

*Alma Mater Studiorum – Università di Bologna*

DOTTORATO DI RICERCA IN

SCIENZE MEDICHE GENERALI E SCIENZE DEI SERVIZI: PROGETTO N 4  
“ULTRASONOLOGIA IN MEDICINA UMANA E VETERINARIA”

CICLO 25°

Settore Concorsuale di afferenza: 06/B1

Settore Scientifico disciplinare: MED/09

**Indicazione e risultati dei trattamenti locoregionali  
nell'epatocarcinoma**

Presentata da Eleonora Terzi

Coordinatore Dottorato

Relatore

Chiar.mo Prof. Nicola Rizzo

Dr. Fabio Piscaglia

Esame finale anno 2013

# INDICE

<b>ELENCO DEGLI STUDI.....</b>	<b>3</b>
<b>RIASSUNTO.....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>6</b>
<b>1. INTRODUZIONE: L'EPATOCARCINOMA.....</b>	<b>7</b>
1.1 Epidemiologia .....	7
1.2 Fattori di rischio .....	8
1.3 Screening e sorveglianza .....	8
1.4 Diagnosi di epatocarcinoma .....	10
1.5 Staging dell'epatocarcinoma .....	12
1.6 Opzioni terapeutiche .....	16
<b>2. SCOPO DELLA TESI.....</b>	<b>32</b>
<b>3. PAZIENTI E METODI.....</b>	<b>33</b>
3.1 Pazienti .....	33
3.2 Diagnosi di epatocarcinoma .....	35
3.3 Trattamento di chemioembolizzazione .....	36
3.4 Trapianto di fegato .....	41
3.5 Metodi statistici .....	42
<b>4. RISULTATI E RIASSUNTO DEGLI STUDI .....</b>	<b>43</b>
4.1 Studio 1 .....	43
4.2 Studio 2 .....	45
4.3 Studio 3 .....	47
<b>5. DISCUSSIONE GENERALE .....</b>	<b>50</b>
<b>6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE .....</b>	<b>59</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>61</b>
<b>7. STUDI 1-3 .....</b>	<b>72</b>

## **ELENCO DEGLI STUDI**

**Studio 1.** Terzi E, Piscaglia F et al. TACE performed in patients with single nodule of hepatocellular carcinoma. Pre-final draft.

**Studio 2.** Terzi E, Golfieri R, Piscaglia F, Galassi M, Dazzi A, Leoni S, Giampalma E, Renzulli M, Bolondi L. Response rate and clinical outcome of HCC after first and repeated cTACE performed “on demand”. *J Hep* 2012;57(6):1258-67.

**Studio 3.** Terzi E, Kim WR, Sanchez W, Charlton MR, Schmeltzer P, Gores GJ, Heimbach JK. The impact of multiple TACE treatments on HCC for patients awaiting liver transplantation. Pre-final draft.

## RIASSUNTO

La chemioembolizzazione (TACE) è uno dei trattamenti locoregionali più largamente utilizzati nel trattamento dell'epatocarcinoma (HCC). A tutt'oggi però rimangono irrisolte alcune importanti controversie sul suo impiego. Nella presente tesi sono stati analizzati alcuni dei principali oggetti di dibattito quali (1) indicazione al trattamento, (2) trattamenti multipli e schema di ritrattamento e (3) trattamento dei pazienti candidabili a trapianto di fegato.

A tal fine sono stati riportati tre studi che hanno analizzato gli argomenti sopradescritti.

La TACE viene comunemente eseguita nei pazienti al di fuori delle raccomandazioni delle linee guida tra cui i pazienti con nodulo singolo, i pazienti con trombosi portale e con performance status (PS) compromesso. Dallo studio 1 è emerso che la TACE può essere considerata una valida opzione terapeutica nei pazienti con HCC singolo non candidabili a trattamenti curativi, che la trombosi portale non neoplastica ed una lieve compromissione del performance status (PS-1) verosimilmente legata alla cirrosi non hanno impatto sulla sopravvivenza post-trattamento.

Multipli trattamenti di chemioembolizzazione vengono frequentemente eseguiti ma non esiste a tutt'oggi un numero ottimale di ritrattamenti TACE. Dallo studio 2 è emerso che il trattamento TACE eseguito "on demand" può essere efficacemente ripetuto nei pazienti che non abbiano scompenso funzionale e non siano candidabili a trattamenti curativi anche se solo una piccola percentuale di pazienti selezionati può essere sottoposto a più cicli di trattamento.

La TACE è frequentemente impiegata nei pazienti in lista per trapianto di fegato ma non c'è evidenza dell'efficacia di trattamenti ripetuti in questi pazienti. Dallo studio 3 è emerso che il numero di TACE non è significativamente associato né alla necrosi tumorale, né alla recidiva né alla sopravvivenza post-trapianto. Un tempo d'attesa prima del trapianto  $\leq 6$  mesi è invece risultato essere

fattore predittivo indipendente di recidiva riflettendo la possibile maggiore aggressività tumorale in questa classe di pazienti.

## **ABSTRACT**

Transarterial chemoembolization (TACE) is largely used in the treatment of patients with HCC. Many unanswered questions relating to TACE are however still challenging. In the present thesis some controversies surrounding TACE were evaluated including (1) patient selection, (2) multiple TACE and schedules for repeat sessions and (3) TACE as neo-adjuvant treatment in patients awaiting liver transplantation.

For the aim of the thesis three studies were reported.

TACE is frequently performed outside the current treatment guidelines including a considerable percentage of patients with single nodule, patients with portal vein thrombosis and impaired performance status (PS). Study 1 showed that TACE is a valid treatment option for patients with single nodule of HCC not eligible for curative treatments and that bland portal vein thrombosis and a mild impairment of performance status (PS-1) likely due to cirrhosis have no impact on survival.

Multiple TACE are usually performed in the routine clinical practice but the optimal number of repeated TACE to be performed before switching to another or no treatment is still to be definitely established. Study 2 supported the policy of repeating TACE “on demand” in patients with preserved liver function and not eligible to percutaneous treatments or surgery even if only a limited proportion of patients can be submitted to more TACE cycles.

TACE is a common treatment for patients awaiting liver transplant (LT) but no studies evaluating the impact of multiple TACE in those patients are available. Study 3 showed no impact of multiple TACE cycles on tumor necrosis, recurrence or overall survival. On the contrary, patients with a waiting time  $\leq 6$  months to LT had increased risk of recurrence after LT probably because the tumor biology in those patients had not enough time to be exposed.

# 1. INTRODUZIONE: L'EPATOCARCINOMA

## 1.1 Epidemiologia

L'epatocarcinoma (HCC, hepatocellular carcinoma) è la lesione maligna primitiva più frequente a livello epatico, costituendo oltre il 90% delle neoplasie primitive maligne del fegato. L'HCC rappresenta la sesta causa di cancro al mondo e la terza causa di morte per cancro [1].

Si stima che nel 2008 siano stati diagnosticati più di 700.000 nuovi casi con un'incidenza di 16 nuovi casi all'anno ogni 100.000 abitanti [2].

Nel 70-90% dei casi, l'epatocarcinoma insorge su fegato cirrotico [3] e rappresenta la prima causa di morte nei pazienti con cirrosi [1].

La sua incidenza subisce notevoli variazioni in relazione all'area geografica considerata (Fig. 1) in rapporto all'eterogenea distribuzione geografica dei fattori di rischio che coincidono, per la maggior parte, con quelli della cirrosi epatica [4].

	Age-adjusted incidence (x100 000; [men/women])	Risk factors			
		Hepatitis C virus	Hepatitis B virus	Alcohol	Others
Europe	..	60-70%	10-15%	20%	10%
Western	7.2/2.1	..	..	..	..
Southern	9.8/3.2	..	..	..	..
Northern	3.8/1.6	..	..	..	..
North America	6.8/2.2	50-60%	20%	20%	>10%
Asia and Africa	..	20%	70%	10%	<10%
Eastern Asia	35.5/12.6	..	..	..	..
Southern Asia	13.9/5.1	..	..	..	..
Central Africa	18.9/9.6	..	..	..	..

Data taken from references 1 and 5.

**Figura 1.** Incidenza e fattori di rischio dell'HCC a livello mondiale [1]

Dati epidemiologici dimostrano che l'incidenza così come la mortalità per epatocarcinoma è in

aumento a livello mondiale, anche a carico delle nazioni con bassa incidenza di epatocarcinoma.

## **1.2 Fattori di rischio**

I 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  $\alpha$ 1-antitripsina;
- immuno-mediata: epatite autoimmune, cirrosi biliare primitiva, colangite sclerosante primitiva.

Nei Paesi in via di sviluppo i principali fattori di rischio sono rappresentati dall'infezione da HBV (spesso contratta alla nascita o nei primi anni di vita) e dalla contaminazione dell'acqua potabile e del cibo con aflatossina. In questi casi circa il 50% degli HCC si sviluppa su fegato non cirrotico ed in giovane età [5, 6].

Nei Paesi occidentali invece i principali fattori di rischio sono l'infezione da HCV e l'alcolismo cronico. In questi Paesi oltre il 90% degli HCC insorge su fegato cirrotico ed in età più avanzata [7, 8].

## **1.3 Screening e sorveglianza**

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 [9]. Numerosi altri studi hanno dimostrato che la percentuale di HCC diagnosticata agli stadi iniziali aumenta notevolmente nella popolazione che viene seguita regolarmente mediante esame ecografico; questo dato è stato confermato anche in un nostro studio dove la percentuale di diagnosi di HCC unifocali raggiungeva l'80% nei pazienti sottoposti a sorveglianza contro il 52,9% di quelli non sottoposti a sorveglianza [10].

L'indicazione al programma di sorveglianza deve avere un rapporto costo-beneficio favorevole e deve essere guidata dall'incidenza dell'HCC [1]. 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% [11] (Tab. 1).

1. Cirrhotic patients, Child-Pugh stage A and B*
2. Cirrhotic patients, Child-Pugh stage C awaiting liver transplantation**
3. Non-cirrhotic HBV carriers with active hepatitis or family history of HCC***
4. Non-cirrhotic patients with chronic hepatitis C and advanced liver fibrosis F3****

\*Evidence 3A; strength B1;

\*\*evidence 3D; strength B1;

\*\*\*evidence 1B; strength A1 for Asian patients; evidence 3D; strength C1 for Western patients;

\*\*\*\*evidence 3D; strength B1 for Asian patients; evidence 3D; strength B2 for Western patients.

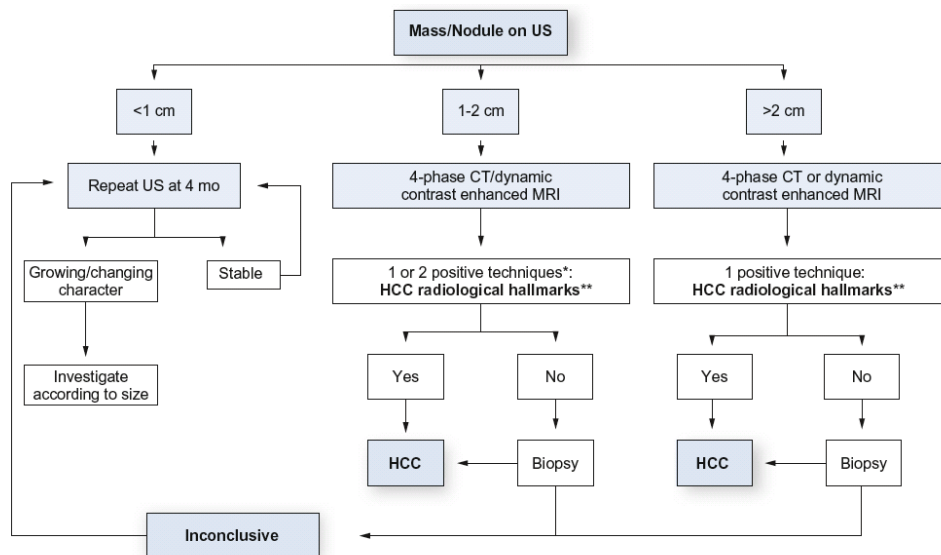
**Tabella 1.** Gruppo di pazienti per il quale è raccomandato il programma la sorveglianza [12].

Ad oggi, il programma di sorveglianza si avvale dell'ecografia che, usata come test di sorveglianza, ha sensibilità tra il 65 e l'80% e specificità maggiore del 90% [10], del tutto superiori a quelle di qualsiasi test sierologico. Il test sierologico più largamente 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 [12].

## 1.4 Diagnosi di epatocarcinoma

L'iter diagnostico di un nodulo riscontrato durante il programma di sorveglianza in un soggetto cirrotico o portatore di infezione da HBV dipende strettamente dalle dimensioni dello stesso (Fig. 2) [12].



**Figura 2.** Algoritmo diagnostico di un nodulo riscontrato durante il programma di sorveglianza in un paziente cirrotico o portatore di infezione cronica da HBV [12].

\* Nei centri d'eccellenza è raccomandata una sola tecnica d'immagine con pattern vascolare tipico

\*\* Pattern vascolare tipico per HCC: ipervascolarizzazione in fase arteriosa e washout in fase portale-tardiva.

### Lesioni con diametro minore di 1 cm

Queste lesioni hanno scarsa probabilità di essere HCC ed è quasi impossibile con le attuali tecniche diagnostiche porre diagnosi certa di HCC [1]. Secondo le attuali raccomandazioni EASL, i noduli

subcentimetrici devono essere seguiti ecograficamente ad intervalli di 4 mesi per il primo anno e, se non si evidenziano cambiamenti dimensionali, rientrano nel regolare programma di sorveglianza [12].

### **Lesioni con diametro compreso tra 1 e 2 cm**

Queste lesioni, osservate nel contesto di fegato cirrotico, hanno elevata probabilità di essere maligne. Il primo approccio diagnostico è lo studio non invasivo contrastografico, utilizzando almeno due tecniche d'immagine dinamiche tra TC (tomografia computerizzata) e RM (risonanza magnetica) con mezzo di contrasto alla ricerca di un comportamento vascolare tipico per HCC (ipervascolarizzazione arteriosa e washout nella fase portale-tardiva) [12].

La diagnosi delle lesioni comprese tra 1 e 2 cm rimane ancora dibattuta. Le linee guida dell'AASLD (American Association of the Study of the Liver) propongono l'utilizzo di una sola metodica diagnostica contrastografica tra TC o RM con comportamento vascolare tipico per la diagnosi di HCC [11]. Le linee guida europee dell'EASL invece propongono l'utilizzo di una sola metodica diagnostica contrastografica in centri d'eccellenza e di due metodiche negli altri centri [12]. Qualora la diagnosi rimanga dubbia deve comunque essere eseguita una biopsia.

### **Lesioni con diametro maggiore di 2 cm**

La scoperta di nodulo di dimensioni maggiori di 2 cm su fegato cirrotico è molto sospetto per HCC. La diagnosi di HCC può quindi essere fatta sulla base della presenza di caratteristiche contrastografiche ad una sola metodica imaging tra TC e RM suggestive per HCC (ipervascolarizzazione arteriosa e un washout tardivo) [12].

Se la lesione ha caratteristiche atipiche all'imaging, la biopsia è comunque raccomandata [12].

## **1.5 Staging dell'epatocarcinoma**

Il razionale del sistema di staging per l'HCC è quello di suddividere i pazienti affetti da epatocarcinoma in gruppi omogenei sulla base della prognosi e della terapia.

I sistemi di staging proposti per l'HCC sono molto numerosi e non universalmente accettati, a differenza di quanto accade per le altre neoplasie. Le ragioni che sottendono questa difficoltosa stadiazione sono le seguenti:

- nella quasi totalità dei casi (più dell'80%) l'epatocarcinoma insorge in pazienti affetti da cirrosi epatica ed il sistema di stadiazione non può non tenere conto della severità della cirrosi epatica sottostante l'HCC;
- gli studi effettuati per validare i sistemi di staging sono studi retrospettivi.

Per stadiare correttamente l'HCC è quindi fondamentale prendere in considerazione non soltanto la crescita tumorale ma anche la riserva funzionale epatica (sistemi di stadiazione integrati).

### **Classificazione di Child-Pugh**

Il sistema di classificazione di Child-Pugh (CPT) [13] è quello più largamente usato per la valutazione della gravità e della prognosi della malattia epatica. Il Child-Pugh tiene però in considerazione solo la funzione epatica e quindi non può essere accurato nella stadiazione del paziente con HCC.

