il risultato era sovrapponibile in termini relativi (Hazard Ratio 0.69 e 0.68, 95% CI 0.55-0.87 e 0.50-0.93 rispettivamente).

Sulla base dei risultati ottenuti, nell'Ottobre 2007, Sorafenib è stato approvato dall'EMA per il trattamento dell'HCC. Gli eventi avversi più comunemente riportati consistevano nella tossicità cutanea (HFSR, *hand-foot skin reaction*), nella diarrea e nell'astenia. L'ipertensione poteva verificarsi, ma risultava essere meno frequente nei pazienti con HCC, rispetto all'incidenza nei pazienti che ricevevano Sorafenib per il carcinoma renale. L'astenia poteva essere presente nei pazienti con HCC indipendentemente dal trattamento con Sorafenib, essendo potenzialmente legata all'epatopatia di base.

Il Levantinib, anch'esso farmaco inibitore multichinasico, è stato recentemente considerato come possibile terapia di prima linea nei pazienti con HCC avanzato [27]. Lo scopo dello studio REFLECT era determinare se Lenvatinib non fosse inferiore a Sorafenib nell'HCC in stadio avanzato. L'endpoint primario era la sopravvivenza globale (OS) mentre gli endpoints secondari erano il tempo alla progressione (TTP) ed il tasso di risposte obiettive (ORR). Il

marginale di non inferiorità era stato fissato 1.08. Tra i 954 pazienti randomizzati, 478 avevano ricevuto Lenvatinib al dosaggio di 12 mg al giorno per un peso corporeo \geq 60 kg o 8 mg al giorno per un peso corporeo $<$ 60 kg, e 476 pazienti avevano ricevuto Sorafenib al dosaggio standard di 400 mg due volte al giorno. Una OS mediana di 13.6 mesi (IC 95% 12.1-14.9) era stata raggiunta nel braccio del Lenvatinib e di 12.3 mesi (IC 95% 10.4-13.9) nel braccio del Sorafenib, con un HR di 0.92 (IC 95% 0.79-1.06), soddisfacendo così i criteri di non inferiorità. Anche la sopravvivenza libera da progressione (PFS) di 7.4 mesi nel braccio sperimentale (IC 95% 6.9-8.8) e 3.7 mesi (IC 95% 3.6-4.6) nel braccio del Sorafenib, era a favore del Lenvatinib, e allo stesso modo il braccio con Lenvatinib aveva mostrato una ORR migliore del braccio del Sorafenib (criterio mRECIST), con ORR del 24.1 % (20.2-27.9) e del 9.2% (6.6-11.8), rispettivamente. Tra gli eventi avversi, in particolare l'ipertensione si era manifestata maggiormente nei pazienti del braccio del Lenvatinib (42% vs 30%), mentre l'HFSCR (52%) era stata più frequente nei pazienti trattati con Sorafenib. Pertanto i profili di sicurezza e tollerabilità del Lenvatinib, erano compatibili con le precedenti esperienze col farmaco. Complessivamente, valutati i profili di tollerabilità del Lenvatinib ed i benefici rispetto al Sorafenib in termini di controllo della malattia, si stima favorevole il rapporto rischio/beneficio nell'impiego del Lenvatinib in prima linea di trattamento.

Le Linee Guida Europee raccomandano l'utilizzo di questo farmaco, non appena disponibile in commercio, come terapia di prima linea nei pazienti con una buona funzionalità epatica, un discreto performance status e un tumore in stadio avanzato, ma in assenza di invasione neoplastica vascolare [27].

Per quanto riguarda invece le terapie di seconda linea, ad oggi l'unico farmaco raccomandato è rappresentato dal Regorafenib, un inibitore multichinasico coinvolto nell'angiogenesi, nell'oncogenesi e nella regolazione del microambiente tumorale [53].

Il Trial Randomizzato Controllato di fase III RESORCE, ha dimostrato l'efficacia di Regorafenib, alla dose di 160 mg al giorno per via orale per 21 giorni ogni 28 giorni, in pazienti con funzione epatica ben conservata (Child Pugh Score A), ECOG 0-1, in progressione a Sorafenib [54]. Lo studio aveva riportato un aumento di sopravvivenza statisticamente significativo da 7.8 mesi con placebo a 10.6 mesi con Regorafenib (HR=0.63; 95% CI 0.50-0.79, $p < 0.0001$). In tutti gli ulteriori endpoints di efficacia, sopravvivenza libera da progressione, tempo alla progressione, tasso di risposte e di

controllo di malattia, Regorafenib, è risultato statisticamente superiore al placebo. E' da sottolineare che i pazienti in studio dovevano aver tollerato il trattamento con Sorafenib, alla dose di almeno 400mg al giorno e che i pazienti che avevano sospeso il Sorafenib per tossicità erano esclusi dallo studio. Il trattamento era stato globalmente ben tollerato e gli eventi avversi di grado 3-4 maggiormente osservati erano stati ipertensione (15% dei pazienti), sindrome mano piede (13%), astenia (9%) e diarrea (3%) [51]

Lo studio RESORCE è stato il primo studio di fase 3 a mostrare un beneficio in termini di OS rispetto al placebo nei pazienti in progressione dopo trattamento con Sorafenib e Regorafenib rappresenta dunque un'opzione terapeutica in seconda linea di trattamento poiché ha apportato un beneficio in termini di sopravvivenza rispetto al placebo nei pazienti con HCC in stadio avanzato, che progrediscono a Sorafenib.

Per quanto riguarda invece i pazienti affetti da HCC avanzato o intermedio non eleggibili per un trattamento loco-regionale in classe Child Pugh Score A, trattati con una prima linea di trattamento con Sorafenib, e con un eventuale ulteriore linea di trattamento, è indicato il trattamento con Cabozantinib, un inibitore di MET, VEGFR2 e RET, già approvato per il trattamento del carcinoma tiroideo e renale.

Nello studio CELESTIAL [55] randomizzato controllato, in doppio cieco, di fase III, questi pazienti, erano stati randomizzati a ricevere Cabozantinib per via orale alla dose di 60 mg al giorno versus placebo. L'endpoint primario dello studio era la OS. Gli endpoints secondari, erano la PFS e ORR. Il Cabozantinib aveva infatti migliorato la sopravvivenza globale (HR 0.76; 95% CI 0.63-0.92 p=0.0049); la sopravvivenza mediana (mOS) era stata di 10.2 mesi (95% CI 9.1-12.0) per Cabozantinib, rispetto a 8 mesi (95% CI 6.8-9.4) per il placebo. Anche per gli altri endpoints di efficacia, PFS e ORR, Cabozantinib, è risultato statisticamente superiore al placebo. Gli eventi avversi più frequenti erano stati tossicità cutanea (17% nel gruppo del Cabozantinib rispetto a nessun paziente nel gruppo del placebo), ipertensione (16% vs 2%), incremento delle AST (12% vs 17%), astenia (10% vs 4%) e diarrea (10% vs 2%).

In conclusione, Cabozantinib è in grado di fornire un beneficio in termini di sopravvivenza rispetto al placebo nei pazienti affetti da HCC in stadio avanzato, trattato precedentemente con una o due linee di trattamento, incluso Sorafenib ed in progressione ad una di esse.

Trattamenti palliativi e “Best Supportive Care”

I pazienti con HCC in stadio BCLC D, non candidabili al trapianto di fegato, hanno un'aspettativa di vita di 3-4 mesi e devono essere indirizzati verso un sistema di cure palliative che permetta una corretta gestione della sintomatologia dolorosa, degli aspetti nutrizionali e degli aspetti psicologici [56]. Per quanto riguarda la gestione del dolore, il paracetamolo si è dimostrato un farmaco con un buon profilo di sicurezza, mentre nei casi di dolore moderato severo, l'utilizzo degli oppiacei è risultato sicuramente il trattamento più efficace, seppur con un rischio maggiore di complicanze, quali la stipsi e l'encefalopatia [57,58]. Nel caso di metastasi ossee, inoltre, l'utilizzo della radioterapia a scopo palliativo, è stato confermato essere un trattamento molto efficace non solo per l'alleviamento del dolore ma anche per la riduzione del rischio di fratture spontanee [59].

2. SCOPO DELLA TESI

In Italia, la maggior parte dei casi di epatocarcinoma (HCC) insorge in pazienti affetti da cirrosi epatica, che presentano un grado variabile di insufficienza epatica. Pertanto, la prognosi dei pazienti con HCC è condizionata non solo dalla estensione della neoplasia, ma anche dalla residua funzione epatica. Una corretta valutazione della cirrosi e della funzione epatica residua è fondamentale non solo ai fini prognostici, ma anche per evitare che il trattamento del tumore comporti un danneggiamento della funzione epatica tale da compromettere i potenziali vantaggi dell'azione antineoplastica o finanche ridurre le aspettative di vita rispetto alla storia naturale.

Scopo della Tesi

Analizzare i principali aspetti della terapia farmacologica del paziente affetto da HCC: in particolare gli obiettivi sono stati tre, ricercati tramite studi separati mirati a:

1. Ricerca di predittori clinico-laboratoristici di risposta al Sorafenib in pazienti ambulatoriali con HCC;
2. Indagare se il decorso naturale e la risposta al trattamento anticoagulante della Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) nei pazienti con cirrosi complicata da carcinoma epatocellulare (HCC) differisca da quelli senza HCC;
3. Fornire nuovi aggiornamenti sull'immunoterapia antineoplastica che promette di plasmare il futuro scenario terapeutico dell'HCC mediante una revisione della letteratura.

3. STUDI PER ESTESO

3.1 Studio osservazionale retrospettivo/prospettico di coorte dei pazienti affetti da epatocarcinoma in trattamento con Sorafenib: ricerca di fattori predittivi di risposta alla terapia con Sorafenib.

Premesse e scopo dello studio

Il Sorafenib rappresenta attualmente la terapia sistemica di prima linea nei pazienti con una buona funzionalità epatica, CPT A, e HCC in stadio avanzato (BCLC C) o in stadio intermedio ma in progressione dopo l'esecuzione di terapie loco-regionali [27].

Nonostante l'approvazione del farmaco dal 2007 e la presenza in letteratura di diversi studi con l'obiettivo di ricercare fattori clinico-laboratoristici predittivi di risposta alla terapia con Sorafenib, al momento non sono ancora stati riscontrati predittori a priori di risposta.

Alcuni studi hanno messo in relazione la risposta radiologica dell'HCC a Sorafenib con la comparsa di eventi avversi precoci dermatologici. Uno fra questi, la meta-analisi di Reig et al [60] i cui risultati indicano come la presenza di eventi avversi dermatologici abbia un impatto positivo sulla sopravvivenza a lungo termine dei pazienti con HCC trattati con Sorafenib in monoterapia. Sulla scorta di tali dati, la presenza di eventi avversi dermatologici potrebbe aiutare il clinico sia nel processo decisionale riguardante il trattamento sia in termini prognostici.

Sarebbe importante riuscire a identificare fattori clinico-laboratoristici di risposta alla terapia con Sorafenib, in particolar modo ora che abbiamo a disposizione nuove opportunità terapeutiche che diventeranno presto disponibili, portando a nuove strategie nella gestione dei pazienti con HCC.

Pertanto lo scopo del presente studio è la ricerca di fattori di predizione della risposta dell'HCC al trattamento con Sorafenib.

Materiali e metodi

Tale studio ha utilizzato il database derivato da una piattaforma on-line contenente i dati relativi a pazienti con HCC in terapia con Sorafenib inseriti da un totale di 9 centri partecipanti italiani Ospedaliero-Universitari, tra i quali il nostro centro di Epatologia - Medicina Interna Prof. Piscaglia- Policlinico S.Orsola-Malpighi, ed è stato approvato da tutti i comitati etici locali dei centri partecipanti (CE Policlinico S.Orsola-Malpighi cod 098/2014/OSS).

In tale coorte multicentrica italiana sono stati arruolati retrospettivamente/prospettivamente pazienti consecutivi con HCC in terapia con Sorafenib dal 1 gennaio 2008 al 31.12.2018.

I Criteri di inclusione al presente studio prevedevano:

- firma del consenso informato;
- diagnosi di HCC basata su criteri radiologici e ove possibile istologici;
- trattamento con Sorafenib (a qualsiasi dosaggio) per un periodo superiore ai 12 mesi.

Come criteri di esclusione:

- mancanza di dati pregiudicanti le finalità della nostra ricerca (data inizio e fine terapia con Sorafenib, durata di trattamento, CPT score basale, burden di malattia neoplastica basale, presenza o meno di eventi avversi);

Sulla base dei criteri di inclusione sono state individuate 2 popolazioni che hanno beneficiato del trattamento con Sorafenib per un periodo di tempo inferiore o superiore a 12 mesi. Tali popolazioni sono state poi confrontate per le principali differenze clinico-laboratoristiche inficianti la prognosi sulla base dei dati presenti in letteratura.

Nella popolazione oggetto del nostro studio, costituita dai pazienti con trattamento superiore a 12 mesi, sono stati valutati in particolare i seguenti outcomes:

- caratteristiche clinico laboratoristiche di base;
- eventi avversi di ogni grado valutati secondo il CTCAE V4 (Common Terminology Criteria for Adverse Events);
- dosaggio medio giornaliero;
- tempo medio di sospensione;
- trattamenti precedenti;
- burden di malattia neoplastica basale, sulla base del numero di noduli di HCC, la presenza di HCC infiltrante o HCC non intraepatico, la presenza di trombosi portale neoplastica e di metastasi a distanza;
- durata media del trattamento (TD) con Sorafenib; calcolata come intervallo di tempo dalla data di inizio del trattamento alla data di fine trattamento; per i pazienti con trattamento in corso o persi al follow up, come data di termine è stata considerata la data di chiusura del database 31.12.2018;
- Tempo alla Progressione radiologica (TTP), calcolata come intervallo di tempo dalla data di inizio del trattamento alla data della progressione radiologica; per i pazienti

con trattamento in corso o persi al follow up, come data di termine è stata considerata la data di chiusura del database 31.12.2018;

- Sopravvivenza Globale (OS), calcolata come intervallo di tempo dalla data di inizio del trattamento al decesso del paziente; per i pazienti con trattamento in corso o persi al follow up, come data di termine è stata considerata la data di chiusura del database 31.12.2018;
- Risposta Radiologica: valutata secondo i criteri RECIST 1.1 (Response evaluation criteria in solid tumors) e mRECIST (modified Response evaluation criteria in solid tumors).

Analisi statistica

Per l'analisi statistica è stato utilizzato il pacchetto statistico ®SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA). Tutti i dati sono stati analizzati con statistica descrittiva e comparati mediante test del Chi-quadrato o Test di Fisher per le variabili categoriche e con il test t di Student per le variabile continue.

Sono state ritenute statisticamente significative le variabili che hanno mostrato un valore di $p < 0.05$. La sopravvivenza (OS) è stata calcolata dal giorno di inizio della terapia con Sorafenib alla data di decesso del paziente o al 31 dicembre 2018 (chiusura del database) per i pazienti ancora in corso di trattamento o persi al follow up.

L'OS è stata analizzata con metodo Kaplan-Meier, e le curve di sopravvivenza sono state comparate mediante log-rank test.

Risultati

Della coorte totale multicentrica di 616 pazienti, 49 pazienti (8%) sono stati esclusi sulla base dei criteri di esclusione, dei restanti 567 pazienti (98%), 125 rispettavano i criteri di inclusione al presente studio.

Pertanto sono state individuate 2 popolazioni:

- la prima, che non incontrava i criteri di inclusione, definita dei "Poor Responders" di 442 pazienti (Tabella 1);
- la seconda che incontrava i criteri di inclusione allo studio, definita dei "Good Responders" di 125 pazienti. (Tabella 2).

La Tabella 1 riassume le principali caratteristiche della popolazione dei "Poor Responders": La classe di CPT maggiormente rappresentata era quella A5 (218;49.3%), l'ipertensione

portale era presente in 278 pazienti (62.9%), lo stadio BCLC C in 343 pazienti (77.6%), la trombosi neoplastica in 193 pz (43.7%) e le metastasi a distanza in 156 pz (35.3%).