### **Stadiazione di Okuda**

Il sistema di stadiazione di Okuda [14] è il primo sistema di stadiazione integrato. Questo sistema classifica l'HCC sulla base delle dimensioni del tumore e di alcuni parametri di funzionalità epatica. Non sono però inclusi importanti parametri come la unifocalità/multifocalità del tumore, l'invasione vascolare e la presenza di localizzazioni extraepatiche della neoplasia. Questo sistema permette di

identificare i pazienti in fase avanzata di malattia ma risulta inefficace a stratificare adeguatamente i pazienti con malattia in stadio precoce o intermedio.

### **Stadiazione TNM**

La stadiazione TNM (Tumor size-lymph Nodes-Metastases) [15] è valida per la maggior parte dei tumori solidi ma presenta scarsa accuratezza prognostica nei pazienti con HCC in quanto si basa su caratteristiche istopatologiche dei pezzi chirurgici in pazienti sottoposti a resezione o trapianto di fegato senza prendere in considerazione la funzionalità epatica.

### **Clip score**

Il Cancer of the Liver Italian Program (CLIP) ha introdotto un nuovo sistema di staging che prende in considerazione il Child-Pugh, la morfologia ed estensione della massa neoplastica, la presenza di trombosi venosa portale e i livelli sierici di AFP. Presenta però il limite di non individuare quei pazienti che, in uno stadio molto precoce di malattia, potrebbero beneficiare di trattamenti curativi e di avere una bassa capacità di stratificazione dei pazienti dal momento che sono contemplati solo 3 stadi con sovrapposizione delle curve di sopravvivenza tra i diversi stadi.

### **Stadiazione BCLC**

La stadiazione BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) [16, 17] è attualmente il sistema integrato di stadiazione più utilizzato. Questa classificazione è stata convalidata e approvata da EASL e AASLD [11, 12] anche se ulteriori modifiche e rifiniture sono necessarie [1]. La stadiazione BCLC si basa sulla sintesi dei risultati di numerosi studi effettuati su gruppi di pazienti con malattia in stadio precoce, intermedio o avanzato, con lo scopo di identificare variabili prognostiche importanti per ciascun gruppo.

I pazienti vengono classificati in cinque stadi sulla base di variabili correlate allo stadio tumorale, funzione epatica e alla sintomatologia correlata all'HCC [17].

Questo sistema di stadiazione non si limita alla sola predizione della sopravvivenza del paziente e/o

alla definizione della prognosi, ma la sua utilità consiste proprio nel permettere di delineare una strategia terapeutica adeguata e congeniale a ciascun paziente. La stadiazione BLCL consente quindi di embricare due dimensioni fondamentali: quella della prognosi e quella della terapia, fornendo dei pilastri di riferimento per l'elaborazione di un algoritmo terapeutico.

La classificazione BCLC distingue cinque stadi tumorali:

- *stadio molto precoce (BCLC-0)*: pazienti con funzione epatica ben conservata (Child-Pugh A), tumore singolo di diametro inferiore a 2 cm senza invasione vascolare o satelliti. Questi pazienti mostrano un ottimo outcome in termini di sopravvivenza: la sopravvivenza a 5 anni dopo resezione o trapianto è dell'80-90% e del 70% dopo trattamenti percutanei [12, 18]. Il rischio di recidiva a 3 anni è dell'8% circa [18].

La scelta terapeutica in questa classe di pazienti dipende sostanzialmente dalla localizzazione della neoplasia, dal grado di ipertensione portale e dalla presenza di comorbidità. Se la pressione portale e la bilirubinemia sono nella norma, il trattamento di scelta è costituito dalla resezione. Se invece sono elevate e il paziente non possiede comorbidità importanti si opta per il trapianto di fegato. Qualora invece il soggetto sia affetto da altre patologie che controindichino l'inserimento in lista trapianto potranno essere applicate le tecniche di ablazione percutanea ovvero la radiofrequenza (RF, radiofrequency ablation) o l'iniezione percutanea di etanolo (PEI, percutaneous ethanol injection) [12];

- *stadio precoce (BCLC-A)*: pazienti con funzione epatica più o meno preservata (Child-Pugh A e B) e con HCC singolo o con al massimo 3 noduli di diametro ciascuno  $\leq 3$  cm. I noduli sopra i 5 cm devono essere considerati in prima istanza per resezione epatica [12] così come i noduli singoli in pazienti con bilirubina inferiore ad 1 g/dL e pressione portale normale. Viceversa se la lesione non è singola o i due parametri sopracitati risultino aumentati, si opterà per il trapianto

(qualora il tumore sia singolo  $\leq 5$  cm o fino a 3 noduli  $\leq 3$  cm) o per le tecniche di ablazione percutanea sulla base del contesto clinico e delle patologie associate.

La sopravvivenza a 5 anni è del 50-75% a seguito di trattamenti curativi [18] con sopravvivenza mediana di circa 36 mesi [12];

- *stadio intermedio (BCLC-B)*: pazienti con HCC di grandi dimensioni o multinodulare, senza invasione vascolare o diffusione extraepatica. I pazienti che rientrano in questo stadio non presentano sintomi associati al cancro e la funzione epatica è conservata (Child-Pugh A e B). La metanalisi di Llovet [19] riporta una mediana di sopravvivenza in assenza di terapia di circa 16 mesi circa per questi pazienti e di 19-20 mesi circa dopo trattamento di chemioembolizzazione (TACE). Tuttavia, l'outcome dei pazienti in questo stadio è estremamente eterogeneo e può variare da 36-45 mesi nei pazienti con eccellente risposta al trattamento di chemioembolizzazione [20-22] fino a 11 mesi dei pazienti del braccio placebo dello studio SHARP [23];
- *stadio avanzato (BCLC-C)*: pazienti con sintomi correlati alla patologia neoplastica (valutati attraverso il performance status, PS) di grado moderato e/o con invasione vascolare o diffusione extraepatica. Questi pazienti presentano una breve aspettativa di vita, con una mediana di sopravvivenza di 6 mesi circa [24]. Fino al 2006 non erano disponibili trattamenti di prima linea per pazienti in stadio avanzato ma lo scenario è cambiato con l'introduzione del sorafenib, un inibitore di multiple tirosin chinasi. L'evidenza dell'efficacia del sorafenib nei pazienti in stadio avanzato si basa sui risultati dello studio randomizzato controllato SHARP che ha evidenziato un aumento della sopravvivenza nei soggetti trattati con sorafenib (mediana di 10.7 mesi) [23];
- *stadio terminale (BCLC-D)*: Child-Pugh C o performance Status di 3-4 che riflette una severa disabilità correlata alla patologia neoplastica. La mediana di sopravvivenza è di 3-4 mesi o 11%

ad 1 anno [12]. Per questi pazienti è indicato solo trattamento di supporto qualora non candidabili a trapianto di fegato a causa della malattia neoplastica avanzata.

Una certa percentuale di pazienti non rispetta tutti i criteri di allocazione al trattamento. Questi pazienti devono quindi essere candidati al trattamento successivo disponibile all'interno dello stesso stadio BCLC o nello stadio successivo [12]. Tale concetto è noto con il nome di "Tumor stage migration".

## **1.6 Opzioni terapeutiche**

In passato la diagnosi di HCC veniva posta quando il paziente era sintomatico, la funzionalità epatica severamente compromessa e il tumore molto esteso. In questo stadio non esistono virtualmente trattamenti che possano essere efficaci aumentando significativamente la sopravvivenza e la morbilità associata alla terapia è inaccettabilmente alta.

Attualmente, anche grazie ai programmi di sorveglianza, la maggior parte dei noduli di HCC viene riscontrata in fase precoce quando ancora la funzionalità epatica è conservata e non sono presenti sintomi riferibili alla neoplasia. Inoltre, la scoperta di nuove strategie terapeutiche ha avuto ulteriore impatto positivo sulla storia naturale della malattia [25].

L'allocazione al trattamento si basa sul sistema BCLC, approvato sia dalle linee guida americane [11] che europee [12] (Fig. 3). Tuttavia, in considerazione della complessità della patologia, i pazienti con HCC devono essere seguiti da un team multidisciplinare e per ognuno di essi deve essere valutata la strategia terapeutica migliore in quanto il raggiungimento di buoni risultati dipende dalla selezione accurata dei candidati per ciascun trattamento.

Bisogna sottolineare inoltre che non ci sono studi clinici randomizzati e controllati che confrontino l'efficacia dei trattamenti considerati curativi (resezione epatica, trapianto di fegato e ablazione percutanea) nelle fasi precoci della neoplasia vs. il non trattamento. La maggior parte degli RCT



infatti si limita alla valutazione del trattamento per gli stadi avanzati [19].

Le terapie dell'HCC si distinguono in curative e non curative. Quelle considerate curative sono il trapianto di fegato, la resezione epatica e l'ablazione percutanea [25]. Tra le terapie non curative invece, quella che si è dimostrata in grado di migliorare la sopravvivenza in pazienti selezionati con HCC in stadio intermedio, è la chemioembolizzazione (TACE, transarterial chemoembolization) [19].

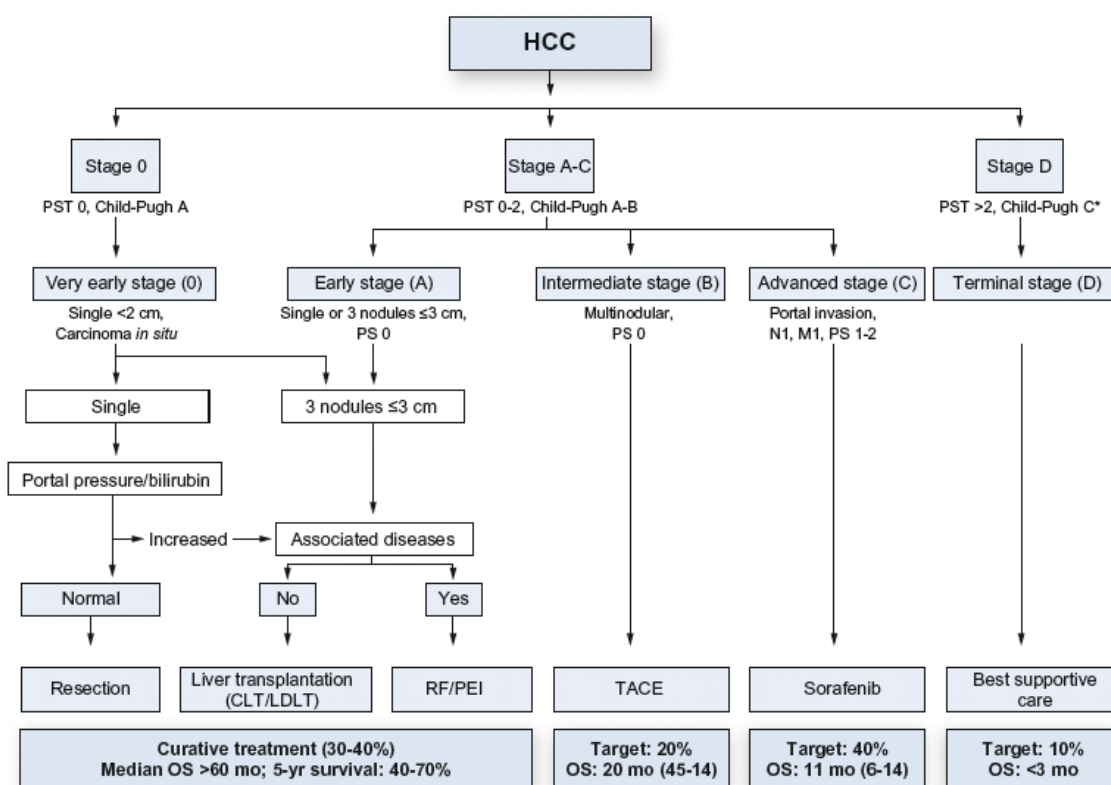


Figura 3. Staging e trattamento in pazienti con diagnosi di HCC, secondo la stadiazione BCLC [12].

### Resezione epatica

La resezione epatica rappresenta il trattamento di scelta nei pazienti con lesione singola insorta su fegato non cirrotico o su cirrosi in buon compenso funzionale [12].

La sopravvivenza dopo resezione epatica nei pazienti cirrotici supera il 50% a 5 anni [26] e la mortalità perioperatoria è del 2-3% [12] grazie ad una diagnosi precoce, ad una valutazione accurata della riserva funzionale epatica ed al miglioramento della tecnica chirurgica. La resezione, insieme al trapianto, consente quindi di perseguire i migliori risultati quando applicata a pazienti ben selezionati [12].

Tutti i tipi di tumore confinati al fegato possono essere potenzialmente asportati fintanto che la funzione epatica residua è sufficiente ad assicurare un buon outcome [18] ma, i pazienti con HCC su cirrosi, devono essere attentamente valutati prima dell'intervento per il potenziale rischio scompenso epatico post-chirurgico.

La valutazione della riserva funzionale epatica è passata negli anni dalla grossolana valutazione del Child-Pugh [13] alla misurazione del tasso di ritenzione dell'indocianina [27] e della pressione portale [28]. Alcuni studi hanno evidenziato che livelli di bilirubina normali ( $\leq 1\text{g/dL}$ ) e l'assenza di ipertensione portale significativa (con gradiente pressorio porta-sovraepatiche  $\leq 10\text{ mmHg}$ ) sono i migliori fattori predittivi di una buona riuscita dell'intervento chirurgico con minimo rischio di insufficienza epatica post-operatoria [28, 29] e sopravvivenza a 5 anni superiore al 70% [28, 29]. Anche la conta delle piastrine  $< 100.000/\text{mm}^3$  è recentemente emersa essere fattore predittivo indipendente di sopravvivenza nei pazienti sottoposti a resezione epatica [30] in quanto surrogato di ipertensione portale nei pazienti con associata splenomegalia. La resezione epatica è quindi il trattamento di scelta nei pazienti con lesione singola e buona funzione epatica definita da normali livelli di bilirubina e gradiente pressorio porta-sovraepatiche  $\leq 10\text{ mmHg}$  o conta delle piastrine  $< 100.000/\text{mm}^3$  [12].

Dal punto di vista dell'estensione tumorale, i maggiori fattori predittivi di sopravvivenza sono le dimensioni del tumore (tumori  $\leq 2\text{ cm}$  sono associati a tassi di sopravvivenza a 5 anni del 66%, tumori tra i 2 e 5 cm del 52% e tumori  $> 5\text{ cm}$  del 37% [12]), il numero di noduli (tumori singoli

hanno tasso di sopravvivenza a 5 anni del 57% vs. 26% di 3 o più noduli), la presenza di microsatelliti e l'invasione vascolare [12, 31]. Il rischio di invasione microvascolare cresce con l'aumentare delle dimensioni della massa [32].

La principale complicanza nel follow-up post-resezione è la recidiva tumorale che compare in circa il 70% dei pazienti a 5 anni [29, 33-38]. Vista la scarsa utilità della TACE e delle chemioterapie sistemiche nel prevenire le recidive [39], l'attenzione si sposta verso il profiling molecolare dell'HCC, in grado di predire il rischio di recidiva e l'outcome.

In caso di comparsa di recidiva, il paziente deve essere ristadiato secondo il BCLC e trattato di conseguenza [12].

### **Trapianto di fegato**

Il trapianto di fegato (LT, liver transplant) è il trattamento di scelta nei pazienti all'interno dei cosiddetti criteri di Milano (MC, Milan criteria) [40], costituiti dalla presenza di un nodulo solitario  $\leq 5$  cm o di meno di tre noduli con diametro  $\leq 3$  cm ciascuno, non candidabili alla resezione [12]. Il trapianto di fegato all'interno dei criteri di Milano si associa ad una sopravvivenza a 5 anni del 70% e tassi di recidiva inferiori al 15% [18].

L'eccellente outcome dei soggetti sottoposti a trapianto all'interno dei criteri di Milano ha alimentato il dibattito circa l'estensione o meno dei criteri di selezione dei pazienti per trapianto di fegato [41] ma a tutt'oggi mancano dati robusti a tale supporto [12].

Uno dei problemi più rilevanti per i pazienti con HCC candidati al trapianto di fegato è la scarsità di organi disponibili con un conseguente lungo tempo d'attesa in lista e potenziale rischio di fuoriuscita dalla stessa (dropout). Questo ha costretto l'UNOS (United Network of Organ Sharing) ad adottare un modello per le malattie epatiche allo stadio terminale al fine di dare un ordine di priorità alla lista d'attesa, il cosiddetto punteggio MELD (Model of End Stage Disease) [42] che è in grado di predire la mortalità a 3 mesi dei pazienti con epatopatia grave di origine virale o alcolica [43]. In caso di

punteggio inferiore a 9, il rischio di mortalità a 3 mesi è dell'1.9%, mentre se superiore a 40 è del 71.3% [42]. Tuttavia il MELD non ha possibilità di predire la mortalità per HCC. Nell'ambito di tale sistema sono state quindi introdotte delle variazioni per pazienti affetti da epatocarcinoma. Attualmente viene infatti attribuito un punteggio extra di 22 punti ai pazienti neoplastici [44] che viene incrementato ogni 3 mesi del 10%.

Il problema del dropout è stato inoltre affrontato mediante l'utilizzo di trattamenti adiuvanti per i pazienti in attesa di trapianto (trattamenti bridge) in modo tale da garantire la permanenza in lista per un periodo di tempo più lungo ed aumentare così la possibilità di ricevere un organo. I trattamenti di ablazione percutanea (PEI ed RF) hanno dimostrato avere un rapporto rischio/beneficio favorevole se effettuati in soggetti in lista d'attesa per più di 6 mesi anche se dati robusti provenienti da RCT non sono disponibili [45]. Anche la TACE è frequentemente impiegata nel trattamento neoadiuvante dei pazienti in lista per trapianto di fegato anche se le informazioni disponibili sulla sua efficacia derivano solo da studi osservazionali. La TACE sembra tuttavia avere minori tassi di necrosi rispetto al trattamento di radiofrequenza [12]. Quindi, nonostante ci sia scarsa evidenza di efficacia dei trattamenti neoadiuvanti dell'HCC nei pazienti in lista per trapianto di fegato, i trattamenti neoadiuvanti sembrano appropriati nel trattamento di pazienti con nodulo singolo di 2-5 cm o meno di 3 noduli ciascuno  $\leq 3$  cm con una prospettiva di attesa in lista superiore a 6 mesi [46]. Infine, ci sono evidenze che sostengono l'efficacia dei trattamenti locoregionali neoadiuvanti (quali per esempio la TACE) anche nel miglioramento dell'outcome post-trapianto.

### **Ablazione percutanea**

L'ablazione percutanea è la migliore opzione terapeutica per i noduli di HCC in stadio molto precoce o precoce (BCLC 0-A), quando il trapianto e la resezione non siano indicati [12]. In alcuni centri giapponesi viene proposta come terapia di prima linea [47] anche se non ci sono RCT che confrontino la resezione epatica vs. il trattamento di ablazione percutanea.

### *Iniezione percutanea di etanolo (PEI)*

L'iniezione percutanea di etanolo (PEI) si basa sulla capacità dell'etanolo di penetrare prontamente all'interno delle cellule maligne determinando la necrosi coagulativa del tessuto neoplastico e la trombosi del microcircolo tumorale con conseguente necrosi ischemica del tessuto neoplastico. Si esegue generalmente sotto guida ecografica e ciò consente di valutare in tempo reale la diffusione dell'alcool all'interno del tumore evitandone un eccessivo spandimento al di fuori dei margini di lesione.

Per quanto riguarda l'efficacia del trattamento, se la lesione singola è di diametro <2 cm, la necrosi completa si ottiene nel 90-100% dei casi, se il diametro è 2-3 cm nel 70% dei casi e se invece il diametro è 3-5 cm, nel 50% dei casi [48-51]. In pazienti con buona funzione epatica (Child-Pugh A) e tumore in stadio precoce, la PEI ha mostrato tassi di sopravvivenza a 5 anni del 47-53% [52].

La maggiore limitazione della PEI è costituita però dall'alto tasso di recidiva locale, che può arrivare al 33% in lesioni inferiori a 3 cm ed al 43% in lesioni maggiori a 3 cm [53, 54] Ciò è da attribuirsi alla disomogenea captazione dell'etanolo all'interno della lesione (conseguente al posizionamento inadeguato dell'ago e/o alla presenza di setti intratumorali), ai limitati effetti sulla diffusione extracapsulare delle cellule neoplastiche e all'incapacità di creare un margine di ablazione di sicurezza nel parenchima epatico circostante alla lesione, dove sono più frequentemente situati i noduli satellite.

Sono state così sviluppate metodiche alternative di ablazione tumorale percutanea con ricorso a microonde, laser o radiofrequenza che mirano ad incrementare l'efficacia antitumorale dei trattamenti percutanei in termini di necrosi tumorale.

### *Termoablazione con radiofrequenza (RF)*

La termoablazione con radiofrequenza (RF) ha lo scopo di provocare un danno termico tissutale attraverso la deposizione di energia elettromagnetica. Viene generalmente eseguita sotto guida

ecografica e, attraverso un particolare dispositivo incorporato nella sonda ecografica, si posizionano gli elettrodi.

L'RF ha un costo più elevato e maggior tasso di effetti avversi (superiore al 10%) rispetto alla PEI [55-57] con una mortalità legata alla procedura va dallo 0 allo 0.3% [55-57].

La fattibilità della RF dipende in maniera importante dalla localizzazione del nodulo. Ci sono infatti delle aree ad "alto rischio" localizzate a meno di 5 mm da grandi vasi o organi extraepatici e una localizzazione periferica della neoplasia (durante la procedura si può avere una rottura della capsula con rischio di emoperitoneo) [58].

L'effetto terapeutico dell'ablazione con RF, è stato ormai accertato grazie a molteplici studi volti a valutare l'outcome del trattamento e attraverso studi randomizzati e di coorte finalizzati a indagare la sopravvivenza a lungo termine dei pazienti trattati.

L'efficacia della procedura è strettamente correlata con le dimensioni del tumore e la presenza di grandi vasi limitrofi (di 3 o più mm) che inducono dispersione del calore all'interno del torrente ematico. In particolare, Livraghi et al., hanno evidenziato una necrosi completa del tumore nel 90% dei casi se il diametro è < 3 cm, nel 71% dei casi se il diametro è 3-5 cm e in meno del 45% dei casi se il diametro è >5 cm [59].

Alcuni trials randomizzati controllati hanno inoltre comparato l'ablazione con RF e la PEI per il trattamento di HCC in stadio precoce [60-64]. Da questi studi è emerso che l'RF ha effetto antitumorale locale maggiore della PEI [64], determinando un miglior controllo della patologia e un più basso rischio di recidiva (anche se il tasso di recidiva tumorale rimane comunque alto con un 50% a 3 anni e 70% a 5 anni). In tumori <2 cm, tuttavia, entrambe le tecniche hanno tassi di risposta completa superiori al 90% e buon outcome nel lungo termine [60, 65]. L'RF rappresenta quindi la terapia percutanea preferibile in pazienti con HCC in stadio precoce con tumore >2 cm [60, 61, 65].

In aggiunta, un trial randomizzato basato sul confronto ablazione con RF vs. resezione in pazienti

con HCC solitario di diametro inferiore ai 5 cm non ha evidenziato differenze sostanziali tra i risultati delle due metodiche in termini di sopravvivenza complessiva e rischio di recidiva [66].

### **Chemoembolizzazione ed embolizzazione transarteriosa**

La chemoembolizzazione (TACE, transarterial chemoembolization), è indubbiamente uno tra i trattamenti più diffusi per l'HCC [18] e si è visto così essere in grado di migliorare la sopravvivenza da 16 mesi circa nei pazienti senza trattamento a 19-20 mesi circa dopo trattamento [19]. Secondo le attuali linee guida, la TACE è il trattamento di scelta nei pazienti in stadio tumorale intermedio della classificazione di BCLC con tumore multifocale in assenza di sintomi, invasione vascolare o metastasi distanza [12].

Il trattamento TACE prevede l'introduzione, mediante accesso femorale o brachiale, di un catetere angiografico con successiva angiografia preliminare del tripode celiaco e dell'arteria mesenterica superiore con lo scopo di studiare la vascolarizzazione epatica, individuare eventuali varianti anatomiche ed identificare i noduli ipervascolarizzati riferibili ad HCC. Attraverso il catetere angiografico viene così eseguita l'iniezione intrarteriosa selettiva nel ramo epatico afferente alla/e lesione/i di HCC (ramo destro, ramo sinistro o ramo segmentario) di una miscela composta da uno o più farmaci citotossici (generalmente la doxorubicina) e da un mezzo di contrasto oleoso (solitamente il lipiodol); l'iniezione avviene sotto guida fluoroscopica per verificare che la miscela si distribuisca senza fughe verso i rami extraepatici. Successivamente viene praticata l'occlusione meccanica (embolizzazione) dei vasi afferenti la zona trattata, attraverso l'uso di agenti embolizzanti. È pertanto possibile aggredire selettivamente il nodulo tumorale attraverso l'approccio arterioso, risparmiando il restante parenchima epatico e riducendo gli effetti collaterali sistemici e locali.

Una forma di TACE è la TAE (transarterial embolization), la quale prevede l'esclusiva embolizzazione dell'arteria che vascolarizza il tumore (in assenza di infusione di chemioterapico) con lo scopo di provocare necrosi ischemica.

L'avanzamento del catetere deve procedere dall'arteria epatica verso le diramazioni lobari e segmentarie con lo scopo di essere il più selettivi possibile. Una TACE superselettiva subsegmentaria ottiene una percentuale di necrosi completa del 100% se praticata su noduli di dimensioni inferiori a 2 cm, con un tasso di recidiva ad 1 anno del 5% [67].

In caso di interessamento di entrambi i lobi, è preferibile quindi eseguire un trattamento in sedute distinte per ciascun lobo, intervallandole di almeno 3-4 settimane, in modo da assicurare comunque al paziente un back-up funzionale nella fase immediatamente successiva alla TACE.

Per quanto riguarda la dose di chemioterapico, non c'è un dosaggio standard al quale attenersi. Si è visto inoltre che la dose ottimale di chemioterapico da iniettare non è quella più elevata. Infatti, TACE superselettive con dosi più elevate di chemioterapico non presentano maggiore efficacia in termini di necrosi tumorale o di sopravvivenza (per questo molto probabilmente l'efficacia della TACE dipende maggiormente dall'embolizzazione piuttosto che dall'agente chemioterapico).

L'embolizzazione (e il blocco del circolo arterioso che ne consegue), induce il ristagno del chemioterapico nei noduli neoplastici e contemporaneamente provoca un'ischemia intralesionale che favorisce la necrosi e incrementa la penetrazione del farmaco all'interno delle cellule tumorali. La necrosi indotta dalla TACE deriva quindi dall'effetto sinergico delle alte concentrazioni di farmaco all'interno del tessuto patologico e dall'ischemia, la quale ha importanza sia come fenomeno lesivo in sé sia come fattore che permette la prolungata permanenza del farmaco nelle lesioni bersaglio. L'agente embolizzante più frequentemente utilizzato è il Gelfoam (una spugna di gelatina) [68] in frammenti o in polvere. Esso causa una occlusione vasale temporanea con ricanalizzazione entro 2 settimane approssimativamente, garantendo così la possibilità di ritrattamento se necessario.

Il mezzo oleoso generalmente utilizzato nella miscela citotossica è il lipiodol; esso è considerato un ingrediente chiave sulla base delle molteplici funzioni svolte. Il lipiodol viene captato preferenzialmente all'interno delle cellule tumorali con conseguente aumento del tempo di



esposizione del chemioterapico alle cellule neoplastiche [69-73]. Il lipiodol è inoltre in grado di rilasciare il chemioterapico lentamente, nell'arco di 6-12 settimane [69-73], e la sua ritenzione a carico del nodulo tumorale si prolunga fino a circa 1 anno dalla procedura (a differenza di quello che avviene a livello del parenchima epatico sano). Il lipiodol ha inoltre anche effetto embolizzante temporaneo. In questo modo è possibile raggiungere nel tessuto tumorale concentrazioni di farmaco 10-100 volte maggiori rispetto alla chemioterapia sistemica [69-73].

La selezione dei soggetti candidabili alla TACE, ad oggi ancora fonte di dibattito, è di fondamentale importanza in quanto non tutti i pazienti con HCC possono trarre beneficio da questo trattamento. I candidati ideali alla TACE sono pertanto i pazienti con una o più lesioni focali, non suscettibili di intervento chirurgico o ablazione percutanea, con funzionalità epatica sufficientemente conservata e senza segni di diffusione extraepatica di malattia [12].

La TACE è stata inoltre proposta nei pazienti candidati a trapianto epatico in lista d'attesa, quale metodo in grado di controllare la crescita neoplastica, con una riduzione del dropout a 6 mesi dal 30 al 15% [74, 75]. Nei pazienti in lista per trapianto di fegato, la TACE può essere effettuata anche in caso di compromissione della funzione epatica più o meno importante con lo scopo di ridurre il rischio di rimozione del paziente dalla lista d'attesa per progressione tumorale oltre i criteri di eleggibilità.

E' stato anche proposto l'uso della TACE nel downstaging dell'HCC in pazienti al di fuori dei criteri di Milano, come metodica in grado di ridurre l'estensione tumorale, rendendo il paziente candidabile al trapianto. I risultati della letteratura oggi disponibili circa la sopravvivenza dopo trapianto in pazienti così selezionati sono oggi discordanti, sebbene alcuni Autori riferiscano tassi di sopravvivenza a 5 anni paragonabili a quelli che si ottengono in pazienti trapiantati entro i criteri di Milano classici [76, 77].

L'efficacia antitumorale della TACE viene valutata con l'esecuzione di un esame strumentale TC o,

meno frequentemente RM, ad 1 mese circa dal trattamento. I criteri attualmente utilizzati per valutare la risposta del tumore al trattamento sono i criteri mRECIST [78]. La risposta al trattamento viene valutata sulla base del grado di enhancement vascolare durante la fase arteriosa alle tecniche di imaging dinamico (TC e RM). Le aree di enhancement tumorale vengono così considerate vitali mentre le aree senza enhancement vengono considerate necrotiche. Per risposta tumorale completa (CR, complete response) dopo trattamento si intende la scomparsa di qualsiasi enhancement arterioso intratumorale (tessuto tumorale vitale); per risposta parziale (PR, partial response) si intende la riduzione di almeno il 30% della somma dei diametri delle lesioni con enhancement con riferimento alla somma base dei diametri delle lesioni attive prima del trattamento; per malattia in progressione (PD, progressive disease) si intende l'aumento di almeno il 20% della somma dei diametri delle lesioni con enhancement con riferimento al più piccolo valore somma dei diametri delle lesioni attive prima del trattamento o la comparsa di una o più lesioni e per malattia stabile (SD, stable disease) si intende qualsiasi caso che non rientri nei casi precedenti. La risposta al trattamento dipende anche dalla quantità di lipiodol trattenuto a livello del nodulo tumorale dopo la procedura; una intensa ed omogenea ritenzione della miscela contenente lipiodol all'interno del nodulo tumorale (visibile come intensamente iperdensa in condizioni basali), si associa ad una migliore risposta tumorale (necrosi cellulare) e clinica [79], con sopravvivenza dopo trattamento TACE comparabile con quella dopo resezione epatica [80].

La RM andrebbe riservata ai casi dubbi alla TC, poiché sembra essere più sensibile nella identificazione di tessuto tumorale residuo, non essendo inficiata dagli artefatti tipici della TC determinati dalla presenza di lipiodol.

Secondi i criteri WHO, la TACE, effettuata come primo trattamento dell'HCC, ottiene risposta oggettiva (risposta parziale e risposta completa) nel 16-60% dei casi [19, 81] ma, meno del 2% dei pazienti trattati con TACE ottiene una risposta completa [82]. Durante il follow-up post-trattamento,

il tumore residuo può così recuperare l'apporto nutritizio e continuare a crescere. Questo fatto apre un dibattito ancora oggi non completamente risolto sulla necessità di eseguire ciclicamente il trattamento TACE o eseguirlo "on demand", cioè basandosi sulla risposta tumorale [81]. Si è visto che l'efficacia e la tollerabilità della TACE è maggiore se applicata selettivamente e solo quando sia strettamente necessario. Inoltre, una TACE addizionale un mese dopo l'evidenza di una risposta tumorale completa alla TC, non riduce la percentuale di recidive e non aumenta la sopravvivenza [83].

La complicanza periprocedurale più frequente (80-90%) è la sindrome post-embolizzazione costituita da un corteo sintomatologico (dolore, nausea, vomito, rialzo termico e moderato ileo paralitico) che compare a distanza di 24-72 ore dall'esecuzione della TACE.

Dopo la procedura si assiste anche ad un incremento delle transaminasi e di altri enzimi epatici che, espressione di un danno transitorio indotto anche a livello del normale tessuto epatico, solitamente vanno incontro a normalizzazione nel giro di qualche settimana. È possibile, tuttavia, osservare in alcuni casi un importante e duraturo deterioramento della funzionalità epatica legata al trattamento di lesioni molto estese.