In tale gruppo di pazienti il TD medio è stato di 125.6 giorni con un OS media di 539 giorni.

Caratteristiche cliniche di base	
Pazienti (N;%)	442 (78)
Child Pugh Score	
A (N;%)	391 (88.4)
A5	218 (49.3)
A6	173 (39.1)
B	51 (11.5)
B7	36 (8.1)
B8	12 (2.7)
B9	3 (0.7)
C	0
Ipertensione Portale (N;%)	278 (62.9)
Trombosi Neoplastica (N;%)	193 (43.7)
BCLC (N;%)	
A	6 (1.4)
B	91 (20.6)
C	343 (77.6)
D	2 (0.4)
Metastasi (N;%)	156 (35.3)
AST (U/L) (media;range)	69.5 (0-334)
ALT (U/L) (media;range)	55.4 (0-309)
Dose (mg) (media;giorno)	533 mg/giorno
Durata del Trattamento	
(media; range) giorni	125.6 (2-356)
(mediana; range) giorni	99.50 (2-356)
Tempo alla Progressione (media-range) giorni	120.4 (0-1000)
Sopravvivenza Globale (media; range) giorni	539 (0-3519)

Tabella 1. Caratteristiche della popolazione dei “ Poor Responders”.

La Tabella 2 invece riassume le caratteristiche clinico-laboratoristiche di base dei ” Good Responders”, popolazione oggetto del nostro studio, ed in particolare evidenzia: età media di 68 anni (range 33-89), la maggior parte erano maschi (n=103;82.4%) ed avevano ipertensione portale (n=72;57.6%). Quarantasette pazienti (65.9%) avevano varici esofagee F1 (n=31), F2 (n=14) e F3 (n=2), e la classe CPT A era quella maggiormente rappresentata.

(n=82;65.6%). Ottantadue pazienti (65.6%) aveva uno stadio BCLC C, 41 pazienti (32.8%) uno stadio BCLC B, due pazienti (1.6%) un stadio BCLC A, per i quali non erano stati possibili ulteriori trattamenti loco-regionali. L'inefficacia dei precedenti trattamenti endovascolari o la presenza di un HCC multifocale o la presenza di altre comorbidità erano state le ragioni che avevano condotto all'inizio della terapia con il Sorafenib nei 41 pazienti in stadio BCLC B. Novantasei pazienti (76.8%) avevano un valore di α -fetoproteina (AFP) inferiore a 400 ng/ml. Le eziologie principali erano rappresentate dalla infezione da virus dell'epatite C (n=48;38.4%) e su base alcolica (n=33;26.4%) (Tabella 2).

Caratteristiche cliniche di base	
Pazienti (N;%)	125(22)
M/F (N:%)	103/22 (82.4/17.6)
Età (media;range)	68 (33-89)
Eziologia (N/%)	
HCV	48 (38.4)
HBV	16 (12.8)
HCV+HBV	5 (4)
HBV+HDV	3(2.4)
NASH	11 (8.8)
Alcol	33 (26.4)
Critpogenetica	5 (4)
Emocromatosi	2 (1.6)
Fegato sano	2 (1.6)
Ipertensione Portale (N;%)	72 (57.6)
ECOG performance status (N;%)	
0	104 (83.2)
1	20 (16)
2	1 (0.8)

Tabella 2. Caratteristiche clinico-laboratoristiche dei pazienti all'inizio della terapia con Sorafenib.

**HBV: Virus Epatite B; HCV: Virus Epatite C; HDV: Virus Epatite delta;
 NASH: Steatoepatite non alcolica; INR: Rapporto Internazionale Normalizzato;
 MELD: Model for end-stage liver disease; BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer Staging;
 ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group.**

Caratteristiche cliniche di base	
Child Pugh (N;%)	
A	116 (92.8)
A5	82 (65.6)
A6	34 (27.2)
B	9 (7.2)
B7	8 (6.4)
B8	1 (0.8)
C	0
MELD (media;range)	8 (6-14)
Bilirubina totale (mg/dl) (media;range)	1.0 (0.3-2.8)
Albumina (g/dl) (media;range)	3.7 (2.1-4.7)
INR (media;range)	1.13 (0.8-1.5)
Encefalopatia (N,%)	
Assente	125 (100)
Moderata	0
Severa	0
Ascite (N,%)	
Assente	119 (95.2)
Lieve	6 (4.8)
Moderata	0
Creatinina (mg/dl) (media;range)	0.87 (0.4-1.8)
AST (U/L) (media;range)	61.3 (9-252)
ALT (U/L) (media;range)	54.1 (5-255)
Piastrine (103/μL) (media;range)	147 (27-700)
AFP (ng/ml) (media;range)	2787 (0.8-56000)
BCLC (N;%)	
A	2 (1.6)
B	41 (32.8)
C	82 (65.6)
HCC (stadiazione) (N;%)	
Noduli Contabilizzabili < 10	73 (58)
Noduli Contabilizzabili > 10	27 (22)
HCC infiltrante	18 (14)
HCC non intraepatico	7 (6)
Diametro Massimo (cm) (media; range)	4.7 (0.3-13.0)
Trombosi Neoplastica (N;%)	43 (34)
Metastasi (N;%)	41 (33)

Continuazione tabella 2.

Dalla nostra analisi, 73 pazienti (58%) avevano un numero di noduli di HCC contabilizzabili < a 10, 27 pazienti (22%) un numero di noduli contabilizzabili > a 10, 18 pazienti (14%) presentavano un HCC infiltrante, la cui estensione non era chiaramente definibile e 7 pazienti (6%) non avevano un HCC parenchimale intraepatico (presenza o di trombosi neoplastica o metastasi a distanza). Per 43 pazienti (34%) era stata evidenziata una trombosi neoplastica: in 14 pazienti (32%) interessava il tronco portale, in 24 pazienti (56%) un ramo portale segmentario, in 3 pazienti (7%) la vena cava ed in 2 pazienti (5%) le vene sovra epatiche. Quarantuno pazienti (33%) avevano metastasi a distanza con il coinvolgimento dei seguenti organi: in 15 casi (37%) i linfonodi, in 10 casi (24%) i polmoni, in 9 casi le ossa (22%), in 6 casi (15%) i surreni ed in un solo caso (2%) la parete addominale.

Dalla diagnosi di HCC all'inizio del trattamento con Sorafenib intercorrevano una media di 28.3 mesi (range:0-235)(Tabella3). Ventinove pazienti (23%) non avevano ricevuto altri trattamenti per l'HCC prima della terapia con Sorafenib, mentre 41 pazienti (33%) lo avevano assunto dopo essere stati sottoposti ad almeno un altro tipo di trattamento.

I trattamenti precedenti includevano: radiofrequenza (RF;n=29), alcolizzazione percutanea (PEI;n=17) e chemioembolizzazione (TACE; n=73).

Trattamenti Precedenti	
Diagnosi-Inizio Sorafenib (mesi)	
(media;range)	28.3 (0-235)
Precedenti Trattamenti (N;%)	
0	29 (23)
1	41 (33)
2	39 (31)
3	13 (10)
>3	4 (3)

Tabella 3. Trattamenti precedenti.

La durata media del trattamento è stata di 901,18 giorni (range 365-3672) con un dosaggio medio giornaliero di Sorafenib di 495 mg al giorno (range 100-800). La sospensione temporanea del trattamento era stata necessaria per 90 pazienti (72%) con una durata media di sospensione di 49.7 ±65.43 giorni. (Tabella 4)

Caratteristiche del Trattamento con Sorafenib	
Dose (mg)	
(media; giorno)	495 mg/giorno
Durata del Trattamento (giorni)	
(media;range)	901.18 (365-3672)
(mediana; range)	682.0 (365-3672)
Sospensione temporanea (N;%)	90 (72)
Durata della Sospensione (giorni)	
(media; dev stand)	49.7 ± 65.43
(range)	0-360
Fine trattamento (N;%)	101 (80.8)
Pazienti con trattamento in corso (N;%)	24 (19.2)
Cause sospensione definitiva (N;%)	
Progressione radiologica di malattia	54 (53)
Peggioramento della funzione epatica	15 (15)
Eventi Avversi	18 (18)
Altro	14 (14)

Tabella 4. Caratteristiche del trattamento con Sorafenib.

Il trattamento era stato definitivamente interrotto in 101 pazienti (80.8%). La ragione principale di tale interruzione era stata la progressione radiologica di malattia in 54 pazienti (53%), il verificarsi di eventi avversi in 18 pazienti (18%) ed il peggioramento della funzione epatica in 15 (15%) pazienti, quest'ultima definita come l'incremento di almeno 2 punti di CPT score rispetto al basale.

Gli eventi avversi, di ogni grado, sono stati riportati in tutti i pazienti del nostro studio e sono stati rappresentati principalmente dalla diarrea (n=84;67%), dalla HFSR (n=77;62%) e dalla astenia (n=82;66%). I principali eventi di grado 3 (n=64;51%) sono stati anche in questo caso la diarrea (n=13;15%) e la HFSR (n=17;22%) mentre unicamente in 2 pazienti (1.6%) sono stati registrati eventi di grado 4 (iperlipasemia e ipertransaminasamia). (tabella 5).

	Totale	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Eventi Avversi G1-G4 (N;%)	125(100)				
Dermatologici					
HFSR (N;%)	77(62)	27 (35)	33 (43)	17(22)	0
Rash (N;%)	30(24)	24 (80)	4 (13)	2 (7)	0
Gastrointestinali					
Diarrea (N;%)	84 (67)	47 (56)	24 (29)	13 (15)	0
Nausea/Vomito (N;%)	29 (23)	27 (93)	2 (7)	0	0
Sanguinamento gastrointestinale (N;%)	12 (10)	9 (75)	2 (17)	1 (8)	0
Iperensione Arteriosa (N;%)	40 (32)	23(57)	11 (28)	6 (15)	0
Astenia (N;%)	82 (66)	48(58)	30 (37)	4 (5)	0
Iperbilirubinemia (N;%)	30 (24)	15 (50)	12 (40)	3 (10)	0
Anemia (N;%)	11 (9)	4 (36)	7 (64)	0	0
Peggioramento dell'ascite (N;%)	26 (62)	16 (62)	10 (38)	0	0
Peggioramento dell'Encefalopatia (N;%)	6 (5)	4 (66)	1 (17)	1 (17)	0
Piastrinopenia (N;%)	22 (19)	11 (50)	7 (32)	4 (18)	0
Leucopenia (N;%)	7 (6)	6 (86)	1 (14)	0	0
Ipertransaminasemia (N;%)	29 (23)	20 (70)	5 (17)	3 (10)	1 (3)
Ipofosfatemia (N;%)	15 (12)	10 (67)	2 (13)	3 (20)	0
Iperlipasemia (N;%)	12 (10)	5 (42)	3 (25)	3 (25)	1 (8)
Iperamilasemia (N;%)	15 (12)	10 (67)	1 (7)	4 (26)	0
Diselettrolitemia (N;%)	6 (5)	4 (67)	2 (33)	0	0

Tabella 5. Principali eventi avversi in corso di terapia con Sorafenib.

Per quanto riguarda invece la migliore risposta radiologica al trattamento con il Sorafenib, ottenuta durante il follow up dei nostri pazienti, in 11 pazienti (8.8%) era stata registrata una risposta completa (CR), in 31 pazienti (24.8%) una risposta parziale (PR), in 69 pazienti (55.2%) era stata registrata la stabilità della malattia (SD) e in 10 pazienti (8%) invece era stata registrata una progressione di malattia (PD) ma il farmaco era stato continuato per stabilità clinica. Per 2 pazienti (1.6%) non era stato possibile determinare la risposta e per altri 2 (1.6%) il dato non era disponibile nel database (Tabella 6)

Dei 125 pazienti totali, 24 pazienti (19.2%) erano ancora in trattamento con il Sorafenib alla chiusura del database, di questi la migliore risposta radiologica registrata era stata: risposta

completa in 4 pazienti (17%), risposta parziale in 7 pazienti (29%), stabilità di malattia in 11 pazienti (46%) e progressione di malattia in 2 pazienti (8%) ritenuti stabili clinicamente.

Risposta Radiologica al trattamento con Sorafenib	
Miglior risposta radiologica	
Risposta Completa (N;%)	11 (8.8)
Risposta Parziale (N;%)	31 (24.8)
Stabilità di malattia (N;%)	69 (55.2)
Progressione di malattia (N;%)	10 (8)
ND (N;%)	2 (1.6)
Dato non disponibile	2 (1.6)
Tempo alla Progressione (giorni) (media, range)	363 (0-2159)
Trattamenti concomitanti al Sorafenib (N)	
Radio Frequenza (N;%)	6 (25)
Chirurgia(N;%)	15 (15)
Alcolizzazione percutanea (N;%)	0
Chemioembolizzazione trans arteriosa (N;%)	9 (37.5)
Radioembolizzazione (N;%)	8 (33.3)
Radioterapia(N;%)	5 (20.8)
Terapia sistemica dopo Sorafenib (N;%)	39 (31)
OS (giorni) (media, range)	1393 (142-3672)

Tabella 6. Risposta radiologica e sopravvivenza
ND: Non determinato; OS: Sopravvivenza globale

Il tempo alla progressione radiologica (TTP), era stato in media di 363 giorni (range 0-2159). Al termine del trattamento con il Sorafenib, 39 pazienti (31%) avevano ricevuto un trattamento farmacologico di seconda linea, in particolare 16 pazienti (41%) con farmaci off label (Capecitabina a dosaggio metronomico), 2 (5%) pazienti trattati con Megestrol Acetato e 21 pazienti (54%) arruolati all'interno di RCT (trial clinici randomizzati) con farmaci sperimentali. Dei pazienti partecipanti a RCT, 5 (23.8%) pazienti sono stati arruolati nel Trial ARQ197-303 (Tivantinib vs Placebo), 7 pazienti (33.3%) nel trial RESORCE (Regorafenib vs Placebo), 1 paziente (4.76%) nel Trial CDKO-125a-010, trattato con Milciclib Maleato, 1 paziente (4.7%) nello Trial XELOX con Capecitabina e Oxaliplatino, 1 paziente (4.7%) nel trial di valutazione di efficacia e sicurezza con Enzalutamide, 1 paziente (4.7%) nel trial CELESTIAL (Cabozantinib vs Placebo), 1 paziente (4.7%) nello studio

GEMOX con Gemcitabina e Oxaliplatino, 1 paziente (4.7%) nel trial CRAD001 (Everolimus vs Placebo), 1 paziente (4.7%) nel trial CA209-040 (Nivolumab+Ipilimumab) e 2 (9.5%) pazienti nel trial CA209-040 (Nivolumab+Ipilimumab+Cabozantinb).

Risultano persi al follow-up 6 pazienti (4.8%).

La Sopravvivenza Globale media era stata di 1393 giorni (range 142-3672). Le principali cause di morte erano disponibili in 61 pazienti (49%) e riconducibili in 36 pazienti (59%) a progressione dell'HCC, in 12 pazienti (20%) a insufficienza epatica terminale e in 13 pazienti (21%) ad altre ragioni non correlate alla epatopatia di base.

Le due popolazioni dei "Good e Poor Responders" sono state confrontate sulla base delle variabili presenti in tabella 7.

Variabili di confronto	N=125	N=442	<i>p value</i>
AST U/L (media)	61.3	69.5	0.065
ALT U/L (media)	54.1	55.4	0.782
Ipertensione Portale (N)	72	278	0.282
Child Pugh Score A5 (N)	82	218	0.022
Dose (media) (mg;gg)	495	533	0.069
Trombosi Neoplastica (N)	43	193	0.064
OS (media) giorni	1393	539	0.000
Durata del trattamento (media) giorni	901.18	125.6	0.000

Tabella 7. Variabili di confronto tra le due popolazioni.