I limiti della TACE sono rappresentati dalla difficoltà di ottenere una necrosi completa nelle lesioni trattate per cui sono stati introdotti nuovi agenti embolizzanti che dovrebbero aumentarne l'efficacia.

### **Chemioembolizzazione con Dc Beads**

Recentemente è stato introdotto il sistema delle Drug-eluting beads (DEB), che consiste in microsfele di idrogel N-Fil Sulfonato, biocompatibili, non riassorbibili, idrofile e precalibrate, in grado di assorbire e veicolare selettivamente il chemioterapico, rilasciandolo in modo controllato all'interno del nodulo tumorale (Drug-Eluting Beads, Biocompatible UK Limited). Le particelle iniettate si impaccano nel vaso formando un'occlusione permanente e rilasciano il farmaco per circa 14 giorni.

Le DEB sono state progettate per essere caricate con Doxorubicina (DC Beads, Doxorubicin loaded Beads) con una dose raccomandata di 25 mg/mL fino ad un massimo di 37,5 mg/mL.

I potenziali vantaggi delle DC Beads sono [21, 84-86]:

- maggiore concentrazione tumorale del farmaco chemioterapico e una ridotta concentrazione sistemica;
- rilascio della Doxorubicina prolungato nel tempo e più facilmente prevedibile;
- occlusione vasale più prevedibile rispetto alle particelle non sferiche e minor tasso di occlusione del catetere grazie alla loro deformabilità;
- più facile valutazione dei responders e delle recidive nel follow-up attraverso l'indagine TC (i noduli non risultano iperdensi a causa della radiotrasparenza delle microsfer).

Le DC Beads sono presenti in commercio in quattro diverse dimensioni: 100-300  $\mu\text{m}$ , 300-500  $\mu\text{m}$ , 500-700  $\mu\text{m}$ , 700-900  $\mu\text{m}$ .

Uno studio compiuto su conigli con tumore epatico indotto [84], in cui veniva iniettato il chemioterapico libero o veicolato dalle DC Beads, ha dimostrato che negli animali trattati con DC Beads, la concentrazione plasmatica di doxorubicina era minima, suggerendo un'elevata ritenzione di chemioterapico a livello tumorale. Tale concentrazione era significativamente più bassa rispetto ai controlli trattati con doxorubicina libera intrarteriosa, con un decremento della concentrazione plasmatica del 70-85% [84]. All'interno del tumore, la concentrazione di farmaco raggiungeva il picco massimo il terzo giorno, rimanendo elevata fino al settimo, con persistenza per oltre 14 giorni, ad indicare un continuo rilascio del farmaco dalle particelle [84]. La necrosi tumorale (approssimativamente del 100%), era maggiore a distanza di una settimana dal trattamento, associata a modeste alterazioni della funzionalità epatica [84].

I primi studi sperimentali sull'uso di microsfer nei pazienti con HCC avevano dimostrato che tale terapia era ben tollerata determinando maggiore necrosi rispetto alla TACE, ma per la valutazione

dell'impatto delle DC Beads sulla sopravvivenza si è imposta l'esecuzione di uno studio randomizzato controllato.

Lo studio randomizzato controllato (Precision V), iniziato nel 2006, aveva come scopo quello di comparare la sopravvivenza a 2 anni dei pazienti trattati con microsferi rispetto alla TACE standard.

I risultati emersi dallo studio hanno evidenziato un'incidenza di eventi avversi simile tra i due gruppi nei primi 30 giorni dopo il trattamento e risposta al trattamento sovrapponibile tra i due gruppi [87].

Tra gli studi clinici effettuati per valutare l'efficacia delle Dc Beads, identifichiamo lo studio in aperto condotto dalla Malagari et al. [88], la quale ha dimostrato tassi di risposta oggettiva nel 59.6% dei pazienti dopo prima procedura e dell'81.8% e 70.8% dopo seconda e terza procedura. A 9 mesi il tasso di risposta oggettiva sostenuta era dell'80.7%. Cumulativamente la risposta completa era stata osservata nel 12.2% dei pazienti a 9 mesi. Percentuali simili sono state osservate anche nello studio condotto dalla Varela et al. [21]. Il trial ha anche dimostrato un crollo della concentrazione plasmatica di doxorubicina, fino a 30 volte più bassa rispetto alla TACE tradizionale, mentre la concentrazione del farmaco nel tumore è stata fino a 4 volte superiore [21].

### **Radioembolizzazione**

Un altro trattamento transarterioso dell'HCC è la radioembolizzazione con Itrio-90, definita come l'iniezione intrarteriosa di microsferi caricate con Itrio-90, un isotopo radioattivo in grado di emettere radiazioni  $\beta$  ad alta energia con una penetranza di 2 cm e senza emissione di radiazioni  $\gamma$ . La radioembolizzazione combina la terapia radiante con l'embolizzazione; inoltre è possibile modulare la dose in base al volume del tumore rispetto al volume epatico circostante.

Negli ultimi anni, sono stati pubblicati numerosi studi e risultati di trials randomizzati sull'utilizzo di questa metodica in combinazione con chemioterapia, confermando la sicurezza e l'efficacia di questo trattamento [89, 90].

L'indicazione principale per la radioembolizzazione è il trattamento delle neoplasie epatiche in

pazienti dove altre terapie sono fallite o non sono indicate.

Molti studi dimostrano la sicurezza e l'efficacia della radioembolizzazione nei pazienti con HCC. Nel 2000, uno dei primi studi riportava la sopravvivenza, la tossicità e il tempo di progressione di malattia in 22 pazienti trattati con somministrazione intrarteriosa di Itrio-90: la mediana del tempo di progressione era 44 settimane e la mediana della sopravvivenza era 54 settimane [91]. I fattori associati al prolungamento della sopravvivenza erano la dose somministrata maggiore a 104 Gy e lo stadio di malattia Okuda I. Nel 2004 sono stati pubblicati due ulteriori studi che dimostravano un prolungamento di sopravvivenza nei pazienti trattati con radioembolizzazione con Itrio-90 [92, 93].

### **Trattamenti sistemici**

Purtroppo buona parte dei pazienti con HCC presenta, al momento della diagnosi, malattia non resecabile o metastatica, con scarsa prognosi.

Fanno parte della terapia sistemica, la terapia ormonale, la chemioterapia, la terapia biologica e la terapia molecolare.

I trattamenti ormonali non hanno mostrato benefici in termini di sopravvivenza nel trattamento dell'HCC [19, 94-96].

L'incremento delle conoscenze relative ai meccanismi molecolari sottesi alla patogenesi dell'HCC, ha consentito di mettere a punto delle terapie molecolari mirate, molte delle quali sono finalizzate a bloccare i meccanismi di trasduzione del segnale responsabile della proliferazione e sopravvivenza cellulare. Altri bersagli fondamentali sono i fattori di crescita e le molecole-segnale, responsabili della diffusione della malattia, dell'angiogenesi e dell'attivazione delle telomerasi.

Molti degli agenti studiati bloccano i recettori di membrana con attività tirosin chinasi, i cui ligandi fisiologici sono costituiti da fattori di crescita quali il VEGF, l'EGF, il PDGF e l'HGF. Questi ligandi determinano l'attivazione della via di trasmissione del segnale RAS/MAPK e di conseguenza la trascrizione di geni della famiglia AP1 come c-fos e c-jun (di fondamentale importanza per

l'induzione della proliferazione cellulare). Come descritto anche in altre neoplasie maligne la mutazione somatica di questi recettori (specialmente l'EGFR), può causare l'attivazione costitutiva di questa via. Inoltre, l'inattivazione dei geni della soppressione tumorale come RASSFR1 e NORE1 è piuttosto diffusa in stadio avanzato [18].

In alternativa, questi fattori di crescita, possono indurre un'attivazione della via del segnale PI3K/Akt/mTOR o la via HGF/c-met [18].

Il primo bersaglio della terapia molecolare è quindi costituito dai recettori con attività tirosin chinasi per i fattori di crescita cellulare. Il sorafenib (Nexavar®), è un inibitore orale di protein chinasi attivo contro diverse tirosin chinasi (VEGFR2, PDGFR, recettori del c-kit) e serin/treonin chinasi (b-Raf, p38). Esso cioè blocca degli enzimi specifici, noti come protein chinasi, associati ad alcuni recettori presenti sia sulla superficie delle cellule tumorali, esplicando a tal livello una funzione di stimolo della crescita e della diffusione cellulare, sia sulla superficie delle cellule endoteliali dei vasi sanguigni che irrorano la massa tumorale, intervenendo sulla neoangiogenesi. Il sorafenib agisce quindi rallentando la velocità di crescita delle cellule tumorali e bloccando l'apporto di sangue che permette alle cellule tumorali di svilupparsi. L'efficacia del sorafenib nel trattamento dell'HCC, è stata approvata sia dalla FDA sia dall'EMEA. In un trial clinico randomizzato a doppio cieco [23] è stata confrontata l'efficacia del sorafenib con quella del placebo in pazienti con HCC in fase avanzata (BCLC-C). Il sorafenib è risultato più efficace del placebo nell'aumentare la sopravvivenza globale dei pazienti, con una sopravvivenza di 10.7 mesi in media nei pazienti che assumevano sorafenib versus 7.9 mesi nei soggetti che assumevano placebo [23].

## **2. SCOPO DELLA TESI**

Lo scopo della presente tesi è stato quello di valutare alcune delle principali controversie riguardanti il trattamento di chemioembolizzazione, quali:

- indicazioni al trattamento;
- trattamenti multipli e schema di ritrattamento;
- impiego della chemioembolizzazione nei pazienti candidabili a trapianto di fegato.

A tal fine sono stati riportati tre studi che hanno analizzato gli argomenti sopradescritti.



## 3. PAZIENTI E METODI

### 3.1 Pazienti

I tre studi riportati nella presente tesi sono stati disegnati come studi di coorte condotti sull'analisi retrospettiva di database di pazienti consecutivi.

#### **Studio 1: la chemioembolizzazione nei pazienti con nodulo singolo di epatocarcinoma**

Per portare a termine il progetto di studio, sono stati rivisti 902 pazienti con HCC, trattati mediante TACE tra Gennaio 2004 e Dicembre 2009 presso l'Unità Operativa di Radiologia del Policlinico S. Orsola-Malpighi di Bologna. L'analisi del follow-up è stata valutata fino ad Maggio 2012 in modo da avere un periodo di tempo di osservazione di almeno 30 mesi per ciascun paziente.

I pazienti inclusi nello studio dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione:

- diagnosi di HCC secondo i criteri EASL/AASLD [82, 97];
- nodulo singolo di HCC senza invasione vascolare o metastasi a distanza;
- funzione epatica Child-Pugh A o B;
- performance status 0 o 1;
- primo trattamento dell'HCC eseguito mediante TACE tra Gennaio 2004 e Dicembre 2009;
- trattamento TACE convenzionale.

I criteri di esclusione dallo studio erano i seguenti:

- assenza di almeno un controllo radiologico (TC e/o RM) prima e dopo il trattamento;
- noduli multipli di HCC;
- invasione vascolare o metastasi a distanza;
- funzione epatica compromessa (Child-Pugh C);
- performance status  $\geq 2$ ;

- pregressi trattamenti dell'HCC;
- trattamento TACE non convenzionale (DC-Beads, trattamenti misti o di radioembolizzazione).

Il gruppo di studio finale comprendeva 148 pazienti con HCC singolo sottoposti a primo trattamento di TACE convenzionale.

### **Studio 2: trattamenti ripetuti di chemioembolizzazione**

Per portare a termine il progetto di studio, sono stati rivisti 265 pazienti con HCC trattati mediante TACE tra Gennaio 2004 e il Dicembre 2005 presso l'Unità Operativa di Radiologia del Policlinico S. Orsola-Malpighi di Bologna. L'analisi del follow-up è stata valutata fino ad Aprile 2011 in modo da avere un periodo di tempo abbastanza lungo per valutare l'eventuale ritrattamento del paziente con uno o più cicli di TACE e per valutare adeguatamente la sopravvivenza.

I pazienti inclusi nello studio dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione:

- diagnosi di HCC secondo i criteri EASL [97];
- primo trattamento TACE tra il Gennaio 2004 e il Dicembre 2005;
- trattamento TACE convenzionale.

I criteri di esclusione dallo studio erano i seguenti:

- assenza di dati clinici sufficienti;
- metastasi a distanza;
- pregressi trattamenti TACE;
- trattamento TACE non convenzionale (DC-Beads, trattamenti misti o di radioembolizzazione).

Il gruppo di studio finale comprendeva 151 pazienti con HCC sottoposti a primo trattamento TACE.

### **Studio 3: la chemioembolizzazione nei pazienti in lista per trapianto di fegato**

Per portare a termine il progetto di studio, sono stati rivisti 151 pazienti con HCC trattati mediante TACE tra Gennaio 2002 e il Dicembre 2009 presso l'Unità Operativa di Radiologia della Mayo Clinic di Rochester prima di essere sottoposti a trapianto di fegato. L'analisi del follow-up è stata

valutata fino a Maggio 2012 in modo da avere un periodo di tempo abbastanza lungo per valutare l'eventuale ritrattamento del paziente con uno o più TACE e per valutare adeguatamente la sopravvivenza.

I pazienti inclusi nello studio dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione:

- diagnosi di HCC secondo i criteri EASL/AASLD [82, 97];
- primo trattamento dell'HCC eseguito mediante TACE tra il Gennaio 2002 e il Dicembre 2009 come ponte al trapianto o in casi selezionati come downstaging al trapianto.

I criteri specifici di esclusione dallo studio erano i seguenti:

- diagnosi istologica su fegato espuntato di tumori con istotipo differente dall'HCC;
- nessun trattamento dell'HCC prima del trapianto;
- trattamento dell'HCC diverso dalla TACE.

Il gruppo di studio finale comprendeva 115 pazienti con HCC sottoposti a primo trattamento TACE e successivamente sottoposti a trapianto di fegato.

### **3.2 Diagnosi di epatocarcinoma**

La diagnosi di HCC si era attenuta alle linee guida EASL e/o AALSD vigenti durante il periodo in studio [82, 97]. La diagnosi di HCC è stata posta qualora una lesione focale epatica mostrasse i comportamenti contrastografici tipici per HCC alle tecniche di imaging dinamico. In alcuni casi la diagnosi di HCC ha richiesto di biopsia ecoguidata delle lesione focale.

### **3.3 Trattamento di chemioembolizzazione**

#### **Indicazione**

Secondo le linee guida internazionali, il trattamento di chemioembolizzazione è il trattamento di scelta nei pazienti in stadio tumorale intermedio (BCLC-B) con HCC multinodulare in assenza di sintomi, invasione vascolare o metastasi extraepatiche [11, 12].

A tutt'oggi però manca un consenso unanime circa i requisiti ideali del paziente da sottoporre a TACE [68] soprattutto per quanto riguarda le caratteristiche tumorali, la funzione epatica e le condizioni cliniche del paziente. In particolare, manca evidenza scientifica dell'efficacia della TACE in particolari sottogruppi di pazienti come quelli con nodulo singolo di HCC, con funzione epatica parzialmente compromessa (pazienti in CPT-B), nei pazienti con trombosi portale non neoplastica o con performance status compromesso. In tali pazienti, la TACE viene più o meno comunemente eseguita nella pratica clinica seppur al di fuori delle raccomandazioni delle linee guida [98].

Nel nostro centro (studio 1 e 2) così come nel centro americano della Mayo Clinic (studio 3), il trattamento dell'HCC si è basato sullo stadio tumorale di BCLC [17] anche se la decisione terapeutica per ciascun paziente è stata concordata in seduta collegiale durante un meeting multidisciplinare plurispecialistico. Come riportato nelle linee guida, infatti, la strategia terapeutica migliore per ogni paziente deve basarsi, oltre che sullo stadio di BCLC, dal contesto clinico del paziente [82].

L'allocazione al trattamento dell'HCC nei pazienti inclusi negli studi riportati, è stata eseguita in accordo con quanto raccomandato dalle linee guida europee e americane [11, 12]. In particolare:

- i pazienti con HCC singolo sono stati valutati in primis per trattamenti curativi e, qualora non fattibili (a causa della dimensione del tumore, della sua localizzazione, delle difficoltà tecniche, della funzione epatica compromessa, della presenza di ipertensione portale, della presenza di comorbidità

e dello specifico consenso del paziente alla procedura), sono stati indirizzati a trattamento di chemioembolizzazione;

- i pazienti con 2-3 noduli di HCC  $\leq 3$  cm ciascuno, classificabili nello stadio precoce di BCLC, sono stati anch'essi valutati in primis per trattamenti curativi e, qualora non fattibili, per trattamento di chemioembolizzazione;

- pazienti con 2-3 noduli  $>3$  cm o con più di 3 noduli in assenza di sintomi, invasione vascolare o metastasi a distanza (classificabili all'interno dello stadio intermedio di BCLC), sono stati indirizzati a TACE che, secondo le linee guida, è il trattamento di scelta in questa classe di pazienti [11, 12].

Nel nostro centro così come nel centro della Mayo Clinic, un numero selezionato di pazienti con tumore inizialmente poco al di fuori dei criteri di Milano senza altre controindicazioni al trapianto, è stato indirizzato a trapianto di fegato dopo evidenza di regressione tumorale all'interno dei criteri di trapiantabilità a seguito di trattamenti locoregionali dell'HCC (downstaging). Il protocollo di downstaging è in vigore nel nostro centro dal 2003 [77].

I pazienti con tumore all'interno dei criteri di Milano in lista per trapianto di fegato, sono stati frequentemente sottoposti a trattamento dell'HCC (più frequentemente a TACE) come terapia ponte (bridge) al trapianto con lo scopo di ridurre la crescita tumorale e di conseguenza anche la possibilità di uscire dalla lista d'attesa (dropout) [99].

### **Protocollo di chemioembolizzazione**

Il trattamento TACE è stato eseguito come da protocollo adottato dal centro in cui si svolgeva la procedura. In particolare, il protocollo adottato dal Policlinico Sant'Orsola Malpighi di Bologna (studio 1 e 2) era diverso da quello adottato alla Mayo Clinic (studio 3).

#### *Protocollo adottato dal Policlinico Sant'Orsola Malpighi di Bologna*

Prima del trattamento TACE, ogni paziente è stato sottoposto ad accurata valutazione clinica, di laboratorio e a stadiazione della malattia tumorale. Al momento dell'ingresso in reparto, è stato

anche registrato l'ECOG performance status [100], calcolato sulla base dell'evidenza di dipendenza del paziente nelle attività della vita quotidiana (ADL). Il PS è largamente utilizzato nella pratica oncologica e la sua valutazione serve per identificare la presenza di sintomi clinici correlati alla malattia neoplastica. Quando però il PS viene applicato ai pazienti con HCC, è necessario tenere conto anche della presenza della cirrosi epatica che può causare sintomi clinici indipendentemente dalla presenza del tumore. Sfortunatamente il PS non è tuttavia in grado di distinguere l'origine della sintomatologia che può quindi essere sia tumore che cirrosi-relata. Secondo la classificazione di BCLC, il paziente con HCC e dipendenza nelle ADL (compromissione del PS) ricade nello stadio tumorale avanzato (BCLC-C) o terminale (BCLC-D) a seconda della gravità della sintomatologia [16] ed in maniera indipendente dalla causa dei sintomi. Per lo scopo degli studi riportati, i pazienti con PS, anche solo parzialmente compromesso, sono stati classificati secondo la classificazione di BCLC [16].

Dal punto di vista tecnico, la TACE convenzionale è stata eseguita in più fasi:

- mediante accesso femorale o brachiale si eseguiva angiografia del tripode celiaco e dell'arteria mesenterica superiore per lo studio della vascolarizzazione epatica, l'individuazione di eventuali varianti anatomiche e l'identificazione di noduli ipervascolarizzati riferibili ad HCC;
- utilizzando un microcatetere flessibile (2.7-2.8 Fr Progreat™ Terumo or Renegade™ Hi-flo Boston Scientific) fatto passare attraverso il catetere angiografico (4 Fr), si eseguiva l'iniezione intrarteriosa selettiva nel ramo epatico afferente alla/e lesione/i di HCC (ramo destro, sinistro o segmentario) di una miscela rappresentata da un chemioterapico (Epirubicin®, Pfizer) fluidificato con olio iodato (Lipiodol® Guerbet) (l'iniezione avveniva sotto guida fluoroscopia per verificare la corretta distribuzione della miscela senza fughe verso rami extraepatici o verso l'arteria cistica);
- successiva iniezione di materiale embolizzante, generalmente Spongel (Gelitaspongel®), fino a che non si evidenziasse completo blocco del flusso dei vasi afferenti alla lesione;

- rimozione del catetere e dell'introduttore angiografico al termine della procedura e tamponamento del punto di accesso.

La quantità di Lipiodol (10-25 mL) ed Epirubicina (45-75 mg) somministrata era diversa tra i vari pazienti e dipendeva dalla grandezza della lesione oggetto di trattamento.

La procedura è stata eseguita con cateterismo il più selettivo possibile. La tecnica lobare è stata eseguita in caso di nodulo vascolarizzato da multiple afferenze o nel caso in cui la cateterizzazione selettiva/superselettiva non fosse fattibile. La tecnica lobare prevedeva l'iniezione del materiale chemioembolizzante a livello del ramo epatico destro o sinistro con conseguente maggiore estensione dell'area trattata. In alcuni casi il radiologo era consapevole di non potere ottenere una necrosi tumorale completa con un solo ciclo di trattamento a causa della multifocalità del tumore o per difficoltà tecniche procedurali. In questo caso, al termine della prima procedura, veniva programmata un'ulteriore seduta di completamento entro 1 mese dal primo. Per lo scopo degli studi riportati, il trattamento di completamento, qualora effettuato con tecnica di chemioembolizzazione, è stato considerato come un unico trattamento insieme alla prima seduta TACE.

Dopo il trattamento, i pazienti sono stati valutati clinicamente, sottoposti ad esami di laboratorio ed esame ecografico la mattina successiva al trattamento per escludere la comparsa di complicanze o scompenso epatico.

La risposta al trattamento è stata valutata tramite TC (o meno frequentemente RM) ad un mese di distanza dalla TACE. Per lo scopo degli studi riportati, la risposta al trattamento è stata ricostruita a posteriori secondo i criteri mRECIST [78] visionando sia il referto dell'esame radiologico che, nei casi in cui non venisse documentata risposta completa (CR), le immagini dell'esame. La risposta al trattamento è stata quindi valutata sulla base del grado di enhancement vascolare durante la fase arteriosa alle tecniche di imaging dinamico (TC e RM) così che le aree di enhancement tumorale

sono state considerate vitali mentre le aree senza enhancement sono state considerate necrotiche [78].

La risposta radiologica al trattamento è stata quindi categorizzata come:

- risposta completa (CR, complete response) in caso di completa scomparsa di enhancement arterioso intralesionale;
- risposta parziale (PR, partial response) in caso di riduzione di almeno il 30% della somma dei diametri delle lesioni con enhancement con riferimento alla somma base dei diametri delle lesioni attive prima del trattamento;
- malattia in progressione (PD, progressive disease) in caso di aumento di almeno il 20% della somma dei diametri delle lesioni con enhancement con riferimento al più piccolo valore somma dei diametri delle lesioni attive prima del trattamento o la comparsa di una o più lesioni;
- malattia stabile (SD, stable disease) in tutti gli altri casi.

In caso di risposta completa dopo primo trattamento TACE, è stata riportata l'eventuale insorgenza di recidiva durante il follow-up mediante TC o RM eseguite ogni 3-6 mesi.

Nello studio 1 è stato valutato un singolo trattamento TACE mentre nello studio 2 sono stati presi in considerazione trattamenti multipli di TACE (fino ad un massimo di 3 trattamenti), eseguiti sia per recidiva dopo risposta completa che per persistenza di malattia dopo pregresso trattamento (risposta incompleta).

#### *Protocollo adottato dalla Mayo Clinic*

Il protocollo di chemoembolizzazione adottato dalla Mayo Clinic differiva principalmente per:

- composizione del materiale chemoembolizzante utilizzato: la miscela era composta da 10 mg di mitomicina, 50 mg di cisplatino, 50 mg di doxorubicina e particelle di polivinil alcol di 250-355  $\mu\text{m}$  e 10 mL di contrasto;
- intervallo di tempo per la valutazione della risposta al trattamento: il protocollo della Mayo



Clinic prevedeva l'esecuzione di TC (o meno frequentemente RM) a circa 3 mesi di distanza dal trattamento.

### **3.4 Trapianto di fegato**

Nello studio 3 sono stati presi in considerazione i pazienti sottoposti ad uno o più trattamenti di chemioembolizzazione e successivamente sottoposti a trapianto di fegato.

#### **Indicazione**

In linea con quanto riportato dalle raccomandazioni americane [11, 12], il trapianto di fegato è stato eseguito nei pazienti con estensione tumorale all'interno dei criteri di Milano (1 nodulo  $\leq 5$  cm o 2-3 noduli, ciascuno  $\leq 3$  cm). In un numero limitato di pazienti che non rientrava inizialmente all'interno dei criteri di Milano, il trattamento TACE è stato eseguito con intento di downstaging. La decisione di inserimento in lista trapianto è stata accuratamente presa dopo valutazione multidisciplinare collegiale durante la "liver transplantation selection conference". Dopo l'inserimento in lista per trapianto, i pazienti sono stati attentamente seguiti dal punto di vista clinico, laboratoristico e tumorale con follow-up trimestrale circa variabile in base all'esigenza clinica.

#### **Protocollo trapianto di fegato**

Non appena disponibile un organo compatibile, il paziente veniva chiamato in Ospedale, sottoposto ad esami di laboratorio e preparato per l'intervento. Durante la procedura chirurgica è stata routinariamente eseguita anche un'adeguata esplorazione della cavità addominale ed eventualmente anche biopsia di linfonodi sospetti. Nei giorni successivi al trapianto, il paziente veniva sottoposto ad esami di laboratorio ed ecografie addominali per escludere la comparsa di complicanze.

Dopo trapianto di fegato, il fegato espiantato è stato sottoposto ad analisi istologica e le caratteristiche tumorali quali la localizzazione del tumore, le dimensioni massime del tumore, il tipo

di margini, il grado istologico secondo Edmondson e Steiner [101], la necrosi tumorale, la presenza di noduli satellite e l'invasione vascolare sono state adeguatamente valutate e riportate. Per lo scopo dello studio sono state riportate sia le caratteristiche istologiche di ogni singolo nodulo che, nei pazienti con noduli multipli, le caratteristiche istologiche peggiori tra quelle riscontrate a carico dei noduli per ciascun paziente.

Dopo il trapianto di fegato tutti i pazienti sono stati sottoposti a follow-up radiologico per valutare l'eventuale comparsa di recidiva sia locale che a distanza. Nel primo anno dopo il trapianto i controlli sono stati eseguiti ogni 4 mesi circa, al secondo anno ogni 6 mesi e poi sulla base dell'esigenza clinica, parallelamente all'aumentato rischio di recidiva nei primi due anni dopo il trapianto di fegato.

### **3.5 Metodi statistici**

Le variabili continue sono state riportate come mediana e range e le differenze tra i gruppi sono state calcolate con test non parametrici (Mann-Whitney and Wilcoxon). Le variabili categoriche sono state confrontate con il test di  $\chi^2$ . Tutte le variabili sono state considerate significative per  $P < 0.05$ . La sopravvivenza globale è stata definita come intervallo tra il primo trattamento TACE e la morte o la fine del follow-up negli studi 1 e 2 e come intervallo tra il trapianto e la morte o la fine del follow-up nello studio 3. L'analisi univariata di sopravvivenza è stata eseguita per valutare i fattori predittivi di sopravvivenza. Le curve sono state costruite secondo il metodo di Kaplan-Meier e confrontate con il test di Log rank. L'analisi multivariata di sopravvivenza è stata eseguita con la regressione di Cox per valutare la presenza di fattori predittivi indipendenti di sopravvivenza.

L'analisi dei dati è stata eseguita con il software statistico SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 1999).

## **4. RISULTATI E RIASSUNTO DEGLI STUDI**

### **4.1 Studio 1: TACE performed in patients with single nodules of hepatocellular carcinoma**

#### **Premesse e scopo dello studio**

Il trattamento TACE è raccomandato dalle linee guida internazionali come trattamento di prima linea nei pazienti in stadio tumorale intermedio (BCLC-B) con tumore multinodulare in assenza di sintomi, invasione vascolare o metastasi a distanza [11, 12].

Secondo le raccomandazioni internazionali, la chemioembolizzazione non è quindi il trattamento di prima linea nei pazienti con nodulo singolo di HCC che devono in primis essere valutati per trattamenti curativi quali il trapianto di fegato, la resezione o le tecniche di ablazione percutanea. Tuttavia, nella pratica clinica i pazienti con nodulo singolo di HCC vengono frequentemente sottoposti a trattamento TACE rappresentando circa la metà del totale dei pazienti sottoposti a chemioembolizzazione [78, 102-104]. L'efficacia del trattamento TACE in questa classe di pazienti è stata scarsamente valutata [88, 102, 105] ed un accurato confronto con i dati riportati in letteratura è particolarmente difficile a causa della grande eterogeneità del protocollo TACE adottato nei vari centri.

L'efficacia della TACE rimane ad oggi controversa anche nei pazienti con trombosi portale non neoplastica e con compromissione del performance status dovuto alla cirrosi piuttosto che all'estensione tumorale. La mancanza di adeguate informazioni è dovuta al fatto che tali caratteristiche rappresentano spesso un criterio di esclusione dagli studi clinici con conseguente mancanza di evidenza scientifica dell'efficacia della TACE in questa classe di pazienti. [68].

Lo scopo dello studio 1 era quindi quello di valutare la sopravvivenza e le variabili cliniche

predittive di sopravvivenza, incluse la presenza di trombosi portale non neoplastica ed una lieve compromissione del performance status (PS), nei pazienti sottoposti a TACE per HCC singolo. Gli obiettivi secondari erano la valutazione di (1) risposta radiologica ad 1 mese, (2) tasso di recidiva locale e a distanza, (3) tempo alla recidiva (4) impatto della TACE sulla funzione epatica.

### **Risultati**

Dopo l'esclusione dei pazienti sottoposti a trapianto di fegato, che erano generalmente quelli con sopravvivenza maggiore, la sopravvivenza mediana dei pazienti era di 36.0 mesi con tassi ad 1, 3 e 5 anni dell' 85%, 50% e 26% rispettivamente. La presenza di trombosi portale non neoplastica, sia segmentaria che lobare non si è dimostrata essere predittiva di peggiore outcome all'analisi univariata. Anche la presenza di parziale compromissione del performance status (PS-1) in pazienti con tumore all'interno dei criteri di Milano (diametro  $\leq 5$  cm) non è risultato essere associato a prognosi peggiore. All'analisi multivariata i fattori associati a prognosi peggiore sono risultati essere: (1) diametro tumorale  $>5$  cm (al di fuori dei criteri di Milano) ( $P=0.015$ , OR=3.0), (2) mancanza di risposta radiologica completa ( $P=0.006$ , OR=2.3), (3) presenza di ascite ( $P=0.021$ , OR=2.3), (4) AFP  $\geq 14.5$  ng/mL ( $P=0.007$ , OR=2.1) (5) incremento post-TACE di  $\geq 1$  punto di MELD ( $P=0.037$ , OR=2.0).

Sul totale di 148 pazienti oggetti di studio, 95 (48%) avevano ottenuto una risposta radiologica completa e 39 (26%) una risposta radiologica parziale dopo trattamento TACE. Il tasso di recidiva dopo risposta completa era del 27%, 42% e 65% rispettivamente a 6, 12 e 24 mesi dal trattamento. Dopo il trattamento, 56 (38%) pazienti sono andati incontro ad un aumento del Child-Pugh score  $\geq 1$  punto e 93 (63%) ad un aumento del MELD  $\geq 1$  punto.

## **4.2 Studio 2: Response rate and clinical outcome of HCC after first and repeated cTACE performed “on demand”**

### **Premesse e scopo dello studio**

Alcuni studi dimostrano che multipli trattamenti TACE possono massimizzare la risposta tumorale [106] ed aumentare potenzialmente la sopravvivenza post-trattamento [106, 107]. Trattamenti multipli di chemioembolizzazione possono però essere associati a complicanze post-procedurali, prima fra tutte lo scompenso della funzione epatica già più o meno compromessa nei soggetti con cirrosi epatica [83, 108]. Il vantaggio della massimizzazione della risposta tumorale dopo cicli ripetuti di TACE può così annullarsi per il peggioramento della funzione epatica [98]. Rimane quindi ad oggi ancora non chiaro quale sia il numero ottimale di ritrattamenti TACE prima di passare ad un altro trattamento o smettere di trattare il paziente. Questo tema è particolarmente attuale anche in considerazione dell'attuale possibilità di offrire ai pazienti trattamenti alternativi quali la radioembolizzazione [109, 110] o il sorafenib [23, 111].