Il confronto tra le due popolazioni ha evidenziato una differenza significativa tra i tassi CPT A5 (218 vs 82, $p=0.022$), di TD medio (125.6 vs 901.18 giorni, $p<0.000$) e di OS media (539 vs 1393 giorni, $p<0.000$) a favore del gruppo dei “Good Responders” (Tabella 7;Figura 1A;Figura1B)

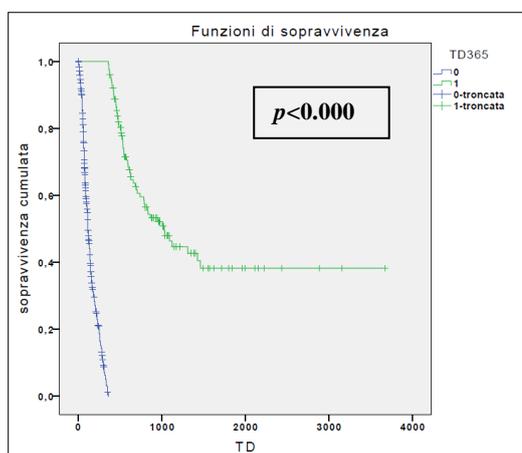


Figura 1A. Confronto tra TD tra i due gruppi

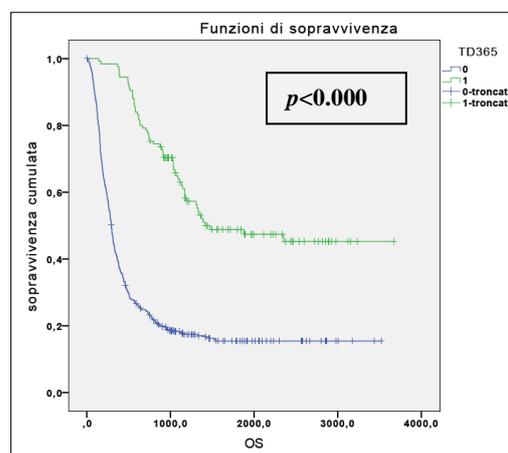


Figura 1B. Confronto della OS tra i due gruppi

La presenza di trombosi neoplastica nella popolazione dei “Poor Responders” ha un impatto statisticamente significativo sulla OS ($p<0.001$) (Fig2); mentre tale evidenza non si conferma nella popolazione dei “Good Responders”($p=0.252$) (Fig3).

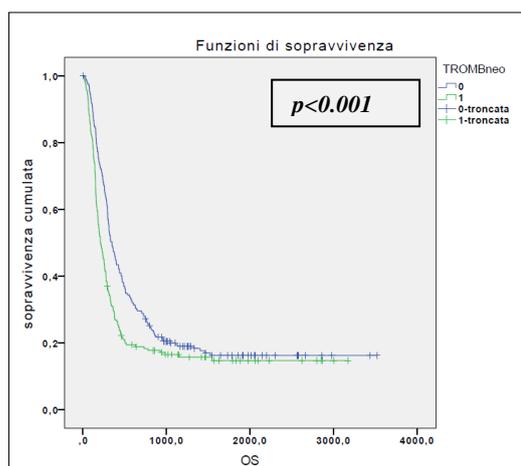


Fig 2. Popolazione “Poor Responders”
Trombosi Neoplastica e OS

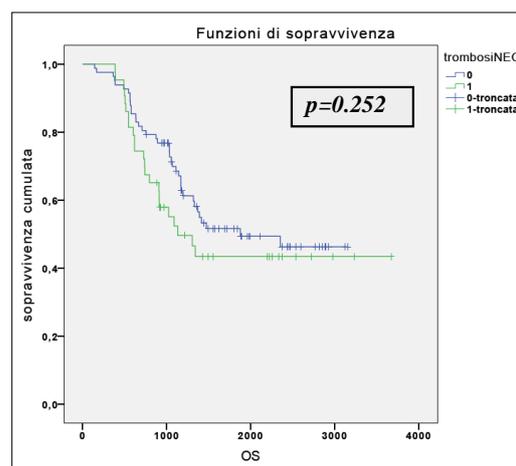
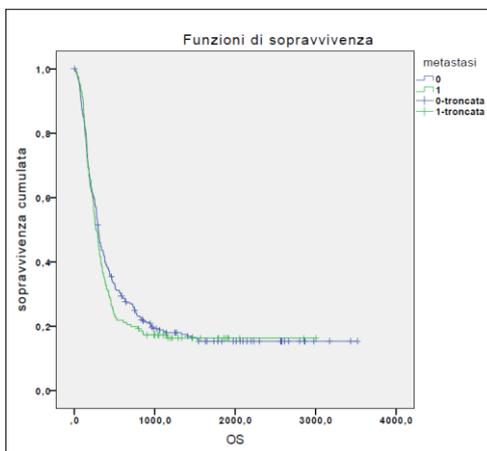
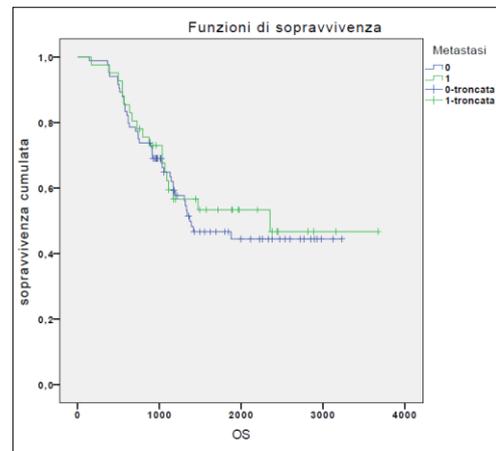


Fig 3. Popolazione “Good Responders”
Trombosi Neoplastica e OS

Invece, la presenza di metastasi sembra non influenzare la OS in entrambi i gruppi. (Figure 4-5)



**Fig 4. Popolazione “Poor Responders”
Metastasi e OS**



**Fig 5. Popolazione “Good Responders”
Metastasi e OS**

Nella popolazione dei “Good Responders”, non è stata evidenziata una correlazione statisticamente significativa tra OS e le seguenti variabili considerate: presenza di ipertensione portale, livelli di AFP >400 ng/ml, CPT score basale, presenza di noduli di HCC >10, presenza di metastasi, presenza di trombosi neoplastica, ECOG-PS(0-1) e con i principali eventi avversi quali la diarrea, la HFSR, l’astenia, l’ipertensione ed il peggioramento della funzione epatica ($p=ns$;Log-Rank-Mantel-Cox).

Discussione

Il nostro studio multicentrico di pratica clinica ha confermato l'efficacia e il profilo di sicurezza di Sorafenib nel trattamento a lungo termine dei pazienti con HCC, un tumore aggressivo che rappresenta il 70-90% delle neoplasie primitive maligne del fegato e costituisce un grave problema di salute globale [2,3].

La strategia di trattamento dell'HCC dipende dallo stadio del tumore, dalla funzionalità epatica e dall'ECOG-PS del paziente. Sfortunatamente, la diagnosi di HCC viene spesso fatta in pazienti con la malattia in stadio intermedio-avanzato a causa dei sintomi aspecifici associati all'HCC, con conseguente prognosi sfavorevole, in gran parte dei casi [8]. Nella nostra casistica, ad esempio, il 23% della popolazione dei “ Good Responders” rappresenta un esordio di patologia per il quale Sorafenib ha rappresentato il primo trattamento.

Tuttavia dei 567 pazienti totali con HCC, una parte rilevante di essi (n=125;22%) ha ricevuto una terapia a lungo termine con Sorafenib (≥ 12 mesi), con risultati in termini di sopravvivenza, anche al di sopra dei risultati ottenuti in altri studi di Real Practice [61]. Inoltre, vale la pena ricordare che la popolazione analizzata dei “Good Responders” ha dimostrato di avere una funzione epatica più conservata rispetto all’altro gruppo, probabilmente contribuendo in tal modo al mantenimento del trattamento con il Sorafenib a lungo termine.

E’ inoltre rilevante notare come i nostri dati confermino che la presenza di trombosi neoplastica sia un fattore prognostico cardine dell’HCC, tuttavia in caso di risposta tumorale al trattamento sistemico con Sorafenib, tale presenza non appare inficiare la sopravvivenza dei pazienti [36,52].

Complessivamente il 72% dei pazienti aveva richiesto una temporanea sospensione del trattamento. È interessante notare che, dati provenienti dallo studio GIDEON (Global Investigation of Therapeutic Decisions in Hepatocellular Carcinoma and of Its Treatment With Sorafenib) hanno evidenziato che la modifica della dose di Sorafenib è abbastanza comune nella pratica clinica quotidiana e che l’uso di dosi più basse non sembra cambiare notevolmente l’efficacia di questo farmaco nel trattamento dell’ HCC [62,63]. Mentre nello studio SOFIA, uno studio multicentrico italiano che ha valutato l’utilizzo del Sorafenib in pazienti con HCC nella pratica clinica quotidiana, il 26% dei pazienti ha ricevuto il dosaggio dimezzato per più del 70% del periodo di trattamento, nella maggioranza dei casi per la comparsa di AE, con un sorprendente incremento dell’OS rispetto ai pazienti trattati a dosaggio pieno [64]. Inoltre in tale studio il 16% dei pazienti ha dovuto interrompere il trattamento per il peggioramento della funzione epatica più frequentemente rispetto a quanto osservato nel trial registrativo (1%) e nel trial di conferma (3,5%), facendo apparire di grande rilievo il monitoraggio dell’impatto della terapia anti-angiogenica sulla funzione epatica dei pazienti in trattamento [36,52]. Anche l’analisi della popolazione dei “Good Responders” ha confermato un 15% di interruzione del trattamento sistemico per peggioramento della funzione epatica, nonostante si fosse già evidenziata una significativa migliore funzione epatica basale (CPT-A5) nei “Good Responders” rispetto ai “ Poor Responders”.

Un recente studio [65] evidenzia che l'esperienza nella gestione di eventi avversi correlati al Sorafenib e della posologia il più possibile "personalizzata", prolunga la durata del trattamento e la sopravvivenza.

Nel nostro studio il dosaggio medio giornaliero del Sorafenib non ha mostrato differenze significative fra " Good e Poor Responders" (495 vs 533 mg/giorno; $p=0.069$).

Inoltre nella popolazione dei " Good Responders" tutti i pazienti avevano manifestato eventi avversi di ogni grado, nel 51% dei casi sono stati di grado 3 e nel 3.2 % di grado 4, tuttavia nessuno di essi era risultato fatale.

Devono essere riconosciute diverse limitazioni al presente studio, tra cui la parte retrospettiva, sebbene i pazienti fossero comunque consecutivamente arruolati. Tuttavia le evidenze emerse dalla nostra popolazione, risentono positivamente della natura multicentrica dello studio.

Conclusioni

Possiamo quindi concludere affermando che il nostro studio di pratica clinica evidenzia come il trattamento con Sorafenib può dare un significativo aumento della sopravvivenza, in presenza anche di un soddisfacente profilo di sicurezza, in una rilevante quota di pazienti (22%). La presenza di trombosi neoplastica permane un fattore prognostico negativo nei pazienti non responsivi a Sorafenib, tuttavia se presente, non inficia la buona risposta al trattamento.

3.2 La presenza del carcinoma epatocellulare (HCC) non influisce sul decorso e sulla risposta agli anticoagulanti della Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale nei pazienti cirrotici

Premesse e scopo dello studio

La Trombosi del sistema venoso portale (PVT) consiste nella presenza di un trombo venoso situato all'interno del sistema meso-spleno-portale. È un evento raro nella popolazione generale, ma si verifica più frequentemente nei pazienti con cirrosi epatica, a causa di varie anomalie correlate alla malattia [66] e la sua incidenza aumenta con la gravità della malattia stessa. La prevalenza della PVT varia tra lo 0.6% e il 26% nei pazienti cirrotici [67,68]. L'incidenza della PVT dipende dall'età, dalla malattia epatica sottostante, dalla velocità del flusso sanguigno venoso portale e dallo stato pro-anticoagulante del paziente. Poiché la PVT può causare complicazioni sia a breve che a lungo termine, l'adozione di adeguate misure diagnostiche e terapeutiche potrebbe essere di fondamentale importanza [69].

È noto che la presenza di un tumore sia un fattore estremamente rilevante nell'indurre l'insorgenza di trombosi venosa profonda ed embolia polmonare e la sede del tumore può influenzare il decorso clinico della trombo embolia venosa [70]. La presenza di un tumore attivo, aumenta i tassi di recidiva di eventi trombo embolici polmonari e di episodi emorragici, rispetto alla sola presenza di cancro o meno [71].

I pazienti con HCC non solo possono presentare infiltrazione neoplastica della vena porta, ma sono anche spesso caratterizzati dal verificarsi della trombosi non neoplastica del sistema venoso portale, probabilmente favorita dalla presenza di una condizione di malignità e della cirrosi epatica sottostante [72,73].

La presenza di una PVT blanda non cambia lo stadio del tumore, ma altera la perfusione epatica e gli impatti sull'ipertensione portale, compromettendo potenzialmente la possibilità di fornire un trattamento che sia efficace per l'HCC, previsto per quello specifico stadio del tumore. Ad esempio, la presenza di occlusione della vena porta può controindicare il trattamento endovascolare del tumore, con la chemioembolizzazione.

La controindicazione deriva dal rischio di indurre insufficienza epatica causata dal blocco completo (arterioso e portale) del flusso sanguigno con conseguente deterioramento della funzionalità epatica. Inoltre, la progressione della PVT può ostacolare la possibilità tecnica di eseguire un trapianto di fegato, per il quale l'HCC è recentemente diventato un'indicazione molto comune. Infine il verificarsi della PVT induce ipertensione portale,

potenzialmente controindicata nelle resezioni chirurgiche di HCC. Pertanto, la risoluzione della presenza della PVT nei pazienti con HCC potrebbe avere un impatto clinico non indifferente.

Se la presenza di HCC influisca sulla capacità del trattamento anticoagulante di ripristinare la pervietà venosa o aumenti il rischio di sanguinamento sotto anticoagulante, come accade in altri tumori [71], non è mai stato studiato finora, rendendo la decisione del trattamento impegnativa. Abbiamo quindi approfittato di una vasta serie di casi raccolti retrospettivamente di pazienti con PVT non neoplastica, di cui solo una parte è stata trattata con anticoagulanti [73] per chiarire questo problema.

I pazienti del presente studio sono stati ottenuti da uno studio retrospettivo precedentemente pubblicato che valutava la sicurezza e l'efficacia degli anticoagulanti nella cirrosi [74]. Un totale di 182 pazienti con Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) sono stati identificati in modo retrospettivo in due centri di riferimento per l'epatologia, in Italia e in Romania. I criteri di inclusione erano: diagnosi di Trombosi non neoplastica del sistema venoso portale (PVT) su cirrosi tra gennaio 2008 e marzo 2016, basata su criteri di imaging rigorosi e biopsia quando necessario [75], (Tabella 1), almeno 3 mesi di follow-up con imaging ripetuto dopo la diagnosi.

I criteri di esclusione erano: presenza di neoplasie epatocellulari attive. Per il presente studio abbiamo applicato un ulteriore criterio di esclusione, consistente nella storia di carcinoma epatocellulare precedentemente trattato senza tumore attivo ricorrente, poiché sarebbe stato problematico attribuire questi pazienti all'uno o all'altro gruppo di studio.

La ricanalizzazione è stata definita come completa clearance del ramo portale principale se coinvolto o una riduzione maggiore del 50% nella dimensione del trombo (spessore o estensione longitudinale).