Anche l'intervallo di tempo per la ripetizione del trattamento rimane ad oggi argomento di dibattito. Il trattamento TACE può essere infatti ripetuto sia ad intervalli di tempo regolari che “on demand” in caso di risposta incompleta risposta o recidiva dopo risposta completa al trattamento precedente. Nonostante non ci siano dati definitivi sulla superiorità di una o dell'altra metodica, la seconda tecnica sembra essere la più razionale dal punto di vista della tollerabilità per il paziente, della minore incidenza di complicanze e scompenso epatico post-trattamento [68, 98, 112].

Sulla base di queste premesse, lo scopo dello studio 2 era quello di valutare l'impatto clinico di multiple chemioembolizzazioni eseguite “on demand” sulla storia naturale dell'HCC in termini di (1) tasso di risposta al primo, secondo e terzo trattamento, (2) tasso di recidiva e time to recurrence dopo

primo e secondo trattamento TACE con risposta completa, (3) strategie di ritrattamento e (4) sopravvivenza globale post-trattamento.

### **Risultati**

Sul totale dei 151 pazienti in studio, 72 pazienti (48%) avevano mostrato una risposta radiologica completa (CR) dopo il primo trattamento TACE, 34/60 (52%) dopo il secondo e 12/22 (55%) dopo il terzo. Il tasso di recidiva dopo risposta completa era del 37% a 6 mesi e del 61% a 12 mesi dopo il primo trattamento e del 40% a 6 mesi e del 59% a 12 mesi dopo il secondo trattamento.

Sul totale dei 94 pazienti con risposta incompleta o recidiva dopo risposta completa al primo trattamento, 60 pazienti (64%) sono stati sottoposti ad un secondo trattamento TACE. Sul totale di 84 pazienti con risposta incompleta o recidiva dopo risposta completa al secondo trattamento, 22 pazienti (26%) sono stati sottoposti ad un terzo trattamento TACE.

Sul totale dei 64 pazienti con risposta incompleta dopo il primo trattamento TACE, 27 pazienti (42%) non sono stati sottoposti a nessun altro tipo di trattamento nonostante l'assenza di trombosi portale o metastasi extraepatiche. Il tasso scende al 10% (5/52) nei pazienti trattati per recidiva dopo risposta completa al primo trattamento.

La mediana di sopravvivenza della popolazione generale era 32.0 mesi e, dopo l'esclusione dei pazienti sottoposti a trapianto di fegato, diventava 25.0 mesi.

All'analisi multivariata i fattori predittivi indipendenti di prognosi peggiore al momento della prima TACE sono risultati essere (1) bilirubina >1.3 mg/dL ( $P=0.007$ , OR=2.3), (2) mancanza di risposta completa al trattamento ( $P=0.015$ , OR=2.1) e (3) AFP>200 ng/mL ( $P=0.018$ , OR=1.9).

### **4.3 Studio 3: The impact of multiple TACE treatments on HCC for patients awaiting liver transplantation**

#### **Premesse e scopo dello studio**

Il trapianto di fegato per HCC offre eccellenti tassi di sopravvivenza (fino al 70% a 5 anni) e bassi tassi di recidiva post-trapianto (meno del 20% a 5 anni) qualora eseguito in pazienti con nodulo singolo  $\leq 5$  cm e fino a 3 noduli ciascuno  $\leq 3$  cm (criteri di Milano) [40]. La selezione dei pazienti da sottoporre a trapianto di fegato è di cruciale importanza in quanto la risorsa di organi è limitata ed il trapianto deve essere riservato a quei pazienti che abbiano la migliore prospettiva di sopravvivenza post-trapianto. La scarsità di organi disponibili ha causato un inevitabile allungamento della lista d'attesa per trapianto di fegato ed un conseguente aumento del rischio di uscita dalla lista attiva per trapianto (dropout) per la progressione del tumore al di fuori dei criteri di trapiantabilità [46, 113]. Il rischio di dropout dalla lista sembra essere infatti associato a prospettiva d'attesa per trapianto superiore a 3-6 mesi e diametro del tumore  $> 3$  cm [99]. Per questo motivo vengono frequentemente eseguiti trattamenti locoregionali neoadiuvanti (trattamenti bridge) nei pazienti con HCC in lista per trapianto di fegato. Tali trattamenti sembrano appropriati nei pazienti con nodulo singolo di 2-5 cm o meno di 3 noduli ciascuno  $\leq 3$  cm con una prospettiva di attesa in lista superiore a 6 mesi [46]. Ci sono inoltre evidenze che sostengono l'efficacia dei trattamenti locoregionali neoadiuvanti tra cui la TACE anche nel miglioramento dell'outcome post-trapianto.

La TACE è il trattamento neoadiuvante dei pazienti in lista per trapianto di fegato più frequentemente utilizzato sia per ridurre il rischio di dropout che per migliorare la sopravvivenza post-trapianto anche se non ci sono studi prospettici che ne dimostrino l'efficacia [45]. Alcuni studi clinici hanno dimostrato che multiple sessioni di trattamento TACE non sono correlate con un aumentato rischio di eventi avversi o complicanze durante il trapianto [99]. Trattamenti ripetuti di

TACE potrebbero quindi essere impiegati nei pazienti lista per trapianto di fegato per cercare di raggiungere quantomeno una necrosi tumorale completa [99] anche se i risultati degli studi che hanno valutato l'impatto della necrosi tumorale sulla recidiva post-trapianto sono discordanti [114, 115]. Sulla base delle nostre conoscenze non esistono in letteratura lavori che valutino l'impatto di trattamenti multipli di TACE vs. singoli sulla necrosi tumorale, la recidiva e la sopravvivenza dopo trapianto.

Lo scopo dello studio 3 era quindi quello di valutare l'impatto di trattamenti multipli di TACE sulla (1) necrosi tumorale, (2) recidiva e (3) sopravvivenza globale post-trapianto. Obiettivo secondario era anche quello di valutare l'impatto della necrosi tumorale sulla recidiva post-trapianto.

### **Risultati**

Multipli trattamenti TACE non sono risultati predittivi di necrosi all'analisi univariata mentre le lesioni singole e quelle >3 cm sono emerse essere quelle che sviluppavano con maggiore possibilità una necrosi completa o parziale all'istologico del fegato espantato ( $P=0.002$  e  $P=0.023$  rispettivamente).

Dopo una mediana di follow-up di 57 mesi (range 0-123), 17/115 pazienti (15%) avevano sviluppato recidiva tumorale dopo trapianto di fegato. La sopravvivenza libera da malattia era del 95%, 94% e 88% a 1, 3 e 5 anni rispettivamente. L'intervallo di tempo tra la diagnosi di HCC ed il trapianto di fegato è risultato essere predittivo di recidiva all'analisi univariata (il 23% dei pazienti con tempo d'attesa in lista  $\leq 6$  mesi aveva recidivato vs. il 7% dei pazienti con tempo d'attesa  $> 6$  mesi,  $P=0.013$ ) ed è rimasto fattore predittivo indipendente all'analisi multivariata ( $P=0.050$ , OR=4.4). Il trattamento singolo di TACE, risultato significativo all'analisi univariata, non si è confermato tale all'analisi multivariata. Questo fatto è da ascrivere con molta probabilità al fatto che i pazienti sottoposti a singolo trattamento TACE avevano per la maggior parte tempo d'attesa in lista  $\leq 6$  mesi ( $P<0.001$ ). Gli altri fattori predittivi indipendenti di recidiva all'analisi multivariata sono risultati essere: (1)



diametro tumorale >2.5 cm prima della TACE ( $P=0.033$ , OR=14.1), (2) AFP >8.7 ng/mL prima del trapianto ( $P=0.028$ , OR=5.2) e (3) invasione microvascolare all'espianto ( $P=0.033$ , OR=6.9). Valutando l'impatto della necrosi sulla recidiva tumorale non è stata identificata correlazione statisticamente significativa.

La sopravvivenza media dopo trapianto di fegato era di 101.5 mesi (95% C.I. 93.9-109.2). I fattori predittivi indipendenti di peggiore sopravvivenza all'analisi multivariata sono risultati essere: (1) diametro tumorale >2.5 cm prima della TACE ( $P=0.032$ , OR=3.3), (2) tumore multinodulare all'espianto ( $P=0.005$ , OR=10.4), (3) tumore al di fuori dei criteri di Milano all'espianto ( $P=0.048$ , OR=3.7) e (4) invasione vascolare all'espianto ( $P<0.001$ , OR=14.0).

## 5. DISCUSSIONE GENERALE

La chemioembolizzazione è uno dei trattamenti locoregionali più largamente utilizzati nel trattamento dell'epatocarcinoma insorto su cirrosi [11]. A tutt'oggi però rimangono ancora irrisolte alcune importanti controversie riguardanti la TACE [68, 103], tra cui:

- indicazioni al trattamento;
- trattamenti multipli e schema di ritrattamento;
- impiego della chemioembolizzazione nel trattamento dei pazienti candidabili a trapianto di fegato.

I tre studi riportati nella presente tesi hanno analizzato questi argomenti.

### **Indicazioni al trattamento di chemioembolizzazione**

Secondo le linee guida internazionali, il candidato ideale per la TACE è il paziente in stadio tumorale intermedio (BCLC-B) con HCC multinodulare in assenza di sintomi, invasione vascolare o metastasi extraepatiche [11, 12]. Non c'è tuttavia ancora un consenso unanime circa le caratteristiche ideali del paziente da sottoporre a trattamento [68] in termini di estensione tumorale, della severità della sottostante malattia epatica e delle condizioni cliniche del paziente. Ciò è dovuto al fatto che la maggior parte degli studi che hanno valutato l'efficacia del trattamento di chemioembolizzazione sono stati eseguiti su un limitato gruppo di pazienti, per la maggior parte con malattia multinodulare, funzione epatica ben conservata (generalmente pazienti in CPT-A, escludendo nella maggior parte dei casi i pazienti con CPT-C,) [116] senza trombosi portale o compromissione del performance status [68]. A causa degli stretti criteri di inclusione dei pazienti nei vari studi, non c'è quindi ad oggi evidenza di efficacia della TACE nei pazienti con nodulo singolo, con funzione epatica CPT-B, con trombosi portale o con performance status compromesso. D'altra parte però la TACE viene

comunemente eseguita nei pazienti al di fuori delle raccomandazioni delle linee guida, basti pensare alla considerevole percentuale di pazienti che, pur avendo nodulo singolo, viene routinariamente sottoposta a trattamento TACE [98].

*La chemioembolizzazione nei pazienti con nodulo singolo di epatocarcinoma*

Molto poco si sa sull'outcome dei pazienti con HCC in stadio precoce [105] ed in particolare dei pazienti con nodulo singolo sottoposti a trattamento TACE. È stato più volte riportato che i pazienti con nodulo singolo rappresentano circa la metà del totale dei pazienti sottoposti a TACE [78, 102, 103] ma pochissimi studi valutano l'efficacia del trattamento TACE in questa classe di pazienti [88, 102]. Per di più, un accurato confronto con i dati riportati in letteratura è particolarmente difficile a causa della grande eterogeneità della procedura tecnica, dei criteri usati per la valutazione della risposta radiologica e dell'esperienza del centro radiologico di riferimento.

Per questo motivo, nello studio 1 si è focalizzata l'attenzione sul gruppo di pazienti con nodulo singolo di HCC, valutando l'efficacia del trattamento in termini di sopravvivenza, risposta tumorale, recidiva e peggioramento della funzione epatica dopo trattamento. Dallo studio sono emersi ottimi risultati in termini di outcome post-trattamento con sopravvivenza mediana di 36.0 mesi e tassi di sopravvivenza ad 1, 3 e 5 anni di 85%, 59% e 26% rispettivamente. La sopravvivenza dei pazienti con nodulo singolo trattati con TACE è risultata essere notevolmente migliore di quella dei pazienti riportati nella metanalisi di Llovet (mediana di sopravvivenza di circa 20.0 mesi) che comprendeva soprattutto pazienti con HCC multifocale (>95% dei casi) e migliore anche di quella riportata nello studio 2 dove circa la metà dei pazienti aveva HCC multifocale (sopravvivenza mediana di 25.0 mesi). Il trattamento TACE si può quindi considerare una valida opzione terapeutica nei pazienti con HCC singolo non candidabili a trattamenti curativi.

Come atteso, anche il tasso di risposta completa (64%) e la recidiva post-trattamento (27% a 6 mesi e 42% ad 1 anno) sono risultati essere migliori rispetto a quelli riportati nello studio 2 (CR 48% e tasso

di recidiva del 37% e 61% a 6 mesi ed 1 anno rispettivamente), sottolineando ancora una volta gli ottimi risultati del trattamento TACE nei pazienti selezionati per nodulo singolo.

Valutando inoltre i fattori predittivi di sopravvivenza in questo gruppo di pazienti selezionati, è emerso che, il diametro tumorale  $>5$  cm (al di fuori dei MC), l'assenza di risposta radiologica completa, AFP  $\geq 14.5$  ng/mL, la presenza di ascite prima della TACE ed un incremento di  $\geq 1$  punto di MELD ad un giorno dal trattamento, erano associati in maniera statisticamente significativa a minor aspettativa di vita all'analisi multivariata. Questi dati sottolineano come la sopravvivenza dei pazienti con HCC su cirrosi sia condizionata non solo dall'estensione tumorale (come rafforzato dai risultati dello studio) ma anche dalla sottostante funzione epatica che deve essere accuratamente presa in considerazione prima di eseguire trattamento TACE.

#### *La chemioembolizzazione nei pazienti con trombosi portale*

Anche i pazienti con trombosi portale sono stati frequentemente esclusi dagli studi che hanno valutato l'efficacia del trattamento TACE e, anche per questo gruppo di pazienti, non esiste evidenza di efficacia del trattamento. La trombosi portale è stata per tanto tempo considerata una controindicazione al trattamento TACE per il rischio di scompenso della funzione epatica [117] ma alcuni studi hanno evidenziato che la trombosi portale può non essere considerata una controindicazione alla TACE se eseguita in maniera selettiva/superselettiva [68]. Non ci sono però studi che valutino l'impatto della trombosi portale non neoplastica in termini di sopravvivenza post-TACE e, in considerazione dell'elevata incidenza di trombosi portale nei pazienti con cirrosi ed HCC, il tema è di estrema importanza. Nel nostro centro, i pazienti con trombosi portale non neoplastica vengono routinariamente sottoposti a trattamento TACE se presentano una buona funzione epatica, limitata espansione tumorale e fattibilità tecnica di trattamento selettivo/superselettivo. Per questo motivo, nello studio 1 è stato analizzato l'impatto che la trombosi portale non neoplastica aveva sulla sopravvivenza dei pazienti trattati con TACE. Dallo studio è

emerso che la presenza di trombosi non neoplastica, sia segmentaria che lobare, non ha impatto statistico sull'outcome post-TACE dei pazienti. Risulta dunque imperativo eseguire un'accurata diagnosi dell'origine della trombosi portale con tecniche di imaging appropriate ed eventualmente associate tra loro, per garantire la possibilità ai pazienti con trombosi portale non neoplastica di essere adeguatamente stadiati e beneficiare del trattamento TACE.

*La chemioembolizzazione nei pazienti con performance status compromesso*

La stadiazione tumorale di BCLC [17] include anche la valutazione dell'indipendenza del paziente nelle attività della vita quotidiana tramite l'ECOG performance status [100] o indice di Karnofsky. Il performance status è sempre stato considerato fattore predittivo di sopravvivenza nei pazienti con HCC [20] in quanto indice della presenza di sintomi clinici legati al tumore [100]. Nella pratica clinica però, è particolarmente difficile distinguere tra limitazione funzionale dovuta alla presenza del tumore da quella sostenuta dalla cirrosi epatica. Secondo la classificazione di BCLC, tuttavia, la sola presenza di sintomi funzionali fa sì che il paziente venga classificato nello stadio tumorale avanzato (BCLC-C) o terminale (BCLC-D) [17] indipendentemente dall'origine della compromissione del PS con conseguenti possibili ripercussioni sull'indicazione terapeutica. I pazienti con crescita tumorale contenuta (come i pazienti con nodulo singolo) e limitazione funzionale lieve ( $PS \leq 2$ ) non dovrebbero avere sintomi correlati al tumore [16] ma piuttosto sintomi legati alla sottostante cirrosi epatica. Sulla base di queste premesse, nello studio 1 è stato valutato l'impatto che una lieve compromissione del performance status (PS-1) molto verosimilmente legata alla cirrosi epatica, potesse avere sulla sopravvivenza dei pazienti con nodulo singolo sottoposti a trattamento TACE. La selezione dei pazienti con PS-1 e con nodulo singolo all'interno dei criteri di Milano ( $\leq 5$  cm) ci ha permesso di identificare quei pazienti con sintomi legati alla cirrosi piuttosto che al tumore. All'analisi univariata di sopravvivenza, il performance status non è risultato essere fattore predittivo di sopravvivenza sottolineando l'importanza di un inquadramento clinico adeguato

del paziente per capire l'origine della compromissione funzionale del paziente e garantire quindi ai pazienti con PS-1 verosimilmente cirrosi-relato di beneficiare del trattamento TACE.