	Pazienti	HCC (n=30)	No HCC (n=132)	P value
Diagnosi				
Ecografia (N;%)	116 (71.6)	14 (46.7)	102 (77.3)	0.001
TAC (N;%)	40 (24.7)	13 (43.3)	27 (20.4)	0.017
RMN (N;%)	6 (3.7)	3 (10)	3 (2.3)	0.078
Ramo Portale Principale (N;%)	121 (74.7)	24 (80)	97 (73.5)	0.642
Parziale (N;%); Totale (N;%)	111 (68.5)/10(6.2)	22 (73.3)/2(6.7)	89 (67.4)/8(6.1)	0.760
Rami portali intraepatici (N;%)	82 (50.6)	13 (43.3)	69 (52.3)	0.422
Parziale (N;%); Totale (N;%)	65 (40.1)/17(10.5)	12 (40)/1 (3.3)	53 (40.1)/16(12.1)	0.334
Vena Splenica (N;%)	22 (13.6)	1 (3.3)	21 (15.9)	0.080
Parziale (N;%); Totale (N;%)	19 (11.7)/3 (1.8)	1 (3.3)/0	18 (13.6)/3 (2.3)	0.184
Vena Mesenterica Sup (N;%)	36 (22.2)	11 (36.7)	25 (15.9)	0.050
Parziale (N;%); Totale (N;%)	31 (19.1)/5 (3.1)	9 (30)/ 2(6.7)	22 (16.7)/3 (2.3)	0.091
Cavernoma (N;%)	20 (12.3)	2 (6.7)	18 (13.6)	0.373
Splenomegalia (N;%)	148 (91.3)	27 (90)	121 (91.7)	0.672
Ricanalizzazione al termine del follow-up (N;%)	59 (36.4)	9 (30)	50 (37.9)	0.530
Parziale (N;%); Totale (N;%)	27 (16.7)/ 32(19.7)	3 (10)/6 (20)	24 (18.2)/ 26(19.7)	0.543

Tabella 1. Diagnosi e caratteristiche della PVT

TAC: Tomografia assiale computerizzata; RMN: Risonanza magnetica

Analisi statistica

Le variabili continue sono espresse come media e deviazione standard o mediana e quartili, mentre le variabili categoriche sono espresse come numero assoluto e percentuale.

La distribuzione delle variabili è stata valutata tramite il test di Kolmogorov-Smirnov.

Le variabili categoriche sono state confrontate con il test esatto di Fisher e le variabili continue con il Test t di Student. La sopravvivenza è stata calcolata dalla prima diagnosi di PVT alla morte / trapianto di fegato o all'ultima visita di follow-up ed espressa come mediana e intervallo di confidenza al 95% (IC al 95%).

Un p value inferiore a 0,05 a è stato considerato statisticamente significativo. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il pacchetto statistico ®SPSS 21.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA).

Risultati

Caratteristiche dei pazienti al momento della diagnosi di PVT

Dopo l'esclusione di 20 pazienti con HCC precedentemente trattato senza tumore attivo ricorrente, è stata ottenuta una popolazione di studio finale di 162 pazienti, di cui 30 con HCC attivo non trattato e 132 senza HCC attivo.

L'età media dei pazienti era di 57.6 ± 11.4 anni e la maggior parte erano maschi (n=111;68.5%). La cirrosi epatica era stata causata principalmente dall'abuso di alcol (n=46;28.4%), seguita dall'infezione da HCV (n=45;27.8%). Dividendo i pazienti in base alla presenza o all'assenza di HCC attivo, non sono state riscontrate differenze tra i due gruppi in termini di età, sesso ed eziologia della cirrosi epatica. Lo stadio BCLC nei pazienti con HCC era: BCLC 0 (n=2;6.6%), BCLC A (n=22;73.3%), BCLC B (n=3;10%) e Avanzato= BCLC C (n= 3;10%). Anche la funzionalità epatica, espressa sia attraverso il Child-Pugh Score (7[5-12] e 7[5-13]; p= 0.864) che dal MELD Score (11[8-22] e 12[7-29]; p=0.367), rispettivamente nei pz con HCC e senza HCC, non mostrava sostanziali differenze tra i due gruppi. I pazienti con HCC presentavano valori leggermente più bassi di bilirubina (2.0 ± 1.3 e 2.5 ± 2.4 mg/dl; p=0.010) e INR (1.2 ± 0.4 e 1.4 ± 0.5 ; p=0.010) rispetto ai pazienti senza HCC .

Altre caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione in studio sono riassunte nella Tabella 2.

Caratteristiche Cliniche	Pazienti			P value
	N=162	HCC (n=30)	No HCC (n=132)	
Età (anni) (media;dev standard)	57.6 ± 11.4	58.03 ± 10.7	57.5 ± 11.6	0.977
Maschi (n;%)	111 (68.5)	24 (80)	87 (65.9)	0.191
Eziologia				
HCV (N;%)	45 (27.8)	12 (40)	33 (25)	0.121
HBV (N;%)	2 (1.2)	2 (6.7)	18 (13.6)	0.371
HCV+HBV (N;%)	6 (3.7)	0	6 (4.5)	0.595
Virus + alcolica (N;%)	13 (8.0)	4 (13.3)	9 (6.8)	0.270
Alcolica (N;%)	46 (28.4)	7 (23.3)	39 (24.1)	0.511
NASH (N;%)	7 (4.3)	2 (6.7)	5 (3.1)	0.617
NASH + alcol (N;%)	2 (1.2)	1 (3.3)	2 (1.5)	0.343
Autoimmune (N;%)	8 (4.9)	0	8 (6.1)	0.354
Critpogenetica (N;%)	12 (7.4)	2 (6.7)	10 (7.6)	1
Funzione Epatica				
Child Pugh Score (mediana;range)	7 (5-13)	7 (5-12)	7 (5-13)	0.864
Child-Pugh				
A (N;%)	68 (42)	13 (43.3)	55 (41.7)	1
B (N;%)	71 (44)	15 (50)	56 (42.4)	0.542
C (N;%)	23 (14)	2 (6.7)	21 (15.9)	0.254
MELD (mediana; range)	12 (7-29)	11 (8-22)	12 (7-29)	0.367
Ascite (N;%)	93 (42.0)	18 (60)	75 (56.8)	0.839
Varici (N;%)	126 (77.8)	20 (66.7)	106 (80.3)	0.142
F1 (N;%)	82 (50.6)	11 (36.7)	71 (53.8)	0.107
F2 (N;%)	35 (21.6)	9 (30)	26 (19.7)	0.225
F3 (N;%)	9 (5.5)	0	9 (6.8)	0.212
Trattamento Varici esofagee pre PVT (N;%)	50 (28.6)	5 (16.7)	45 (30.9)	0.080
Trattamento Varici gastriche pre PVT (N;%)	3 (1.8)	1 (3.3)	2 (1.5)	0.461
Sanguinamento Varici Esofagee 6 mesi prima PVT (N;%)	30 (16.5)	1 (3.3)	29 (19.1)	0.017
Test di Laboratorio				
Bilirubina (mg/dL) (media;dev stand)	2.4 (2.2)	2.0 (1.3)	2.5 (2.4)	0.010
Piastrine(10 ³ /μL) (media;dev stand)	95.8 (73.7)	83.9 (44.2)	98.9 (79.5)	0.151
INR (media;dev stand)	1.4 (0.5)	1.2 (0.4)	1.4 (0.5)	0.010
Documentata infezione alla diagnosi di PVT (N;%)	20 (12.3)	3 (10)	17 (12.9)	1
Complicanze Emorragiche in corso di PVT (N;%)	37 (22.8)	4 (13.3)	33 (25)	0.230

Tabella 2: Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione in studio
HBV: Virus Epatite B; HCV: Virus Epatite C; NASH: Steatoepatite non alcolica;
INR:Rapporto Internazionale Normalizzato; MELD: model for end-stage liver disease.

Caratteristiche della PVT alla diagnosi

Sia nel gruppo dei pazienti con HCC attivo che nel gruppo non HCC, la PVT è stata per lo più diagnosticata attraverso l'esame ecografico, anche se in una percentuale maggiore di pazienti con HCC rispetto ai non HCC, la diagnosi è stata fatta con la TAC (n=13;43.3% vs n=27;20.4% p=0.017), a seguito della più ampia valutazione di imaging dei pazienti oncologici. La maggior parte dei soggetti analizzati, ha mostrato un interessamento del tronco portale : pazienti con HCC: n=24;80% e pazienti non HCC: n=97;73.5% p= 0.642.

Circa la metà dei pazienti ha mostrato un interessamento dei rami portali intraepatici, isolati o associati alla PVT del tronco portale, senza differenze tra i due gruppi (pazienti HCC: n=13; 43.3% e non HCC: n=69;52.3%; p=0.422). Se una quota maggiore di pazienti con HCC attivo ha presentato una estensione della PVT alla vena mesenterica superiore al momento della diagnosi, rispetto ai pazienti non HCC (n=11;36.7% vs n=25;15.9%; p=0.050) (Tabella 1), una quota minore mostrava estensione alla vena splenica (n=1;3.3% /0 vs n=18;13.6% / n=3, 2.3%; p=0.184) rispetto ai cirrotici senza HCC (Tabella 1).

Trattamento anticoagulante e decorso della PVT

Considerando l'intera popolazione dello studio, 69 pazienti (42.6%) sono stati trattati con terapia anticoagulante, con tassi quasi identici nei due gruppi di studio (gruppo HCC: n=13; 43.3% e gruppo non HCC: n=56;42.4%; p=1). La terapia anticoagulante è stata iniziata poco dopo la diagnosi di PVT nella maggior parte dei casi, come previsto. (Tabella 3). La durata media del trattamento è stata di 13.7 ± 14.5 mesi, ma è stata più breve nei pazienti con HCC rispetto ai non HCC (6.5 ± 4.6 vs 15.5 ± 15.6 ; p=0.004). Un totale di 50 pazienti (30.9%) sono stati trattati con eparina a basso peso molecolare (LMWH), 10 (6.2%), con anticoagulanti orali (antagonisti della vitamina K -VKA) e 9 (5.5%) con fondaparinux, senza differenze tra i pazienti con e senza HCC. Non sono state riscontrate differenze nella dose somministrata (Tabella 3).

Trattamento (N;%)	Pazienti			P value
	N=162 69 (42.6)	HCC (n=30) 13 (43.3)	No HCC (n=132) 56 (42.4)	
Inizio della Terapia alla diagnosi di PVT (N;%)	50 (30.9)	7 (23.3)	43 (32.6)	0.386
Durata del trattamento				
≤ 6 mesi (N;%)	55 (33.9)	13 (43.3)	42 (31.8)	0.166
7-12 mesi (N;%)	8 (4.9)	1 (3.3)	7 (5.3)	1
≥ 13 mesi (N;%)	6 (3.7)	0	6 (4.5)	0.342
Tipo di Trattamento				
Eparina a basso peso molecolare (N;%)	50 (30.9)	13 (43.3)	37 (28.0)	0.054
Antagonisti della Vitamina K (N;%)	10 (6.2)	0	10 (7.5)	0.674
Fondaparinux (N;%)	9 (5.5)	0	9 (6.8)	0.194
Dosaggio				
Una volta al giorno (N;%)	45 (27.8)	7 (23.3)	38 (28.8)	0.217
Due volte al giorno (N;%)	24 (14.8)	6 (23.3)	18 (13.6)	0.128
Durata Terapia (mesi) (media ± dev standard)	13.7 ± 14.5	6.5 ± 4.6	15.5 ± 15.6	0.004
Ricanalizzazione al termine del follow-up (N;%)				
Parziale (N,%) / Totale (N;%)	27(16.7)/32(19.7)	3 (10)/6 (20)	24 (18.2)/26 (19.7)	0.543
Ricanalizzazione dopo la terapia (N;%)	42 (25.9)	8 (61.5)	34 (60.7)	1
Intervalli di ricanalizzazione				
3 mesi (N;%)	23 (14.2)	5 (16.7)	18 (13.6)	0.767
6 mesi (N;%)	13 (8.0)	1 (3.3)	12 (9.0)	0.450
12 mesi (N;%)	6 (3.7)	2 (6.7)	4 (3.0)	0.593
Progressione PVT durante la terapia (N;%)	10 (6.2)	0	10 (7.5)	0.110
Progressione PVT dopo la terapia (N;%)	24 (14.8)	3 (10)	21 (15.9)	0.109
Beta-bloccanti durante la terapia (N;%)	51 (31.5)	10 (30)	41 (31.1)	1
Cause stop terapia				
OLT (N;%)	1 (0.6)	0	1 (0.7)	1
Complicanze emorragiche (N;%)	6 (3.7)	1 (3.3)	5 (3.8)	1
Trombocitopenia (N;%)	3 (1.8)	0	3 (2.3)	1
Altre complicanze (N;%)	1 (0.6)	0	1 (0.7)	1
Non per complicanze (N;%)	11 (6.8)	2 (6.7)	9 (6.8)	1

Tabella 3 : Caratteristiche del trattamento anticoagulante dei pazienti HCC e senza HCC. OLT: orthotopic liver transplantation.

Ricanalizzazione della PVT

Un totale di 59 pazienti (36.4%) ha mostrato ricanalizzazione, di cui 27 (16.7%) parziale e 32 (19.7%) completa. Non sono state riscontrate differenze nei tassi di ricanalizzazione tra i 2 gruppi HCC e non HCC (n=9;30% vs n=50;37.9%; p=0.530 rispettivamente). Considerando solo i pazienti trattati con terapia anticoagulante, in 35 la ricanalizzazione è avvenuta alla fine del follow-up, senza differenze tra i gruppi HCC e non HCC (n=6;46,1%, n=29;51.9% p=0.631). Trentuno pazienti non-HCC hanno sviluppato progressione della PVT, di cui 10 (7.5%) durante e 21 (15.9%) dopo l'interruzione della terapia anticoagulante, rispetto a 3 (10.0%) pazienti con HCC attivo che hanno mostrato progressione della PVT, tutti dopo interruzione del trattamento. Le complicanze emorragiche hanno portato all'interruzione prematura della terapia anticoagulante in 1 (3,3%) paziente con HCC e in 5 (3.8%) pazienti senza HCC (p=1). Al termine del follow-up (tempo medio 23.6 ± 18.6 mesi), 25 pazienti (83.3%) HCC e 108 (81.8%) pazienti non HCC erano vivi. La sopravvivenza globale mediana dei pazienti con HCC è stata di 50.0 mesi (IC 95%: 35.3-64.8) rispetto a 66.0 mesi (IC 95%: 56.5-75.5) di pazienti senza HCC attivo (p=0.739). La sopravvivenza non differiva tra i due gruppi considerando solo i pazienti trattati con anticoagulante (gruppo HCC: 52.6 mesi (IC 95%: 31.8-73.4); gruppo non-HCC: 68.9 mesi (IC 95%: 60.0-77.9); p=0.535).

Discussione

I dati attuali mostrano che la presenza di HCC, almeno nella fase iniziale, non influisce negativamente sul decorso del PVT non neoplastica e sulla risposta al trattamento anticoagulante. I tumori maligni sono generalmente considerati un fattore di rischio per la trombosi venosa profonda e possono ostacolare la ricanalizzazione delle vene trombizzate.

L'HCC insorge spesso su cirrosi, una condizione che si manifesta con un'incidenza pari al 20% di casi all'anno a seconda della gravità della disfunzione epatica [72-73].

La PVT è una complicanza frequente nella cirrosi epatica [67,72-73], ma la sua storia naturale e la sua gestione terapeutica non sono ancora state affrontate in modo chiaro con sufficienti ricerche o da linee guida internazionali. La cirrosi epatica è stata storicamente considerata una condizione che favorisce il rischio di sanguinamento correlato alla coagulopatia, a causa del basso numero di piastrine e del valore INR elevato; recentemente è stata lanciata una sfida a questo paradigma, perché oltre al sanguinamento gastrointestinale correlato all'ipertensione portale, il sanguinamento spontaneo altrove non è stato riscontrato

come condizione che si manifesta con una maggiore frequenza nella cirrosi, come dimostrato da un basso tasso di emorragia intracranica rispetto a una popolazione di controllo [76]. A causa di questi problemi di sicurezza e dei dubbi sui benefici clinici [77-79], il fatto che i pazienti con PVT blanda siano trattati o meno con gli anticoagulanti è ancora oggi una scelta individualmente del medico responsabile, sulla base di atteggiamenti personali, paura di episodi emorragici e condizioni del paziente, poiché non esistono raccomandazioni chiare. Ad oggi, l'assenza di studi randomizzati ben progettati, le prove pubblicate tendono a suggerire che il trattamento anticoagulante nella cirrosi è sicuro [74,80] a condizione che i pazienti siano adeguatamente gestiti (profilassi del sanguinamento delle varici esofagee e dosaggio dell'anticoagulante accuratamente adattato) [73,74,81].