### **Trattamenti multipli di chemioembolizzazione e schema di ritrattamento**

Ci sono una serie di studi che dimostrano che multipli trattamenti TACE possono massimizzare la risposta tumorale [106] ed aumentare potenzialmente la sopravvivenza [106, 107]. D'altra parte però, trattamenti multipli di chemioembolizzazione possono essere associati a complicanze post-procedurali, prima fra tutte lo scompenso della funzione epatica già più o meno compromessa nei soggetti con cirrosi epatica [83, 108]. Il vantaggio ottenuto con cicli ripetuti di TACE sulla necrosi tumorale può così annullarsi con il peggioramento della funzione epatica [98].

Ad oggi rimane ancora oggetto di dibattito quale sia il numero ottimale di ritrattamenti TACE prima di passare ad un altro trattamento o smettere di trattare il paziente e l'intervallo di tempo ottimale tra un trattamento e l'altro. Il ritrattamento mediante TACE del paziente con HCC è un tema particolarmente attuale anche in considerazione della possibilità di offrire ai pazienti trattamenti alternativi quali la radioembolizzazione [109, 110] o il sorafenib [23, 111].

Sulla base di queste premesse, nello studio 2 è stato preso in considerazione l'impatto clinico che multiple chemioembolizzazioni eseguite "on demand" hanno sulla storia naturale dell'HCC.

Dopo un primo trattamento di chemioembolizzazione si sono osservati buoni tassi di risposta completa (circa 50%) anche se un po' inferiori rispetto a quelli riportati nello studio 1 (64%) dove i pazienti avevano singolo HCC. Dopo secondo e terzo trattamento si è mantenuto un buon tasso di CR, osservata nel 55-60% dei pazienti indipendentemente dal fatto che il ritrattamento fosse eseguito per recidiva dopo trattamento con risposta completa o per risposta incompleta. Questo dato sottolinea come, in pazienti adeguatamente selezionati, anche i trattamenti TACE successivi al primo ottengano ottimi tassi di risposta radiologica tumorale sovrapponibili a quelli ottenuti dopo primo trattamento.

Analizzando in numero di pazienti sottoposti a ritrattamento cTACE “on demand” tra tutti i pazienti con potenziale indicazione ad essere ritrattati, si è visto però che la percentuale di pazienti sottoposti a ritrattamento era limitata. I pazienti sottoposti a secondo trattamento “on demand” erano infatti il 64% e quelli sottoposti a terzo trattamento solo il 26%. È inoltre da sottolineare il fatto che dopo primo trattamento TACE, il 42% ed il 5% dei pazienti con recidiva e risposta incompleta al trattamento rispettivamente, non sono stati sottoposti ad ulteriori ritrattamenti di qualsiasi natura. Questo dato può dipendere da più fattori tra cui la fattibilità dei trattamenti percutanei (che può essere limitata nei pazienti con piccole aree di attività tumorale o piccoli noduli non raggiungibili per via percutanea), il possibile scompenso funzionale dopo trattamento (che può aver impedito un successivo ritrattamento) e la progressione della malattia neoplastica (al momento dello studio non erano approvate terapie sistemiche per l’HCC).

Per quanto riguarda lo scompenso funzionale post-trattamento, il rischio di peggioramento della funzione epatica è una delle principali e più temute complicanze del trattamento TACE che può annullare qualsiasi beneficio ottenuto dal trattamento stesso, condizionando in maniera significativa la prognosi del paziente [118]. È quindi opportuno selezionare adeguatamente il paziente che possa beneficiare del trattamento TACE ed i pazienti che dopo un primo trattamento potrebbero beneficiare di trattamenti successivi. Per questo motivo, nello studio 1 è stato analizzato il peggioramento degli esami di laboratorio il giorno dopo il trattamento. Dallo studio è emerso un significativo peggioramento degli esami di laboratorio (albumina, bilirubina, INR e MELD score) il giorno dopo il trattamento e si è visto che il peggioramento del CPT e del MELD  $\geq 1$  punto era statisticamente associato a peggiore prognosi, indipendentemente da successivo ritrattamento. L’identificazione dei pazienti che potrebbero non trovare giovamento da ulteriori trattamenti TACE potrebbe quindi avvalersi in maniera importante anche della valutazione laboratoristica post-trattamento.

Il problema della recidiva tumorale è una delle maggiori complicanze del trattamento TACE,

evidenziato negli studi 1 e 2 dall'elevato tasso di recidiva dopo trattamento e negli studi 2 e 3 dall'elevata percentuale di pazienti sottoposti a multipli trattamenti TACE per evidenza di recidiva post-trattamento. Questo fatto sottolinea ulteriormente la necessità di fare chiarezza riguardo il numero ottimale di ritrattamenti TACE, in quanto frequentemente i pazienti con HCC necessitano di ulteriori trattamenti per comparsa di recidiva.

La mediana di sopravvivenza dei pazienti sottoposti a multipli trattamenti TACE riportati nello studio 2 era di 25.0 mesi con tassi di sopravvivenza a 1 e 2 anni del 70 e 52% rispettivamente.

### **La chemioembolizzazione nei pazienti candidabili a trapianto di fegato**

I trattamenti TACE nei pazienti con HCC in lista per trapianto di fegato possono essere eseguiti con lo scopo di rallentare la progressione tumorale dei pazienti in lista ed eventualmente migliorarne l'outcome post-trapianto [119].

Il rischio di fuoriuscita dalla lista attiva per trapianto (dropout) a causa della progressione del tumore al di fuori dei criteri di trapiantabilità [46, 113] è un problema estremamente attuale a causa della scarsità degli organi disponibili. Per questo motivo i trattamenti locoregionali neoadiuvanti dei pazienti in lista per trapianto (trattamenti bridge) sono frequentemente eseguiti .

La TACE è il trattamento neoadiuvante più frequentemente utilizzato con lo scopo sia di ridurre il rischio di dropout dalla lista che di migliorare la sopravvivenza post-trapianto anche se non ci sono studi prospettici che ne dimostrino l'efficacia [45].

Non ci sono inoltre studi che evidenzino un aumentato rischio di eventi avversi o complicanze durante il trapianto in caso di multipli trattamenti TACE [99] e l'efficacia di trattamenti ripetuti nel paziente in lista per trapianto di fegato non è stata ancora indagata. Per questo motivo, nello studio 3 si è voluto valutare l'impatto di multipli trattamenti TACE sulla necrosi, la recidiva e la sopravvivenza post-trapianto.



Per quanto riguarda la necrosi tumorale, non è stata evidenziata correlazione tra il numero di trattamenti e una migliore risposta tumorale in termini di necrosi all'istologico del fegato espiantato. Valutando la recidiva di HCC nel post-trapianto, si è evidenziato che i pazienti con intervallo di tempo tra la diagnosi di HCC ed il trapianto  $\leq 6$  mesi avevano maggiore possibilità di sviluppare recidiva di HCC nel post-trapianto (il 23% dei pazienti con tempo d'attesa  $\leq 6$  mesi recidivava vs. il 7% dei pazienti che aspettava  $> 6$  mesi,  $P=0.013$ ). Questa variabile è emersa essere anche fattore predittivo indipendente di recidiva all'analisi multivariata ( $P=0.050$ ,  $OR=4.4$ ). Valutando i pazienti sottoposti a trattamento singolo vs. multiplo, all'univariata è emerso che i pazienti sottoposti a trattamento singolo avevano maggiore probabilità di sviluppare recidiva nel post-trapianto ma questo dato non si è confermato all'analisi multivariata a causa molto probabilmente del fatto che i pazienti sottoposti a singolo trattamento avevano generalmente un tempo d'attesa al trapianto  $< 6$  mesi ( $P<0.001$ ). Questi risultati sottolineano come la recidiva post-trapianto dipenda maggiormente dal comportamento biologico del tumore piuttosto che da trattamenti multipli di chemioembolizzazione e, in caso di trapianto precoce (entro 6 mesi dalla diagnosi di HCC) il tumore può non avere il tempo sufficiente per mostrare la sua aggressività biologica. Gli altri fattori predittivi indipendenti di recidiva all'analisi multivariata sono risultati essere il diametro tumorale  $> 2.5$  cm prima della TACE, AFP  $> 8.7$  ng/mL prima del trapianto e la presenza di invasione microvascolare all'esame istologico del fegato espiantato rafforzando ulteriormente il ruolo della biologia tumorale nella recidiva dopo il trapianto. In aggiunta, valutando l'impatto della necrosi sulla recidiva post-trapianto, la necrosi tumorale non si è dimostrata essere fattore predittivo di recidiva post-trapianto. Anche questo risultato non è del tutto inaspettato in quanto anche la necrosi tumorale, così come la recidiva post-trapianto, dipendono probabilmente in maniera più significativa dal comportamento biologico del tumore piuttosto che dal numero di trattamenti eseguiti.

I tassi di sopravvivenza riscontrati nella studio erano di 92%, 88% and 83% ad 1, 3 e 5 anni,

sovrapponibili a quelli riportati da Mazzaferro [40]. All'analisi multivariata, sia le caratteristiche del tumore prima del trattamento (diametro  $>2.5$  cm,  $P=0.032$ , OR=3.3) che le caratteristiche del tumore all'esame istologico del fegato espiantato quali la presenza di multipli noduli ( $P=0.005$ , OR=10.4), il tumore al di fuori dei criteri di Milano ( $P=0.048$ , OR=3.7) e l'invasione microvascolare ( $P<0.001$ , OR=14.0), sono risultate essere predittori indipendenti di sopravvivenza. Il numero di TACE invece non è emerso essere significativamente associato alla sopravvivenza post-trapianto.

## 6. CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

La tesi ha analizzato alcune delle principali controversie riguardanti il trattamento di chemioembolizzazione, quali:

- indicazioni al trattamento: il trattamento TACE viene comunemente eseguito nei pazienti al di fuori delle raccomandazioni delle linee guida tra cui i pazienti con nodulo singolo, i pazienti con trombosi portale e con performance status compromesso. Dallo studio 1 è emerso che il trattamento TACE può essere considerato una valida opzione terapeutica nei pazienti con HCC singolo non candidabili a trattamenti curativi. La TACE può essere inoltre eseguita nei pazienti con trombosi portale non neoplastica e nei pazienti con lieve compromissione del performance status (PS-1) verosimilmente legata alla cirrosi senza ripercussioni in termini di sopravvivenza. Questi dati possono essere utilizzati per identificare alcuni dei pazienti, all'interno della vasta gamma di quelli con indicazione controversa al trattamento, che possono beneficiare della TACE;
- trattamenti multipli e schema di ritrattamento: dallo studio 2 è emerso che, anche se non c'è un approccio standard di ripetizione del trattamento TACE, il trattamento può essere efficacemente ripetuto "on demand" nei pazienti che non abbiano scompenso funzionale e non siano candidabili a trattamenti curativi. Sfortunatamente però solo una piccola percentuale di pazienti selezionati può essere candidabile a più cicli di trattamento TACE. Questi dati possono essere utilizzati per programmare trials randomizzati per la valutazione dell'efficacia di multiple TACE vs. TACE in combinazione con altri trattamenti locoregionali o vs. trattamenti sistemici;
- impiego della chemioembolizzazione nei candidabili a trapianto di fegato: il trattamento TACE è frequentemente utilizzato nei pazienti in lista per trapianto di fegato ma non ci sono studi sull'efficacia di trattamenti ripetuti in questi pazienti. Dallo studio 3 è emerso che il numero di

TACE nei pazienti in lista per trapianto non è risultato essere significativamente associato alla necrosi tumorale, alla recidiva post-trapianto né alla sopravvivenza post-trapianto. D'altra parte invece un tempo d'attesa prima del trapianto  $\leq 6$  mesi è risultato essere fattore predittivo indipendente di recidiva riflettendo la possibile maggiore aggressività tumorale in questi pazienti ai quali non è stato dato il tempo di esprimere le caratteristiche biologiche del tumore. Questi dati possono essere utilizzati per guidare la politica di allocazione degli organi nei pazienti con HCC, selezionando i pazienti con comportamento biologico tumorale più favorevole attraverso un minimo di osservazione prima del trapianto di almeno 6 mesi.

## **BIBLIOGRAFIA**

- [1] Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012;379:1245-1255.
- [2] Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127:2893-2917.
- [3] Sherman M. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, surveillance, and diagnosis. *Semin Liver Dis* 2010;30:3-16.
- [4] Bosch FX, Ribes J, Diaz M, Cleries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004;127:S5-S16.
- [5] Michielsen PP, Francque SM, van Dongen JL. Viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *World J Surg Oncol* 2005;3:27.
- [6] Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981;2:1129-1133.
- [7] Nishioka K, Watanabe J, Furuta S, Tanaka E, Iino S, Suzuki H, et al. A high prevalence of antibody to the hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer* 1991;67:429-433.
- [8] Colombo M, Kuo G, Choo QL, Donato MF, Del Ninno E, Tommasini MA, et al. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1989;2:1006-1008.
- [9] Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:417-422.
- [10] 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.
- [11] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011;53:1020-1022.
- [12] EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-943.
- [13] Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg* 1973;60:646-649.

- [14] Okuda K, Ohtsuki T, Obata H, Tomimatsu M, Okazaki N, Hasegawa H, et al. Natural history of hepatocellular carcinoma and prognosis in relation to treatment. Study of 850 patients. *Cancer* 1985;56:918-928.
- [15] AJCC Cancer Staging Handbook. In: Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Green FL, Trotti A, editors., 7th ed; 2010.
- [16] Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. *Semin Liver Dis* 2010;30:61-74.
- [17] Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999;19:329-338.
- [18] Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol* 2008;48 Suppl 1:S20-37.
- [19] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003;37:429-442.
- [20] Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology* 2006;131:461-469.
- [21] Varela M, Real MI, Burrel M, Forner A, Sala M, Brunet M, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol* 2007;46:474-481.
- [22] Burrel M, Reig M, Forner A, Barrufet M, de Lope CR, Tremosini S, et al. Survival of patients with hepatocellular carcinoma treated by transarterial chemoembolisation (TACE) using Drug Eluting Beads. Implications for clinical practice and trial design. *J Hepatol* 2012;56:1330-1335.
- [23] 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.
- [24] Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, et al. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology* 1999;29:62-67.
- [25] Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003;362:1907-1917.
- [26] Grazi GL, Ercolani G, Pierangeli F, Del Gaudio M, Cescon M, Cavallari A, et al. Improved results of liver resection for hepatocellular carcinoma on cirrhosis give the procedure added value. *Ann Surg* 2001;234:71-78.