In relazione alla questione di ogni possibile beneficio di sopravvivenza derivante dal trattamento anticoagulante piuttosto che dal danno, i risultati pubblicati sono lungi dall'essere conclusivi [74,77,78,82]. Sfortunatamente sono disponibili solo pochi studi retrospettivi, che implicano rischi significativi di parzialità quando si traggono conclusioni sulla sopravvivenza. In effetti, fattori come la gravità della disfunzione epatica potrebbero aver influenzato sia la sopravvivenza che la decisione di iniziare il trattamento anticoagulante.

In conclusione, i dati non possono portare nessun tipo di messaggio sul trattamento generalizzato con gli anticoagulanti in tutti i pazienti cirrotici con PVT, ma allo stesso tempo sottolineano l'idea che questa opzione non dovrebbe essere scartata "a priori" perché ritenuta pericolosa.

I nostri attuali risultati confermano che l'opzione dell'anticoagulante dovrebbe essere presa in considerazione anche nei pazienti con HCC, poiché questi pazienti non sono meno sensibili rispetto ai pazienti cirrotici senza tumore, a causa della presenza di tumore e non presentano un rischio più elevato di complicanze. Vale la pena notare che i nostri dati si applicano principalmente ai pazienti nella fase iniziale del tumore, poiché questi rappresentano la maggior parte della nostra popolazione. Ciò è coerente con il fatto che molti pazienti nella fase avanzata soffrano di trombosi portale neoplastica piuttosto che di trombosi blanda.

Le limitazioni del presente studio sono principalmente legate alla sua natura retrospettiva. In prima istanza, la mancanza di un protocollo standardizzato sull'utilizzo della terapia

anticoagulante, si traduce nell'impossibilità di formulare raccomandazioni chiare sulla scelta e sulle dosi del farmaco anticoagulante da somministrare. Inoltre, la valutazione dell'estensione della PVT e la valutazione del grado di risposta sono state fornite utilizzando diverse tecniche di imaging. L'ecografia è un esame accurato per quanto riguarda lo studio della presenza e dell'estensione della trombosi intraepatica, tuttavia, non è accurata come la TAC e la risonanza magnetica in caso di coinvolgimento extraepatico. La TAC e la risonanza magnetica sono costose e richiedono l'iniezione di mezzi di contrasto potenzialmente dannosi mentre l'esame ecografico è meno costoso ed i mezzi di contrasto sicuri. Inoltre la TAC implica anche l'esposizione del paziente alle radiazioni ionizzanti.

Pertanto, l'utilizzo della TC e della risonanza magnetica è molto meno fattibile per il follow-up a breve / medio termine della PVT per monitorarne la progressione o la regressione e specialmente nei pazienti non oncologici. Per questo motivo, l'ecografia è la tecnica adottata nella maggior parte dei pazienti nel presente studio.

Un altro punto da evidenziare è che spesso è impossibile datare correttamente l'insorgenza del trombo. Nel presente studio, tutti i pazienti sono stati arruolati consecutivamente al momento della prima diagnosi della PVT, indipendentemente dalla presenza o assenza di sintomi correlati alla PVT. La PVT è comunemente asintomatica e, inoltre, i sintomi possono svilupparsi solo successivamente quando la PVT parziale progredisce a PVT completa. Pertanto, la presenza/assenza di sintomi non è un indice affidabile per la datare correttamente l'insorgenza della PVT quando l'imaging non è in grado di fornire queste informazioni. Un'altra limitazione è correlata alla variabilità del follow-up di imaging sia dopo la fine del trattamento con gli anticoagulanti o meno, e dunque non possiamo fornire informazioni sulla velocità di ricanalizzazione durante il trattamento con l'anticoagulante, sia che si verifichi rapidamente (ad es. <2 settimane) o lentamente (ad es.> 3 mesi). Questa informazione sarebbe particolarmente rilevante nel contesto dell'HCC in quanto potrebbe influenzare la possibilità di adottare o meno alcuni trattamenti antitumorali (chirurgici o endovascolari), per i quali il paziente non può attendere a lungo.

In conclusione, il presente studio ha dimostrato che la presenza di HCC attivo non influisce negativamente sul decorso della PVT blanda non neoplastica e sull'efficacia del trattamento anticoagulante.

Inoltre, la presenza dell'HCC non causa alcuna preoccupazione aggiuntiva in termini di sicurezza, rispetto ai pazienti con cirrosi non HCC e ai pazienti non trattati con gli

anticoagulanti. Pertanto, l'HCC complicato da PVT blanda non neoplastica potrebbe essere trattato con anticoagulanti, e eventualmente con terapie altrimenti controindicate (ad es. TACE)

3.3 Immunoterapia antineoplastica e futuro scenario terapeutico dell'HCC.

Premesse e scopo dello studio

Negli ultimi anni, l'immunoterapia antineoplastica ha rivoluzionato il panorama terapeutico in oncologia. Inizialmente ha dimostrato di essere efficace nel trattamento del melanoma e del carcinoma polmonare non a piccole cellule, e ad oggi gli inibitori del checkpoint immunitario sono in fase di test per il trattamento del carcinoma epatocellulare (HCC). I risultati preliminari sono stati particolarmente promettenti. Di conseguenza, è in corso un numero crescente di studi clinici. Il ruolo del sistema immunitario nella carcinogenesi (con particolare riferimento ai meccanismi immunitari di fuga del tumore), nonché gli attuali studi di immunoterapia per l'HCC nei suoi diversi scenari clinici, sono oggetto di questo studio. L'obiettivo dell'immunoterapia è quello di sfruttare la specificità e la memoria a lungo termine della risposta immunitaria adattativa per ottenere una regressione tumorale duratura e una possibile cura. I diversi approcci all'immunoterapia includono la somministrazione di citochine esogene o di vaccini terapeutici per aumentare la frequenza delle cellule T tumore-specifiche, il trasferimento adottivo di cellule effettrici tumore-specifiche e l'applicazione di una serie di inibitori dei checkpoint immunitari e agonisti della co-stimolazione dei recettori per superare i meccanismi immunosoppressivi indotti dal tumore. Da tempo infatti sappiamo che il sistema immunitario e le cellule maligne coesistono in un equilibrio dinamico, e questa interazione tra crescita tumorale e sistema immunitario può determinare il decorso della malattia [83].

I tumori devono sviluppare la capacità di eludere il sistema immunitario per proliferare e metastatizzare. Secondo la teoria della sorveglianza immunitaria, il sistema immunitario è proattivamente in grado di eliminare le cellule anormali e prevenire la formazione del cancro. A tale proposito, diversi studi hanno dimostrato che i pazienti con funzione immunitaria compromessa o soppressa hanno un aumentato rischio di sviluppare il cancro [84]. Chiaramente la risposta immunitaria adattativa è in grado di controllare la crescita di alcuni tumori, come evidenziato dall'osservazione che la presenza di linfociti infiltranti il tumore (TIL) spesso è associata a una sopravvivenza maggiore (OS) [85]. Tuttavia, il sistema immunitario è reso meno efficace con la crescita dei tumori.

Il processo di immunoediting del cancro è un processo dinamico avviato dalle cellule tumorali in risposta all'immunosorveglianza del sistema immunitario [86], e si articola in tre fasi: eliminazione, equilibrio e fuga. Nella fase di eliminazione le cellule tumorali sono

identificate e distrutte efficacemente dal sistema immunitario. Nella fase di equilibrio il sistema immunitario non è in grado di eliminare completamente tutte le cellule tumorali, ma è in grado di controllare o prevenire ulteriori crescite. Nella fase di fuga il sistema immunitario non è in grado di eliminare e controllare la crescita del tumore perché le cellule tumorali si sono evolute sotto la pressione selettiva del sistema immunitario e quelle cellule che hanno acquisito la capacità di sopprimere o eludere la risposta immunitaria continuano a proliferare e a diffondersi. Dunque il ruolo l'immunoterapia nel trattamento del cancro è quello di potenziare o ripristinare la capacità del sistema immunitario di rilevare e distruggere le cellule tumorali superando i meccanismi con cui i tumori eludono e sopprimono la risposta immunitaria. I segni distintivi della risposta immunitaria adattiva sono la specificità e la memoria a lungo termine, che, quando presenti, possono portare a risposte terapeutiche durature. In questo studio in particolare, miriamo a fornire nuovi aggiornamenti su questi nuovi agenti terapeutici che promettono di plasmare il futuro scenario terapeutico dell'HCC.

Il ruolo del sistema immunitario nella carcinogenesi

Durante la carcinogenesi, la trasformazione delle cellule normali in cellule maligne è associata all'espressione di antigeni associati al tumore (TAA), che sono presentati sulla superficie cellulare da un gruppo di proteine noto come il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC)[87]. Questi antigeni sono anche presentati dalle cellule APC (cellule presentanti l'antigene).

Le APC migrano verso i linfonodi dove mostrano gli TAA ai recettori delle cellule T (TCR) situati sulla superficie delle cellule T immature. Tuttavia, il semplice legame dei TAA con i TCR è insufficiente per attivare le cellule T immature, ma è piuttosto necessaria una co-stimolazione. In particolare, gli APC e la co-stimolazione di cellule T immature richiedono il legame delle proteine B7 (CD80/B7-1 e CD86/B7-2) - che sono ospitate sulle cellule presentanti l'antigene - a CD28, che invece è presentato dalle cellule T- immature. Questo legame e la conseguente co-stimolazione portano all'attivazione di tali cellule T, che diventano cellule T CD8+ (la cosiddetta fase di innesco). Le cellule T attivate migrano successivamente dai linfonodi ai vasi linfatici e quindi al flusso sanguigno fino a raggiungere l'ambiente tumorale. Nel microambiente tumorale le cellule T CD8+

riconoscono i TAA presentati dall'MHC sulle cellule tumorali e le attaccano (la cosiddetta fase effettrice), eliminando infine le cellule tumorali [87–89].

I checkpoint immunitari più studiati sono la proteina linfocitica T citotossica 4 (CTLA-4) e la proteina 1 della morte cellulare programmata (PD-1). CTLA-4 è essenziale per l'attivazione delle cellule T CD4+ e per la fase scatenante della risposta immunitaria. I suoi ligandi principali sono CD80 e CD86 nelle cellule T attivate. Il legame di CTLA-4 con questi ligandi impedisce la loro interazione con CD28, determinando infine una diminuzione dell'attivazione delle cellule T mediante presentazione dell'antigene.

Il CTLA-4 è anche espresso dalle cellule T regolatorie (Tregs) – cellule T CD4+ caratterizzate dall'espressione delle molecole CD25, CTLA-4, CD62L e FoxP3 [90]. Una volta attivati, i Tregs inibiscono la risposta immunitaria attraverso IL-2 o producono fattori immunosoppressori come TGF- β , IL-10 o adenosina [91]. I Tregs hanno anche bisogno di CTLA-4 per essere in grado di esercitare la loro attività soppressiva. Oltre al suo ruolo nel modulare la fase di innesco attraverso un blocco delle interazioni CD28, CD80 e CD86, CTLA-4 promuove anche l'immunosoppressione all'interno del tumore inducendo l'attività e la differenziazione dei Tregs.

PD-L1 e PD-L2 sono i ligandi di PD-1. PD-L1 è espresso sulle cellule del sistema immunitario (cellule presentanti l'antigene e MDSC – cellule ad attività immunosoppressoria propria- *Myeloid-Derived Suppressor Cells*) mentre PDL-2 è generalmente espresso nel compartimento emopoietico. Diverse citochine, in particolare IFN-gamma, regolano PD-L1 [92]. Dopo il legame con i suoi ligandi, PD-1 inibisce l'attivazione delle cellule T CD8+ bloccando la segnalazione TCR e inibisce anche l'attivazione e la proliferazione di CD4 + aumentando la secrezione di IL-10. Le cellule tumorali esprimono PD-L1 e PD-L2, usando questo meccanismo per sfuggire all'immunosorveglianza. Infatti, IFN-gamma prodotto dai TAA linfociti T specifici in una situazione di esposizione cronica all'antigene, induce l'espressione di PD-1 nei linfociti T-reattivi e up regola PD-L1 negli APC e nelle cellule tumorali. L'innesto PD-1-PD-L1 blocca quindi la segnalazione TCR e inibisce la proliferazione e la secrezione dei mediatori delle cellule T citotossiche in un processo noto come esaurimento delle cellule T. Complessivamente, pertanto, le vie CTL4 e PD-1 / PD-L1 sembrano rilevanti per raggiungere (il tumore) o bloccare (la terapia) la fuga cancerogena.

Di conseguenza, la possibilità di indirizzare il percorso degli inibitori del checkpoint immunitario è stata una innovazione nel campo dei trattamenti sistemici per l'HCC negli

ultimi anni [93]. L'inibizione del checkpoint immunitario può essere raggiunta bloccando CTLA-4, PD-1 o il suo ligando PD-L1. Ipilimumab e Tremelimumab sono gli inibitori CTLA-4 testati più a lungo. Nivolumab, Pembrolizumab, Spartalizumab, Camrelizumab e Tislelizumab hanno mostrato una forte attività inibitoria di PD-1. I bloccanti PD-L1 sono stati sviluppati più recentemente, includendo attualmente Durvalumab, Avelumab e Atezolizumab.

Studi conclusi.

Tremelimumab, è stato il primo inibitore del checkpoint immunitario testato esplicitamente nei pazienti con HCC. In uno studio clinico multicentrico in aperto di Fase II erano stati reclutati 21 pazienti con HCC insorto a causa dell'infezione da HCV [94]. La maggior parte dei pazienti (57.1%) presentava una malattia in stadio avanzato ed era naïve al trattamento con Sorafenib (76.2%). I pazienti erano stati trattati fino alla progressione del tumore o a tossicità inaccettabile. La risposta obiettiva e il tasso di controllo della malattia erano state rispettivamente del 17.6 % e 76.4%. Il tempo mediano alla progressione (TTP) era di 6.48 mesi (IC 95%: 3.95-9.14). Non erano state registrate tossicità tali da richiedere il trattamento sistemico con steroidi. A questi incoraggianti risultati, ha fatto seguito uno studio di fase 1b/2 a più coorti, con Nivolumab in monoterapia o in associazione a Ipilimumab in pazienti con HCC in stadio avanzato (CheckMate-040, NCT01658878). I risultati delle cosiddette fasi di “dose escalation and expansion” hanno mostrato un tasso di risposta globale (ORR) senza precedenti per la terapia sistemica nell'HCC [95]. Durante le fasi di “dose escalation and expansion” – in cui sono stati arruolati 262 pazienti - nel 20 % dei pazienti erano stati segnalati eventi avversi di grado 3/4 farmaco-relati. L'ORR era del 20% (IC 95%: 15-26) in 214 pazienti trattati nella fase di espansione con una durata mediana della risposta di 9.9 mesi e un tasso di controllo della malattia del 64% (IC95%:58-71). Un'efficacia terapeutica simile è stata osservata in un altro studio di Fase 2 non randomizzato in aperto con Pembrolizumab in pazienti progrediti o intolleranti Sorafenib (Keynote-224) [96]. Questo studio multicentrico aveva arruolato 104 pazienti, trattati con Pembrolizumab alla dose di 200 mg somministrato per via endovenosa ogni tre settimane fino a progressione della malattia o a tossicità inaccettabile.

L'ORR era del 17% e il tasso di controllo della malattia era del 61%. Nel 24% dei pazienti erano stati segnalati eventi avversi di grado 3 correlati al trattamento con Pembrolizumab, e i più comuni erano stati aumento delle aminotransferasi e astenia. Inoltre erano stati registrati

solo un singolo evento di grado 4 (iper-bilirubinemia) e uno di grado 5 (esofagite ulcerosa). L'epatite immuno-relata, che si era verificata in tre pazienti ma era stata facilmente gestita. Più recentemente, i risultati del Nivolumab nella Coorte 5 (pazienti in classe Child-Pugh B) dello studio CheckMate-040, in 49 pazienti trattati (25 pazienti Sorafenib-naïve e 24 trattati con Sorafenib), hanno messo in evidenza come il tasso di risposta globale fosse del 10.2% con un tasso di controllo della malattia del 55.1%, una sopravvivenza globale mediana di 7,6 mesi e un profilo di sicurezza comparabile a quello dei pazienti Child-Pugh A [97].

Sulla base dei risultati degli studi CheckMate-040 e Keynote-224, la Food and Drug Administration (FDA) ha concesso l'approvazione accelerata del Nivolumab a settembre 2017 e una revisione prioritaria a luglio 2018, al Pembrolizumab per il trattamento sistemico di seconda linea dell'HCC. A luglio 2018, la FDA ha anche concesso l'indicazione di terapia innovativa per HCC alla combinazione Atezolizumab e Bevacizumab a seguito di uno studio multicentrico di Fase 1b in cui i pazienti erano stati randomizzati in 5 diversi bracci di trattamento [98]. Tra i 23 pazienti assegnati al braccio combinato, 14 (61%) avevano mostrato una risposta obiettiva al trattamento. Altre agenzie regolatorie, come l'European Medicine Agency (EMA), sono state finora più caute e aspetteranno ulteriori risultati prima di approvare questi farmaci per l'HCC, anche in una modalità non definitiva. Questa richiesta di cautela si è dimostrata giustificata di recente, poiché lo studio di Fase 3 Keynote-240 non ha confermato il risultato dei precedenti studi di Fase 2, non riuscendo a dimostrare il beneficio del Pembrolizumab rispetto al placebo in seconda linea [99]. L'analisi finale dello studio, ha mostrato un miglioramento dell'OS per i pazienti trattati con Pembrolizumab rispetto al placebo, tuttavia questi risultati non hanno soddisfatto la significatività statistica per il piano statistico prestabilito (HR=0.78 [IC al 95%, 0.611-0.998];p=0.0238). I risultati ottenuti in termini di PFS erano anche favorevoli nel braccio con Pembrolizumab rispetto al placebo ma non avevano raggiunto significatività statistica (HR = 0.78 [IC 95%, 0.61-0.99];p=0.0209) [99].

Eventi avversi immuno-correlati e sicurezza globale degli inibitori del checkpoint immunitario

L'immunoterapia antineoplastica può essere associata ad eventi avversi immuno-relati, sia specifici che non specifici. Qualsiasi tessuto e organo può essere coinvolto [100,101]. Negli studi clinici con Nivolumab, la cute, l'intestino, la tiroide, le ghiandole surrenali, i polmoni e il fegato erano stati il bersaglio più frequente di eventi avversi immuno-correlati [95].

Tuttavia, Nivolumab era stato nel complesso ben tollerato e associato a un tasso molto basso di eventi avversi di grado ≥ 3 , tra cui diarrea, reazione cutanea simile a pemfigo, insufficienza surrenalica ed epatite [95]. Ipilimumab da solo o in combinazione con Nivolumab, era stato invece associato a un tasso relativamente più elevato di elevazione delle aminotransferasi (45% e 25% aspartato aminotransferasi e alanina aminotransferasi, rispettivamente) [94,102]. Questi eventi avversi immuno-correlati sono stati facilmente gestiti con una sospensione temporanea del trattamento e con l'utilizzo di corticosteroidi nei casi più gravi. Un numero molto limitato di eventi fatali dovuti a polmonite immuno-correlata [103] e miocardite [104] sono stati finora descritti nel trattamento di altri tumori e un singolo caso di un evento fatale correlato al trattamento è stato riportato negli studi HCC sugli inibitori del checkpoint immunitario (esofagite ulcerativa) [96].

Nonostante questo rassicurante profilo di sicurezza, l'uso dell'immunoterapia antineoplastica nel fragile contesto di pazienti cirrotici è stato inizialmente accompagnato da una dose giustificabile di problemi di sicurezza. In particolare, il rischio di epatite immuno-mediata e i possibili effetti collaterali derivanti dall'uso di corticosteroidi nei pazienti cirrotici sono stati visti come elementi critici. Nello studio principale di Tremelimumab in HCC [94], quasi la metà dei pazienti aveva mostrato un aumento delle aminotransferasi dopo il trattamento. Queste alterazioni erano state transitorie, mai associate a compromissione della funzionalità epatica e non avevano richiesto il trattamento con corticosteroidi. Nello studio CheckMate-040, era stato riscontrato un aumento dei livelli di aminotransferasi nel 22-30% dei pazienti trattati con Nivolumab. Un tasso simile era stato anche descritto nello studio Keynote-224 con Pembrolizumab [96]. Questi dati sono stati confermati anche nell'analisi preliminare di altri studi Fasi 1-2 che studiavano diversi altri agenti, tra cui Durvalumab, Camrelizumab e Atezolizumab [105-108]. La necessità di corticosteroidi per il trattamento di eventi avversi immuno-relati era stata relativamente bassa (massimo 6%)[108]. Nel complesso, il profilo di sicurezza degli inibitori del checkpoint immunitario nei pazienti con HCC era coerente con quello riportato in precedenti studi per il melanoma e il carcinoma polmonare, suggerendo che questi pazienti non hanno un aumentato rischio di eventi avversi immuno-correlati epatici. Questi dati confortanti hanno trovato ulteriore conferma nei dati recentemente presentati di Nivolumab nei pazienti Child Pugh B. In questa coorte di pazienti particolarmente fragili, eventi avversi epatici correlati al

trattamento sono stati descritti in solo 4 su 49 pazienti, portando alla sospensione del trattamento solo in 2 pazienti [97].

In conclusione, gli inibitori del checkpoint immunitario sembrano essere generalmente ben tollerati anche nei pazienti con HCC e cirrosi del fegato sottostante. Ad oggi, tuttavia, è ancora necessaria cautela poiché questi farmaci sono stati testati solo nell'ultimo periodo, ma è noto che potenzialmente possono produrre anche tossicità ritardate. Una maggiore evidenza derivante dal follow-up a lungo termine dei pazienti in risposta potrà rispondere a questo punto specifico.

Studi attualmente in corso

Non sorprende che l'interesse per gli inibitori checkpoint immunitario sia in aumento in Oncologia in generale e l'HCC non fa eccezione. Attualmente, oltre 60 studi sono stati registrati in Clinicaltrials.gov. Il disegno di questi studi è vario, ad esempio, gli inibitori del checkpoint immunitario vengono studiati come singoli agenti o in combinazione con altri in adiuvante e neo-adiuvante. Nei prossimi paragrafi, riassumeremo questi studi attualmente in corso.

Studi Clinici attualmente in corso per l'HCC in stadio avanzato: monoterapia o combinazione di due inibitori del checkpoint immunitario

Ad oggi, almeno, cinque studi clinici randomizzati di Fase 3 (RCT) sono in corso, con questa impostazione (Tabella 1).

NCT	Fase	Farmaco	Linea	Endpoint Primario	Fine studio
NCT02576509	3	Nivolumab vs sorafenib	1	OS	Dec 2019
NCT03298451	3	Tremelimumab(+durvalumab) vs sorafenib	1	OS	Mar 2021
NCT03062358	3	Pembrolizumab vs placebo ^a	2	OS	Apr 2021
NCT02702401	3	Pembrolizumab vs placebo	2	OS,PFS	Feb 2019
NCT03412773	3	Tislelizumab vs sorafenib	1	OS	May 2022
NCT02519348	2	Tremelimumab (+durvalumab)	2	AEs,DLT	Dec 2019
NCT02658019	2	Pembrolizumab	>2	DCR, AEs	Apr 2020
NCT02702414	2	Pembrolizumab	1-2	ORR	May 2020
NCT03163992	2	Pembrolizumab	2	ORR	Dec 2019
NCT03389126	2	Avelumab	2+	ORR	Mar2020
NCT03419897	2	Tislelizumab	2+	ORR	Sep 2021
NCT01658878 ^b	1B/2	Nivolumab vs sorafenib	1	ORR	Jul 2019
NCT01658878 ^b	1B/2	Nivolumab + ipilimumab	2+	ORR	Jul 2019
NCT02423343	1B/2	Nivolumab + galunisertib	2	MTD,AEs	Dec 2019
NCT02828124	1/2	Nivolumab	Any	AE	Oct 2020
NCT02940496	1/2	Pembrolizumab	2	Biomarkers	Dec 2019

Tabella 1: Studi clinici attivi con inibitori del checkpoint immunitario nel trattamento dell'HCC in stadio avanzato.

NCT: Clinical Trial Number (Clinicaltrial.gov); OS: overall survival-sopravvivenza globale; PFS: progression free survival- sopravvivenza libera da progressione ; AEs: adverse events-eventi avversi ; DLT: dose limiting toxicities- tossicità limitante la dose somministrabile; DCR: disease control rate-tasso di controllo della malattia; MTD: maximum tolerated dose- dose massima tollerata

^a Studio solo in popolazione Asiatica ; ^b Studio con piu coorti

Nello scenario di seconda linea, lo studio Keynote-240, non ha raggiunto il suo endpoint primario, ovvero l'aumento dell'OS rispetto al placebo nella popolazione occidentale. Lo studio Keynote-394, ancora in corso, ha l'obbiettivo di confermare la superiorità di Pembrolizumab rispetto al placebo nelle popolazioni orientali. La competizione più dura è nello scenario di prima linea, in cui Nivolumab, Tislelizumab e la combinazione Tremelimumab / Durvalumab vengono testati rispetto Sorafenib nei rispettivi Trials Clinici Randomizzati di fase 3, di cui siamo in attesa dei risultati. Nel frattempo, i risultati preliminari degli studi su Camrelizumab e Durvalumab in monoterapia o in associazione con Tremelimumab sembrano confermare un tasso di risposta obiettiva del 15-20% con un buon

profilo di sicurezza [105-108]. Sebbene lo studio Randomizzato di fase III CheckMate 459 non abbia soddisfatto la soglia predefinita di significatività statistica ($p=0.0419$) per l'endpoint primario (OS), Nivolumab tuttavia ha dimostrato miglioramenti clinicamente significativi in termini di OS, ORR e CR nel trattamento di prima linea dell'HCC avanzato. I dati presentati al congresso ESMO 2019 (European Society for Medical Oncology) [109] hanno mostrato una OS mediana di 16.4 mesi per nivolumab e 14.7 mesi per Sorafenib (HR 0.85 [IC 95%, 0.72-1.02]; $p=0.0752$), un profilo di sicurezza coerente con i dati riportati in studi precedenti ed un miglioramento della qualità di vita. Altri dati preliminari interessanti potrebbero provenire da alcuni dei Trials Clinici Randomizzati di Fase 2 ancora in corso. In particolare, i risultati della Coorte 3 (Nivolumab vs Sorafenib) e della Coorte 4 (Nivolumab + Ipilimumab vs placebo) del già citato studio CheckMate-040 sono attesi alla fine del 2019.

Studi Clinici attualmente in corso per l'HCC in stadio avanzato: combinazione di inibitori del checkpoint immunitario con altri agenti.

La possibilità di combinare gli effetti terapeutici di farmaci con diversi meccanismi d'azione è da sempre una prospettiva affascinante. Il blocco simultaneo di più vie neoplastiche offrirebbe infatti, una probabilità maggiore di ottenere il controllo della malattia. Nel caso specifico dell'HCC, la combinazione di agenti anti-VEGFR e inibitori del checkpoint immunitario, potrebbe anche avere effetti sinergici [110,111], di conseguenza, la maggior parte degli studi clinici sulla terapia combinata valuta la combinazione di inibitori multichinasici orali associati all'immunoterapia (Sorafenib, Lenvatinib, Regorafenib, Cabozantinib, Vorolanib e Axitinib) o anticorpi monoclonali antiVEGFR somministrati per via endovenosa (Bevacizumab, Ramucirumab) (Tabella 2). Tuttavia un effetto antitumorale più potente non è necessariamente associato a una maggiore sopravvivenza nel contesto specifico dell'HCC, poiché questo tumore si presenta con una malattia epatica avanzata, il cui peggioramento potrebbe essere letale tanto quanto la progressione del tumore. Questo rischio è stato dimostrato dal fallimento di Sunitinib vs Sorafenib nel trial di Fase 3 [112].

NCT	Fase	Farmaco	Linea	Endpoint Primario	Fine studio
NCT03434379	3	Atezolizumab + bevacizumab vs sorafenib	1	OS, ORR	Jun 2022
NCT03439891	2	Nivolumab + sorafenib	1	MTD, ORR	Dec 2020
NCT03519997	2	Pembrolizumab + bavituximab	1	ORR	Apr 2021
NCT01658878 ^a	1/B2	Nivolumab (+ipilimumab) + cabozantinib	Any	ORR	Jul 2019
NCT02423343	1/B2	Nivolumab + galunisertib	2	MTD, AEs	Dec 2019
NCT03126110	1/B2	Nivolumab + ipilimumab + INCAGN01876	3	AE, ORR	Mar 2020
NCT02509507	1/B2	Pembrolizumab + T-VEC	Any	DLT,ORR	Mar 2023
NCT03211416	1/B2	Pembrolizumab + sorafenib	1	ORR	Oct 2019
NCT03418922	1B	Nivolumab + lenvatinib	1	AEs, DLT	Jun 2020
NCT03511222	1B	Pembrolizumab + vorolanib	2	RP2D	Feb 2022
NCT03289533	1B	Avelumab + axitinib	1	AEs	Aug 2020
NCT02705105	1A/2	Nivolumab + mogamulizumab	3	MTD, DLT	Oct 2018
NCT02859324	1A/2	Nivolumab + avadomide	1-3	DLT,AEs, ORR	Mar 2020
NCT03241173	1A/2	Nivolumab + ipilimumab + INCAGN01949	2 ^b	AEs, ORR	Nov 2021
NCT02178722	1A/2	Pembrolizumab + epacadostat	2-3	DLT, ORR	Feb 2020
NCT03277352	1A/2	Pembrolizumab + INCAGN01876	Any	AEs, ORR	Feb 2020
NCT03071094	1-2A	Nivolumab + pexavec	1	AEs, ORR	Oct 2019
NCT03475953	1-2	Avelumab + regorafenib	2+	RP2D, ORR	Apr 2021
NCT02795429	1-2	Spartalizumab (+capmatinib)	1	DLT, ORR	Dec 2019
NCT03382886	1	Nivolumab + bevacizumab	2-3	MTD	Mar 2023
NCT03006926	1	Pembrolizumab + lenvatinib	1/2	AEs,DLT, ORR	Dec 2020
NCT03347292	1	Pembrolizumab + regorafenib	1	AEs, DLT	Oct 2020
NCT03095781	1	Pembrolizumab + XL888	2	RP2D	Jun 2023
NCT02432963	1	Pembrolizumab + p53MVA	Any	AEs	Feb 2019

Tabella 2: Studi clinici attivi con inibitori del checkpoint immunitario nel trattamento dell'HCC in stadio avanzato in combinazione con altri agenti

NCT: number of clinical trial (Clinicaltrials.gov);

OS: overall survival-sopravvivenza globale;

ORR: overall response rate – tasso di risposta obiettiva;

MTD: maximum tolerated dose- dose massima tollerata;

AEs: adverse events- eventi avversi ;

DLT: dose limiting toxicities- tossicità limitante la dose somministrabile;

RP2D: recommended dose for Phase 2- dose raccomandata per la fase 2

^a Studio a più coorti

^b Solo dopo il fallimento di un precedente trattamento con checkpoint inhibitors (ICPI)

In prima linea, è attualmente in corso uno studio di fase 3 con Atezolizumab in associazione a Bevacizumab vs Sorafenib per confermare i risultati dello studio di fase 1b che ha portato FDA a garantire a questa combinazione l'indicazione di terapia innovativa. Dati interessanti provengono dallo studio di Fase 1b con Pembrolizumab in associazione Lenvatinib. Tra i 18 partecipanti allo studio, quasi la metà (46%) ha avuto una risposta parziale in assenza di problemi di sicurezza [113]. Altre interessanti informazioni potranno esserci fornite dai dati della Coorte 6 dello studio CheckMate-040, in cui la combinazione Nivolumab-Cabozantinib (con o senza Ipilimumab) viene studiata in una popolazione mista di pazienti sia Sorafenib-naïve che pretrattati. Le strategie di combinazione degli inibitori del checkpoint immunitario non si limitano ai farmaci anti-VEGFR. Diversi studi stanno anche valutando le combinazioni con inibitori orali di TGF β -fattore di crescita trasformante beta- (Galunisertib), inibitori orali c-MET- (Capmatinib), anticorpi anti-fosfatidilserina (Bavituxumab) e inibitori della proteina da shock termico 90 (XL-888). L'obiettivo principale di questi studi è quello di identificare altri modulatori del sistema immunitario che possano aiutare a superare la resistenza del tumore agli inibitori del checkpoint immunitario già noti. Ad esempio, INCAGN01876 è un modulatore del recettore del fattore di necrosi tumorale indotto da glucocorticoidi che viene testato in combinazione con Nivolumab, Ipilimumab e Pembrolizumab in due distinti studi di fase 1b / 2. Inoltre, sembrerebbe che l'inibitore del recettore C-Cchemokine 4 (CCR4) noto come Mogalizumab migliori la citotossicità mediata da cellule T dipendenti dagli anticorpi ed attualmente è in fase di test in combinazione con Nivolumab. Allo stesso modo, EPACADOSTAT e INCAGN01949 sono due farmaci che prendono di mira l'indoleamina 2,3-diossigenasi e la molecola costimolatoria delle cellule T CD134, che vengono testati in combinazione con gli attuali inibitori del checkpoint immunitario. Infine, viene anche valutata la combinazione di immunoterapici e vaccini anti tumorali (Pexavec;T-VEC;p53MVA). Se tali terapie combinate produrranno un tasso più elevato e/o un effetto antitumorale più duraturo e si tradurranno in una sopravvivenza prolungata per i pazienti con HCC, sarà necessario attendere diversi anni perché possa essere dimostrato.

Studi Clinici attualmente in corso di terapia adiuvante e neo-adiuvante

Prevenire o almeno ritardare la recidiva dopo aver ottenuto una risposta completa dell'HCC con resezione o terapia locoregionale è sempre stato un obiettivo di primaria importanza. In effetti i pazienti possono andare in contro a progressione di malattia o all'insorgenza di un tumore ex novo a causa della cirrosi epatica sottostante. Sfortunatamente, finora non sono stati identificati farmaci in grado di raggiungere questo obiettivo nell'HCC. In particolare, lo studio STORM non ha mostrato alcun vantaggio nei pazienti liberi da malattia trattati con Sorafenib rispetto al placebo in termini di sopravvivenza [114]. Inoltre, il basso tasso di risposta obiettiva del Sorafenib e di altri inibitori multichinasici, ha reso questi farmaci particolarmente inadatti nel contesto neo-adiuvante. Gli inibitori del checkpoint immunitario possono teoricamente avere la capacità di migliorare la risposta immunitaria contro le cellule tumorali residue dopo la resezione epatica. Inoltre, il loro tasso relativamente elevato di risposta obiettiva, in particolare se somministrato in associazione, potrebbe anche essere utile nel ridurre la massa tumorale all'interno dei criteri di reseccabilità chirurgica in alcuni pazienti con malattia intermedia o addirittura avanzata. La validità del primo punto è stata confermata dai risultati di uno studio di Fase 1 con Tremelimumab in combinazione con le procedure di ablazione locale. In questo studio, a 32 pazienti è stato somministrato Tremelimumab a due diversi livelli di dose, seguito da ablazione con radiofrequenza subtotale o chemioablazione al 36°giorno. Diciannove pazienti sono stati valutabili per la risposta e cinque di loro hanno raggiunto una risposta radiologica completa. Non sono state rilevate tossicità limitanti la dose. Ancora più interessanti sono stati i risultati ottenuti dai test eseguiti sulle biopsie tumorali effettuate 6 settimane dopo il trattamento con il Tremelimumab, che hanno rivelato un accumulo di cellule T CD8 + intratumorali. Gli autori hanno quindi concluso che il sistema immunitario riattivato potrebbe potenzialmente riconoscere e uccidere il tumore residuo di un'ablazione sub-totale [115]. Attualmente, Nivolumab è in fase di studio rispetto al placebo in adiuvante dopo trattamenti curativi (resezione o ablazione locale) nello studio di fase 3 CheckMate-9DX (Tabella 3). Anche il ruolo del Nivolumab da solo o in combinazione con Ipilimumab o Cabozantinib è in studio come trattamento pre-chirurgico. Allo stesso modo, è in corso anche una sperimentazione di Pembrolizumab in neo-adiuvante.

NCT	Fase	Farmaco	Linea	Endpoint Primario	Fine studio
NCT03383458	3	Nivolumab vs placebo	ADJ	RFS	Jun 2025
NCT03222076	2	Nivolumab vs nivolumab + ipilimumab	NADJ	AEs	Sep 2023
NCT03510871	2	Nivolumab + ipilimumab	NADJ	ORR ^a	Dec 2012
NCT03337841	2	Pembrolizumab	NADJ	1Y-RFS	Oct 2020
NCT03299946	1	Nivolumab + cabozantinib	NADJ	AE, FEASABILITY	Mar 2022

Tabella 3 : Studi Clinici di terapia adiuvante e neoadiuvante

NCT: number of clinical trial (Clinicaltrials.gov);

ADJ: adjuvant- adiuvante;

RFS: recurrence free survival- sopravvivenza libera da recidiva;

NADJ: neoadjuvant- neoadiuvante;

AEs: adverse events- eventi avversi ;

1Y-RFS: 1-year recurrence free survival- un anno di sopravvivenza libera da recidiva

^a Espresso come tasso di pazienti che raggiungono un riduzione della lesione target > 10%.

Studi Clinici attualmente in corso, di combinazione degli inibitori del checkpoint immunitario con i trattamenti locoregionali

In rare circostanze, il trattamento localizzato di un tumore metastatico può portare contemporaneamente a un riduzione sia della lesione target sia di altre lesioni non trattate localizzate altrove. Descritto per la prima volta dopo il trattamento radioterapico locale, questo fenomeno è stato da allora chiamato "effetto abscopal". È stato ipotizzato che la liberazione di antigeni associati al tumore dopo la distruzione locale porti all'innescare delle cellule immunitarie. Teoricamente, gli inibitori del checkpoint immunitario possono migliorare questo fenomeno. Come accennato in precedenza, lo studio CheckMate-9DX valuterà il beneficio di Nivolumab non solo dopo la resezione epatica ma anche dopo l'ablazione locale. Gli studi di fase 2 stanno anche valutando Tremelimumab in un simile setting (Tabella 4). Analogamente ai trattamenti di ablazione locale, anche i trattamenti trans-arteriosi possono favorire la liberazione di antigeni associati al tumore. Sono in corso trattamenti combinati di chemioembolizzazione transarteriosa e Nivolumab o Pembrolizumab. La radioembolizzazione transarteriosa favorisce il danno tumorale indotto da radiazioni che è parzialmente simile a quello indotto dalla radioterapia corporea stereotassica. Si prevede inoltre che entrambe le tecniche siano associate a vari inibitori del checkpoint immunitario in diversi studi.

NCT	Fase	Farmaco	Linea	Endpoint Primario	Fine studio
NCT02837029	1	Nivolumab + SIRT	Any	MTD	Jul 2020
NCT03033446	2	Nivolumab + SIRT	Any	ORR	Dec 2019
NCT03380130	2	Nivolumab + SIRT	1	AEs	Oct 2019
NCT03099564	1	Pembrolizumab + SIRT	1	PFS	Jan 2020
NCT03572582	2	Nivolumab + TACE	1	ORR	Sep 2022
NCT03397654	1B	Pembrolizumab + TACE	1	AEs	Dec2019
NCT03143270	1	Nivolumab + debTACE	1	AEs	Apr 2019
NCT03638141	2	Tremelimumab(+durvalumab) + debTACE	1	ORR	Sep 2020
NCT03203304	1	Nivolumab/ipilimumab + SBRT	1	AEs	Aug 2020
NCT03482102	2	Trememumab(+durvalumab) + SBRT	2	ORR	Oct 2025
NCT03316872	2	Pembrolizumab + SBRT	2	ORR	Apr 2022
NCT01853618	1	Tremelimumab + local ablation	1	AEs	Dec 2019
NCT02821754	2	Tremelimumab + local ablation	1	PFS	Apr 2021
NCT03630640	2	Nivolumab + electroporation	1	RFS	Sep 2020

Tabella 4: Studi clinici in corso di combinazione degli inibitori del checkpoint immunitario, con trattamenti locoregionali

NCT: number of clinical trial (Clinicaltrials.gov);

SIRT: selective intra arterial radiation treatment;

PFS: progression free survival- sopravvivenza libera da progressione;

TACE: transarterial chemoembolization- chemoembolizzazione transarteriosa;

debTACE: drug eluting beads transarterial chemoembolization- chemoembolizzazione transarteriosa con microsfere a rilascio di doxorubicina;

SBRT: stereotactic body radiation therapy- radioterapia stereotassica corporea;

RFS: recurrence free survival- sopravvivenza libera da recidiva.

Conclusioni

In conclusione, l'immunoterapia per l'HCC sembra essere un campo di indagine molto intenso, suscitando la speranza che nuove opportunità terapeutiche molto efficaci diventeranno presto disponibili, portando a nuove strategie nella gestione dei pazienti con HCC. Al momento è difficile fare previsioni sullo scenario preciso dell'immunoterapia per l'HCC. Gli studi in corso sono numerosi e il loro campo di applicazione spazia dall'impostazione neo-adiuvante al trattamento sistemico di seconda linea, passando per le impostazioni adiuvanti e di prima linea. Lo scenario attuale è quindi molto diverso da quelli

storicamente presenti in Oncologia, dove un nuovo farmaco viene inizialmente testato in seconda linea, quindi in prima linea se ha successo, e solo più tardi in adiuvante e neo-adiuvante. È quindi difficile, se non impossibile, fare oggi previsioni su possibili algoritmi terapeutici riguardanti trattamenti sequenziali o simultanei con inibitori multichinasici e inibitori del checkpoint immunitario. Oltre ai risultati degli studi in corso, probabilmente altri fattori saranno coinvolti in questi algoritmi. In primo luogo, gli inibitori del checkpoint immunitario sono farmaci ad alto costo e diversi sistemi sanitari potrebbero implementare algoritmi diversi tenendo conto di alcuni fattori economici. In secondo luogo, la sicurezza di questi farmaci è attualmente considerata accettabile per i pazienti con un HCC in fase avanzata o refrattario ai trattamenti loco regionali. Questi pazienti hanno infatti prospettive terapeutiche limitate e una prognosi sfavorevole in assenza di qualsiasi terapia. L'impostazione adiuvante, in cui i pazienti ricevono gli stessi farmaci ma con malattia residua assente o minima, richiede una maggiore cautela e una valutazione più attenta del rischio di effetti avversi fatali. In questa misura, i risultati dei numerosi studi in corso aiuteranno a comprendere meglio il profilo di tossicità a lungo termine e quindi a valutare se il rapporto rischio/beneficio è accettabile anche in ambito adiuvante/neo-adiuvante. Infine, ma non meno importante, la ricerca di biomarcatori predittivi della risposta è fondamentale per identificare quali pazienti risponderanno meglio agli inibitori del checkpoint immunitario e per quali pazienti il trattamento sarebbe invece inutile. Al momento, l'unica previsione a medio termine sicura è che l'immunoterapia rimarrà uno degli argomenti più importanti sul trattamento dell'HCC in molte delle sue fasi.

Bibliografia

1. Akinyemiju T, Abera S, Ahmed M, Alam N, Alemayohu MA, Allen C, et al. The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level. *JAMA Oncol* 2017;3:1683–1691.
2. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012;142:1264–1273, e1.
3. White DL, Thrift AP, Kanwal F, Davila J, El-Serag HB. Incidence of hepatocellular carcinoma in all 50 United States, from 2000 through 2012. *Gastroenterology* 2017;152:812–820, e5.
4. Tanaka H, Imai Y, Hiramatsu N, Ito Y, Imanaka K, Oshita M, et al. Declining incidence of hepatocellular carcinoma in Osaka, Japan, from 1990 to 2003. *Ann Intern Med* 2008;148:820–826.
5. Qiu D, Katanoda K, Marugame T, Sobue T. A Joinpoint regression analysis of long-term trends in cancer mortality in Japan (1958–2004). *Int J Cancer* 2009;124:443–448.
6. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018 Nov;68(6):394-424.
7. Bosetti C, Levi F, Boffetta P, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe, 1980–2004. *Hepatology* 2008;48:137–145.
8. Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012;379:1245-1255.
9. Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, Ronchi G, Romeo R, Manini M, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology* 2006;43:1303–1310.
10. Younossi ZM, Blissett D, Blissett R, et al. The economic and clinical burden of nonalcoholic fatty liver disease in the United States and Europe. *Hepatology*. 2016; 64(5).
11. Dyson J, Jaques B, Chattopadhyay D, et al. Hepatocellular cancer: The impact of obesity, type 2 diabetes and a multidisciplinary team. *J Hepatol*. 2014; 60(1):110-117.
12. Schlesinger S, Aleksandrova K, Pischon T, et al. Diabetes mellitus, insulin treatment, diabetes duration, and risk of biliary tract cancer and hepatocellular carcinoma in a European Cohort. *Ann Oncol*. 2013;24(9):2449-2455.

13. Marrero JA, Fontana RJ, Fu S, et al. Alcohol, tobacco and obesity are synergistic risk factors for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2005;42(2):218-224.
14. Ioannou GN, Bryson CL, Weiss NS, et al. The prevalence of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients with human immunodeficiency virus infection. *Hepatology*. 2013;57(1):249-257.
15. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20-year follow-up study. *J Natl Cancer Inst*. 2009 Oct 7;101(19):1348-55
16. Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:417-422
17. Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, et al. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001;48:251-259.
18. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011;53:1020-1022
19. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-943.
20. Daniele B, Bencivenga A, Megna AS, et al: Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 127:S108-12, 2004 .
21. Roskams T, Kojiro M: Pathology of early hepatocellular carcinoma: conventional and molecular diagnosis. *Semin Liver Dis* 30:17-25, 2010.
22. Bolondi L, Gaiani S, Celli N, et al: Characterization of small nodules in cirrhosis by assessment of vascularity: the problem of hypovascular hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 42:27-34, 2005
23. Choi JW, Lee JM, Kim SJ, et al. Hepatocellular carcinoma: Imaging Patterns on Gadoteric Acid-enhanced MR Images and Their Value as an Imaging Biomarker. *Radiology* 267:776-86, 2013
24. Pomfret EA, et al. 2010. Report of a national conference on liver allocation in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Liver Transpl* 16:262-278)
25. Guy J, Kelley RK, Roberts J, et al: Multidisciplinary Management of Hepatocellular Carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 10:354-62, 2012

26. Digdem Ozer Etik et al/ Management of Hepatocellular Carcinoma: Prevention, Surveillance, Diagnosis, and Staging : Experimental and Clinical Transplantation (2017) Suppl 2: 31-35
27. Galle PR, Forner A, Llovet JM, et al. Clinical Practice Guidelines OF HEPATOLOGY EASL Clinical Practice Guidelines : Management of epatoellular carcinoma. Clinical Practice Guidelines. *J Hepatol.* 2018.
28. Roayaie S, Obeidat K, Sposito C, et al. Resection of hepatocellular cancer ≤ 2 cm: Results from two Western centers. *Hepatology.* 2013;57:1426–1435.
29. Cho YK, Kim JK, Kim WT, et al. Hepatic resection vs. radiofrequency ablation for very early stage hepatocellular carcinoma: a Markov model analysis. *Hepatology.* 2010;51:1284–1290.
30. Livraghi T, Meloni F, Di Stasi M, et al. Sustained complete response and complications rate after radiofrequency ablation of very early hepatocellular carcinoma in cirrhosis. Is resection still the treatment of choice? *Hepatology.* 2008;47:82–89.
31. Choi D, Lim HK, Rhim H, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for early-stage hepatocellular carcinoma as a first-line treatment: long-term results and prognostic factors in a large single-institution series. *Eur Radiol.* 2007;17:684–692.
32. Sala M, Llovet JM, Vilana R, et al. Initial response to percutaneous ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2004;40:1352–1360.
33. Llovet JM, Real MI, Montana X, et al. Arterial embolisation or chemoembolisation vs. symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2002;359:1734-1739.
34. Lo CM, Ngan H, Tso WK, et al. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2002;35:1164–1171.
35. Cabibbo G, Enea M, Attanasio M, et al. A meta- analysis of survival rates of untreated patients in randomized clinical trials of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2010;51:1274–1283.
36. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008;359:378-390.
37. Mazzaferro V, Battiston C, Sposito C, et al. Pro (With Caution): Extended oncologic indications in liver transplantation. *Liver Transpl.* 2018;24:98–103.

38. Kim WR, Lake JR, Smith JM, et al. OPTN/SRTR 2015 annual data report: liver. *Am J Transpl.* 2017;17:174–251.
39. Mazzaferro V et al Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med.* 1996;334:693–699.
40. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, et al. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol.* 2012;13:e11–22.
41. Andreou A, Bahra M, Schmelzle M, et al. Predictive factors for extrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Clin Transpl.* 2016;30:819–827.
42. Lencioni R, Crocetti L. Local-regional treatment of hepatocellular carcinoma. *Radiology.* 2012;262:43–58.
43. Pompili M, De Matthaeis N, Saviano A, et al. Single hepatocellular carcinoma smaller than 2 cm: are ethanol injection and radiofrequency ablation equally effective? *Anticancer Res.* 2015;35:325–332.
44. Choi D, Lim HK, Rhim H, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for early-stage hepatocellular carcinoma as a first-line treatment: long-term results and prognostic factors in a large single-institution series. *Eur Radiol.* 2007;17:684–692.
45. Lee DH, Lee JM, Lee JY, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as first-line treatment: long-term results and prognostic factors in 162 patients with cirrhosis. *Radiology.* 2014;270:900-909.
46. Park J-W, Chen M, Colombo M, et al. Global patterns of hepatocellular carcinoma management from diagnosis to death: the BRIDGE Study. *Liver Int.* 2015;35:2155-2166
47. Lencioni R et al. Lipiodol transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. A systematic review of efficacy and safety data. *Hepatology.* 2016;64:106-116.
48. Sangro B, Salem R. Transarterial chemoembolization and radioembolization. *Semin Liver Dis.* 2014;34:435-443.
49. Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-term outcomes. *Gastroenterology.* 2010;138:52-64.
50. Kudo M, Finn RS, Qin S, et al. Lenvatinib vs. sorafenib in first-line treatment

of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2018.

51. Finn RS, Merle P, Granito A et al. Outcomes of sequential treatment with sorafenib followed by regorafenib for HCC: Additional analyses from the phase III RESORCE trial. *J Hepatol*. 2018 Aug;69(2):353-358.
52. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, et al: Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 10:25-34, 2009
53. Wilhelm SM, Dumas J, Adnane L, et al. Regorafenib (BAY 73–4506): a new oral multikinase inhibitor of angiogenic, stromal and oncogenic receptor tyrosine kinases with potent preclinical antitumor activity. *Int J Cancer*.
54. Bruix J, Qin S, Merle P, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Jan*. 2017;7:56–66.
55. Abou-Alfa GK, Meyer T, Cheng AL, El-Khoueiry AB, Rimassa L, Ryoo BY, Cicin I, Merle P, Chen Y, Park JW, Blanc JF, Bolondi L, Klumpen HJ, Chan SL, Zagonel V, Pressiani T, Ryu MH, Venook AP, Hessel C, Borgman-Hagey AE, Schwab G, Kelley RK. Cabozantinib in Patients with Advanced and Progressing Hepatocellular Carcinoma *N Engl J Med*. 2018 Jul 5;379(1):54-63
56. Kumar M, Panda D. Role of supportive care for terminal stage hepatocellular carcinoma. *J Clin Exp Hepatol*. 2014;4:S130–S139.
57. Rakoski MO, Volk ML. Palliative care for patients with end-stage liver disease: An overview. *Clin Liver Dis*. 2015;6:19-21.
58. Bosilkovska M, Walder B, Besson M, et al. Analgesics in patients with hepatic impairment: pharmacology and clinical implications. *Drugs* 2012. 2012;72:1645-1669.
59. Hayashi S, Tanaka H, Hoshi H. Palliative external-beam radiotherapy for bone metastases from hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. 2014;6:923.
60. Díaz-González Á, Sanduzzi-Zamparelli M, Sapena V, Torres F, LLarch N, Iserte G, Forner A, da Fonseca L, Ríos J, Bruix J, Reig M. Systematic review with meta-analysis: the critical role of dermatological events in patients with hepatocellular carcinoma treated with sorafenib. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019 Mar;49(5):482-491.
61. Sacco et al. Clinical outcomes with long-term sorafenib treatment of patients with hepatocellular carcinoma: a multicenter real-life study. *Future Oncol*. 2018 Dec;14(29):3049-3058

62. Gholam P. The role of Sorafenib in Hepatoceellular Carcinoma. *Gastroenterol Hepatol (NY)*. 2015 Apr;11(4):253-5.
63. Reiss KA et al. Starting Dose of Sorafenib for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: A Retrospective, Multi-Institutional Study. *J Clin Oncol*. 2017 Nov 1;35(31):3575-3581.
64. Iavarone M. et al. Field-Practice Study of Sorafenib Therapy for Hepatocellular Carcinoma: A Prospective Multicenter Study in Italy. *Hepatology*. 2011 Dec;54(6):2055-63
65. Tovoli F. et al Management of adverse events with tailored sorafenib dosing prolongs survival of hepatocellular. *J Hepatol*. 2019 Aug 23.S0168-8278(19)30482-9
66. Under the auspices of the Italian Association for the Study of Liver Diseases (AISF) and the Italian Society of Internal Medicine (SIMI). Hemostatic balance in patients with liver cirrhosis: Report of a consensus conference. *Dig Liver Dis*. 2016;48:455-467
67. Tsochatzis EA, Senzolo M, Germani G et al. Systematic review: Portal vein thrombosis in cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:366–74.
68. Violi F, Corazza RG, Caldwell SH, et al. Portal vein thrombosis relevance on liver cirrhosis: Italian Venous Thrombotic Events Registry. *Intern Emerg Med* 2016; 11: 1059–1066.
69. Leona von Kockritz, Andrea De Gottardi, Jonel Trebicka ,Michael Praktijnjo. Portal vein thrombosis in patients with cirrhosis *Gastroenterology Report*, 5(2), 2017, 148–156
70. Mahé I, Chidiac J, Bertoletti L, Font C, Trujillo-Santos J, Peris M, Pérez Ductor C, Nieto S, Grandone E, Monreal M; RIETE investigators. The Clinical Course of Venous Thromboembolism May Differ to Cancer site. *Am J Med*. 2017 Mar; 130 (3):337-347
71. Martin H Prins et al, Oral rivaroxaban versus enoxaparin with vitamin K antagonist for the treatment of symptomatic venous thromboembolism in patients with cancer (EINSTEIN-DVT and EINSTEIN-PE): a pooled subgroup analysis of two randomised controlled trials *Lancet Haematol*. 2014 Oct;1(1):e37-46.
72. Nery F, Chevret S, Condat B, et al. Causes and consequences of portal vein thrombosis in 1,243 patients with cirrhosis: results of a longitudinal study. *Hepatology*. 2015;61:660-7
73. Villa E, Cammà C, Marietta M, et al. Enoxaparin prevents portal vein thrombosis and liver decompensation in patients with advanced cirrhosis. *Gastroenterology*. 2012;143:1253-1260

74. Pettinari I, Vukotic R, Stefanescu H, Pecorelli A, Morelli M, Grigoras C, Sparchez Z, Andreone P, Piscaglia F; BO-LIVES (BOlogna LIVErvascular Studies). Clinical Impact and Safety of Anticoagulants for Portal Vein Thrombosis in Chirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2019 Feb;114(2):258-266
75. Piscaglia F, Gianstefani A, Ravaioli M, et al. Criteria for diagnosing benign portal vein thrombosis in the assessment of patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma for liver transplantation. *Liver Transpl.* 2010;16:658–667.
76. Lai CH, Cheng PY, Chen YY. Liver cirrhosis and risk of intracerebral hemorrhage: a 9-year follow-up study. *Stroke* 2011;42:2615–2617.
77. Mancuso A, Politi F, Maringhini A. Portal Vein Thromboses in Cirrhosis: To Treat or Not to Treat? *Gastroenterology.* 2018;154:758
78. Piscaglia F, Sansone V. Reply to Anticoagulation for Portal Vein Thrombosis in Cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* 2019 Jun;114(6):1001-1002.
79. Chak EW. Anticoagulation of Portal Vein Thrombosis in Cirrhosis: First, Do No Harm. *Am J Gastroenterol.* 2019 Aug 2. [Epub ahead of print]
80. Loffredo L, Pastori D, Farcomeni A, Violi F. Effects of Anticoagulants in Patients With Cirrhosis and Portal Vein Thrombosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology.* 2017;153:480-487
81. Turon F, Hernández-Gea V, García-Pagán JC. Portal vein thrombosis: yes or no on anticoagulation therapy. *Curr Opin Organ Transplant.* 2018;23:250-256
82. Piscaglia F, Benevento F, Pecorelli A, et al. Anticoagulation in Chirrotic Portal Vein Thrombosis: No harm, but survival benefit still unclear, *Am J Gastroenterol* 2019 in press.
83. Finn OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol* 2012;23(Suppl 8).
84. Krynitz B, Edgren G, Lindelof B, et al. Risk of skin cancer and other malignancies in kidney, liver, heart and lung transplant recipients 1970 to 2008 — a Swedish population-based study. *Int J Cancer* 2013;132:1429-38.
85. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* 2006;313:1960-4.
86. Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD, et al. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol* 2006;6:836-48.
87. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle *Immunity* 2013;39(1):1–10.

88. Sangro B, Palmer D, Melero I. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Hepat Oncol* 2014;1(4):433–46.
89. Inarrairaegui M, Melero I, Sangro B. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma: facts and hopes. *Clin Cancer Res* 2018;24(7):1518–24.
90. Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, et al. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T-cell function. *Science* 2008;322(5899):271–5.
91. Han Y, Chen Z, Yang Y, Jiang Z, Gu Y, Liu Y, et al. Human CD14+ CTLA-4+ regulatory dendritic cells suppress T-cell response by cytotoxic T-lymphocyte antigen-4-dependent IL-10 and indoleamine-2,3-dioxygenase production in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2014;59(2):567–79.
92. Philips GK, Atkins M. Therapeutic uses of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies. *Int Immunol* 2015;27(1):39–46.
93. Kudo M. Immune checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma: 2017 update. *Liver Cancer* 2017;6(1):1–12.
94. Sangro B, Gomez-Martin C, de la Mata M, Inarrairaegui M, Garralda E, Barrera P, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2013;59(1):81–8.
95. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet* 2017;389(10088):2492–502.
96. Zhu AX, Finn RS, Cattani S, Edeline J, Ogasawara S, Palmer DH, et al. KEYNOTE-224: pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib. *J Clin Oncol* 2018;4(Suppl 209):209.
97. Kudo M, Matilla A, Santoro A, Melero I, Cubillo Gracian A, Acosta-Rivera M, et al. Checkmate-040: nivolumab (NIVO) in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (aHCC) and Child-Pugh B (CPB) status. *J Clin Oncol* 2019;37(Suppl 327):327.
98. Stein S, Pishvaian MJ, Sangmin Lee M, Lee KH, Hernandez S, Kwan A. Safety and clinical activity of 1L atezolizumab + bevacizumab in a phase Ib study in hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol* 2018;15(Suppl 4074):4074.
99. <https://investors.merck.com/news/press-release-details/2019/Merck-Provides-Update-on-KEYNOTE-240-a-Phase-3-Study-of-KEYTRUDA-pembrolizumab-in-Previously-Treated-Patients-with-Advanced-Hepatocellular-Carcinoma/default.aspx>.

100. Cappelli LC, Gutierrez AK, Baer AN, Albayda J, Manno RL, Haque U, et al. Inflammatory arthritis and sicca syndrome induced by nivolumab and ipilimumab. *Ann Rheum Dis* 2017;76(1):43–50.
101. Richter MD, Crowson C, Kottschade LA, Finnes HD, Markovic SN, Thanarajasingam U. Rheumatic syndromes associated with immune checkpoint inhibitors: a single-center cohort of sixtyone patients. *Arthritis Rheumatol* 2019;71(3):468–75.
102. Nishida N, Kudo M. Immune checkpoint blockade for the treatment of human hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2018;48(8):622–34.
103. Shohdy KS, Abdel-Rahman O. Risk of pneumonitis with different immune checkpoint inhibitors in NSCLC. *Ann Transl Med* 2017;5(17):365.
104. Johnson DB, Balko JM, Compton ML, Chalkias S, Gorham J, Xu Y, et al. Fulminant myocarditis with combination immune checkpoint blockade. *N Engl J Med* 2016;375(18):1749–55.
105. Qin SK, Ren ZG, Meng ZQ, Chen ZD, Chai XL, Xiong JP, et al. A randomized multicentered phase II study to evaluate SHR-1210 (PD-1 antibody) in subjects with advanced hepatocellular carcinoma (HCC) who failed or intolerable to prior systemic treatment. *Ann Oncol* 2018;29 (Suppl 8), mdy424.029.
106. Wainberg ZA, Segal NH, Jaeger D, Lee KH, Marshall J, Antonia SJ, et al. Safety and clinical activity of durvalumab monotherapy in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol* 2017;35(Suppl 15):4071.
107. Kelley RK, Abou-Alfa GK, Bendell JC, Kim TY, Borad MJ, Yong WP, et al. Phase I/II study of durvalumab and tremelimumab in patients with unresectable hepatocellular carcinoma (HCC): Phase I safety and efficacy analyses. *J Clin Oncol* 2017;35(Suppl 15):4073.
108. Pishvaian MJ, Lee MS, Ryoo B, Stein S, Lee K, Verret W, et al. Updated safety and clinical activity results from a phase Ib study of atezolizumab + bevacizumab in hepatocellular carcinoma (HCC). *Ann Oncol* 2018;29(Suppl 8), mdy424.029.
109. T. Yau et al . CheckMate 459: A Randomized, Multi-Center Phase 3 Study of Nivolumab (NIVO) vs Sorafenib (SOR) as First-Line (1L) Treatment in Patients (pts) With Advanced Hepatocellular Carcinoma (aHCC);ESMO 2019 Press Release.
110. Kudo M. Combination cancer immunotherapy in hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer* 2018;7(1):20–7.
111. Kudo M. Combination cancer immunotherapy with molecular targeted agents/anti-CTLA-4 antibody for hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer* 2019;8(1):1–11.

112. Cheng AL, Kang YK, Lin DY, Park JW, Kudo M, Qin S, et al. Sunitinib versus Sorafenib in advanced hepatocellular cancer: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2013;31(32):4067–75.
113. Ikeda M, Sung MW, Kudo M, Kobayashi M, Baron AD, Finn RS, et al. A phase 1b trial of lenvatinib (LEN) plus pembrolizumab (PEM) in patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (uHCC). *J Clin Oncol* 2018;36(Suppl15):4076.
114. Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, Chau GY, Yang J, Kudo M, et al. Adjuvant Sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2015;16(13):1344–54.
115. Duffy AG, Ulahannan SV, Makorova-Rusher O, Rahma O, Wedemeyer H, Pratt D, et al. Tremelimumab in combination with ablation in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2017;66(3):545–51.