- [27] Ohwada S, Kawate S, Hamada K, Yamada T, Sunose Y, Tsutsumi H, et al. Perioperative real-time monitoring of indocyanine green clearance by pulse spectrophotometry predicts remnant liver functional reserve in resection of hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2006;93:339-346.
- [28] Bruix J, Castells A, Bosch J, Feu F, Fuster J, Garcia-Pagan JC, et al. Surgical resection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: prognostic value of preoperative portal pressure. *Gastroenterology* 1996;111:1018-1022.
- [29] Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology* 1999;30:1434-1440.
- [30] Cucchetti A, Piscaglia F, Caturelli E, Benvegna L, Vivarelli M, Ercolani G, et al. Comparison of recurrence of hepatocellular carcinoma after resection in patients with cirrhosis to its occurrence in a surveilled cirrhotic population. *Ann Surg Oncol* 2009;16:413-422.
- [31] Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2005;25:181-200.
- [32] Nakashima Y, Nakashima O, Tanaka M, Okuda K, Nakashima M, Kojiro M. Portal vein invasion and intrahepatic micrometastasis in small hepatocellular carcinoma by gross type. *Hepatol Res* 2003;26:142-147.
- [33] Okada S, Shimada K, Yamamoto J, Takayama T, Kosuge T, Yamasaki S, et al. Predictive factors for postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1994;106:1618-1624.
- [34] Shirabe K, Kanematsu T, Matsumata T, Adachi E, Akazawa K, Sugimachi K. Factors linked to early recurrence of small hepatocellular carcinoma after hepatectomy: univariate and multivariate analyses. *Hepatology* 1991;14:802-805.
- [35] Adachi E, Maeda T, Matsumata T, Shirabe K, Kinukawa N, Sugimachi K, et al. Risk factors for intrahepatic recurrence in human small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995;108:768-775.
- [36] Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Intrahepatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma: long-term results of treatment and prognostic factors. *Ann Surg* 1999;229:216-222.
- [37] Minagawa M, Makuuchi M, Takayama T, Kokudo N. Selection criteria for repeat hepatectomy in patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2003;238:703-710.
- [38] Nagasue N, Uchida M, Makino Y, Takemoto Y, Yamanoi A, Hayashi T, et al. Incidence and

factors associated with intrahepatic recurrence following resection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1993;105:488-494.

[39] Chen YJ, Yeh SH, Chen JT, Wu CC, Hsu MT, Tsai SF, et al. Chromosomal changes and clonality relationship between primary and recurrent hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2000;119:431-440.

[40] Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334:693-699.

[41] Bruix J, Fuster J, Llovet JM. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Foucault pendulum versus evidence-based decision. *Liver Transpl* 2003;9:700-702.

[42] Kamath PS, Wiesner RH, Malinchoc M, Kremers W, Therneau TM, Kosberg CL, et al. A model to predict survival in patients with end-stage liver disease. *Hepatology* 2001;33:464-470.

[43] Freeman RB, Jr., Wiesner RH, Harper A, McDiarmid SV, Lake J, Edwards E, et al. The new liver allocation system: moving toward evidence-based transplantation policy. *Liver Transpl* 2002;8:851-858.

[44] Freeman RB, Wiesner RH, Edwards E, Harper A, Merion R, Wolfe R. Results of the first year of the new liver allocation plan. *Liver Transpl* 2004;10:7-15.

[45] Llovet JM, Mas X, Aponte JJ, Fuster J, Navasa M, Christensen E, et al. Cost effectiveness of adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma during the waiting list for liver transplantation. *Gut* 2002;50:123-128.

[46] Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, Gores GJ, Langer B, Perrier A. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol* 2012;13:e11-22.

[47] Sato S, Shiratori Y, Imamura M, Teratani T, Obi S, Koike Y, et al. Power Doppler signals after percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma predict local recurrence of tumors: a prospective study using 199 consecutive patients. *J Hepatol* 2001;35:225-234.

[48] Livraghi T, Bolondi L, Lazzaroni S, Marin G, Morabito A, Rapaccini GL, et al. Percutaneous ethanol injection in the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. A study on 207 patients. *Cancer* 1992;69:925-929.

[49] Vilana R, Bruix J, Bru C, Ayuso C, Sole M, Rodes J. Tumor size determines the efficacy of percutaneous ethanol injection for the treatment of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology*



1992;16:353-357.

[50] Ishii H, Okada S, Nose H, Okusaka T, Yoshimori M, Takayama T, et al. Local recurrence of hepatocellular carcinoma after percutaneous ethanol injection. *Cancer* 1996;77:1792-1796.

[51] Okada S. Local ablation therapy for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 1999;19:323-328.

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

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

[54] Koda M, Murawaki Y, Mitsuda A, Ohyama K, Horie Y, Suou T, et al. Predictive factors for intrahepatic recurrence after percutaneous ethanol injection therapy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000;88:529-537.

[55] Llovet JM, Vilana R, Bru C, Bianchi L, Salmeron JM, Boix L, et al. Increased risk of tumor seeding after percutaneous radiofrequency ablation for single hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2001;33:1124-1129.

[56] Giorgio A, Tarantino L, de Stefano G, Coppola C, Ferraioli G. Complications after percutaneous saline-enhanced radiofrequency ablation of liver tumors: 3-year experience with 336 patients at a single center. *AJR Am J Roentgenol* 2005;184:207-211.

[57] Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, et al. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer* 2005;103:1201-1209.

[58] Teratani T, Yoshida H, Shiina S, Obi S, Sato S, Tateishi R, et al. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma in so-called high-risk locations. *Hepatology* 2006;43:1101-1108.

[59] Livraghi T, Lazzaroni S, Meloni F. Radiofrequency thermal ablation of hepatocellular carcinoma. *Eur J Ultrasound* 2001;13:159-166.

[60] Lencioni RA, Allgaier HP, Cioni D, Olschewski M, Deibert P, Crocetti L, et al. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology* 2003;228:235-240.

[61] Lin SM, Lin CJ, Lin CC, Hsu CW, Chen YC. Radiofrequency ablation improves prognosis compared with ethanol injection for hepatocellular carcinoma  $<$  or  $=$  4 cm. *Gastroenterology*

2004;127:1714-1723.

[62] Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, et al. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2005;129:122-130.

[63] Brunello F, Veltri A, Carucci P, Pagano E, Ciccone G, Moretto P, et al. Radiofrequency ablation versus ethanol injection for early hepatocellular carcinoma: A randomized controlled trial. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:727-735.

[64] Lin SM, Lin CJ, Lin CC, Hsu CW, Chen YC. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. *Gut* 2005;54:1151-1156.

[65] Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Solbiati L, Gazelle GS. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiology* 1999;210:655-661.

[66] Chen MS, Li JQ, Zheng Y, Guo RP, Liang HH, Zhang YQ, et al. A prospective randomized trial comparing percutaneous local ablative therapy and partial hepatectomy for small hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2006;243:321-328.

[67] Iwamoto S, Sanefuji H, Okuda K. Angiographic subsegmentectomy for the treatment of patients with small hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2003;97:1051-1056.

[68] Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007;30:6-25.

[69] Konno T. Targeting cancer chemotherapeutic agents by use of lipiodol contrast medium. *Cancer* 1990;66:1897-1903.

[70] Kan Z, Ivancev K, Hagerstrand I, Chuang VP, Lunderquist A. In vivo microscopy of the liver after injection of Lipiodol into the hepatic artery and portal vein in the rat. *Acta Radiol* 1989;30:419-425.

[71] Bhattacharya S, Novell JR, Winslet MC, Hobbs KE. Iodized oil in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 1994;81:1563-1571.

[72] Raoul JL, Heresbach D, Bretagne JF, Ferrer DB, Duvauferrier R, Bourguet P, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinomas. A study of the biodistribution and pharmacokinetics of doxorubicin. *Cancer* 1992;70:585-590.

- [73] Park C, Choi SI, Kim H, Yoo HS, Lee YB. Distribution of Lipiodol in hepatocellular carcinoma. *Liver* 1990;10:72-78.
- [74] Graziadei IW, Sandmueller H, Waldenberger P, Koenigsrainer A, Nachbaur K, Jaschke W, et al. Chemoembolization followed by liver transplantation for hepatocellular carcinoma impedes tumor progression while on the waiting list and leads to excellent outcome. *Liver Transpl* 2003;9:557-563.
- [75] Maddala YK, Stadheim L, Andrews JC, Burgart LJ, Rosen CB, Kremers WK, et al. Drop-out rates of patients with hepatocellular cancer listed for liver transplantation: outcome with chemoembolization. *Liver Transpl* 2004;10:449-455.
- [76] Cheng YF, Huang TL, Chen TY, Chen YS, Wang CC, Hsu SL, et al. Impact of pre-operative transarterial embolization on the treatment of hepatocellular carcinoma with liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2005;11:1433-1438.
- [77] Ravaioli M, Grazi GL, Piscaglia F, Trevisani F, Cescon M, Ercolani G, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: results of down-staging in patients initially outside the Milan selection criteria. *Am J Transplant* 2008;8:2547-2557.
- [78] Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2010;30:52-60.
- [79] Poyanli A, Rozanes I, Acunas B, Sencer S. Palliative treatment of hepatocellular carcinoma by chemoembolization. *Acta Radiol* 2001;42:602-607.
- [80] Lee HS, Kim KM, Yoon JH, Lee TR, Suh KS, Lee KU, et al. Therapeutic efficacy of transcatheter arterial chemoembolization as compared with hepatic resection in hepatocellular carcinoma patients with compensated liver function in a hepatitis B virus-endemic area: a prospective cohort study. *J Clin Oncol* 2002;20:4459-4465.
- [81] Bruix J, Sala M, Llovet JM. Chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127:S179-188.
- [82] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1208-1236.
- [83] Ernst O, Sergent G, Mizrahi D, Delemazure O, Paris JC, L'Hermine C. Treatment of hepatocellular carcinoma by transcatheter arterial chemoembolization: comparison of planned periodic chemoembolization and chemoembolization based on tumor response. *AJR Am J Roentgenol* 1999;172:59-64.

- [84] Hong K, Khwaja A, Liapi E, Torbenson MS, Georgiades CS, Geschwind JF. New intra-arterial drug delivery system for the treatment of liver cancer: preclinical assessment in a rabbit model of liver cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:2563-2567.
- [85] Lewis AL, Taylor RR, Hall B, Gonzalez MV, Willis SL, Stratford PW. Pharmacokinetic and safety study of doxorubicin-eluting beads in a porcine model of hepatic arterial embolization. *J Vasc Interv Radiol* 2006;17:1335-1343.
- [86] Lewis AL, Gonzalez MV, Lloyd AW, Hall B, Tang Y, Willis SL, et al. DC bead: in vitro characterization of a drug-delivery device for transarterial chemoembolization. *J Vasc Interv Radiol* 2006;17:335-342.
- [87] Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010;33:41-52.
- [88] Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E, Kelekis A, Hall B, Dourakis S, et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008;31:269-280.
- [89] Gray B, Van Hazel G, Hope M, Burton M, Moroz P, Anderson J, et al. Randomised trial of SIR-Spheres plus chemotherapy vs. chemotherapy alone for treating patients with liver metastases from primary large bowel cancer. *Ann Oncol* 2001;12:1711-1720.
- [90] Van Hazel G, Blackwell A, Anderson J, Price D, Moroz P, Bower G, et al. Randomised phase 2 trial of SIR-Spheres plus fluorouracil/leucovorin chemotherapy versus fluorouracil/leucovorin chemotherapy alone in advanced colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2004;88:78-85.
- [91] Dancey JE, Shepherd FA, Paul K, Sniderman KW, Houle S, Gabrys J, et al. Treatment of nonresectable hepatocellular carcinoma with intrahepatic <sup>90</sup>Y-microspheres. *J Nucl Med* 2000;41:1673-1681.
- [92] Carr BI. Hepatic arterial <sup>90</sup>Yttrium glass microspheres (Therasphere) for unresectable hepatocellular carcinoma: interim safety and survival data on 65 patients. *Liver Transpl* 2004;10:S107-110.
- [93] Geschwind JF, Salem R, Carr BI, Soulen MC, Thurston KG, Goin KA, et al. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;127:S194-205.
- [94] Grimaldi C, Bleiberg H, Gay F, Messner M, Rougier P, Kok TC, et al. Evaluation of antiandrogen therapy in unresectable hepatocellular carcinoma: results of a European Organization

for Research and Treatment of Cancer multicentric double-blind trial. *J Clin Oncol* 1998;16:411-417.

[95] Hépatocellulaire GdEedTdC. Randomized trial of leuprorelin and flutamide in male patients with hepatocellular carcinoma treated with tamoxifen. *Hepatology* 2004;40:1361-1369.

[96] Yuen MF, Poon RT, Lai CL, Fan ST, Lo CM, Wong KW, et al. A randomized placebo-controlled study of long-acting octreotide for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002;36:687-691.

[97] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001;35:421-430.

[98] Bolondi L, Burroughs A, Dufour JF, Galle PR, Mazzaferro V, Piscaglia F, et al. Heterogeneity of Patients with Intermediate (BCLC B) Hepatocellular Carcinoma: Proposal for a Subclassification to Facilitate Treatment Decisions. *Semin Liver Dis* 2012;32:348-359.

[99] Pomfret EA, Washburn K, Wald C, Nalesnik MA, Douglas D, Russo M, et al. Report of a national conference on liver allocation in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Liver Transpl* 2010;16:262-278.

[100] Sorensen JB, Klee M, Palshof T, Hansen HH. Performance status assessment in cancer patients. An inter-observer variability study. *Br J Cancer* 1993;67:773-775.

[101] Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. *Cancer* 1954;7:462-503.

[102] Takayasu K, Arai S, Kudo M, Ichida T, Matsui O, Izumi N, et al. Superselective transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. Validation of treatment algorithm proposed by Japanese guidelines. *J Hepatol* 2012;56:886-892.

[103] Sangro B, D'Avola D, Inarrairaegui M, Prieto J. Transarterial therapies for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:1057-1073.

[104] Terzi E, Golfieri R, Piscaglia F, Galassi M, Dazzi A, Leoni S, et al. Response rate and clinical outcome of HCC after first and repeated cTACE performed "on demand". *J Hepatol* 2012;57:1258-1267.

[105] Kinugasa H, Nouse K, Takeuchi Y, Yasunaka T, Onishi H, Nakamura S, et al. Risk factors for recurrence after transarterial chemoembolization for early-stage hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2012;47:421-426.

[106] Monna T, Kanno T, Marumo T, Harihara S, Kuroki T, Yamamoto S, et al. A comparison of

transcatheter arterial embolization with one shot therapy for the patients with hepatic cell carcinoma. *Gastroenterol Jpn* 1982;17:542-549.

[107] Vogl TJ, Trapp M, Schroeder H, Mack M, Schuster A, Schmitt J, et al. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: volumetric and morphologic CT criteria for assessment of prognosis and therapeutic success-results from a liver transplantation center. *Radiology* 2000;214:349-357.

[108] Kwok PC, Lam TW, Chan SC, Chung CP, Wong WK, Chan MK, et al. A randomized clinical trial comparing autologous blood clot and gelfoam in transarterial chemoembolization for inoperable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000;32:955-964.

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

[110] Sangro B, Carpanese L, Cianni R, Golfieri R, Gasparini D, Ezziddin S, et al. Survival after yttrium-90 resin microsphere radioembolization of hepatocellular carcinoma across Barcelona clinic liver cancer stages: a European evaluation. *Hepatology* 2011;54:868-878.

[111] Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, 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* 2009;10:25-34.

[112] Raoul JL, Sangro B, Forner A, Mazzaferro V, Piscaglia F, Bolondi L, et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. *Cancer Treat Rev* 2011;37:212-220.

[113] Alberts SR, Gores GJ, Kim GP, Roberts LR, Kendrick ML, Rosen CB, et al. Treatment options for hepatobiliary and pancreatic cancer. *Mayo Clin Proc* 2007;82:628-637.

[114] Ravaioli M, Grazi GL, Ercolani G, Fiorentino M, Cescon M, Golfieri R, et al. Partial necrosis on hepatocellular carcinoma nodules facilitates tumor recurrence after liver transplantation. *Transplantation* 2004;78:1780-1786.

[115] Schaudt A, Kriener S, Schwarz W, Wullstein C, Zangos S, Vogl T, et al. Role of transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma before liver transplantation with special consideration of tumor necrosis. *Clin Transplant* 2009;23 Suppl 21:61-67.

[116] Piscaglia F, Bolondi L. The intermediate hepatocellular carcinoma stage: Should treatment be

expanded? Dig Liver Dis 2010;42 Suppl 3:S258-263.

[117] Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, et al. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. Hepatology 2008;47:71-81.

[118] Sieghart W, Hucke F, Pinter M, Graziadei I, Vogel W, Müller C, et al. The ART of decision making: Retreatment with TACE in patients with hepatocellular carcinoma. 2013;Epub ahead of print.

[119] Cescon M, Cucchetti A, Ravaioli M, Pinna AD. Hepatocellular carcinoma locoregional therapies for patients in the waiting list. Impact on transplantability and recurrence rate. J Hepatol 2013;58:609-618.

## **7. STUDI 1-3**





# **TACE PERFORMED IN PATIENTS WITH SINGLE NODULE OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA**

**Terzi E<sup>1</sup>, Piscaglia F<sup>1</sup> et al.**

**BLOG-Bologna Liver Oncology Group, S.Orsola-Malpighi Hospital, University of Bologna,  
Bologna, Italy**

<sup>1</sup>Division of Internal Medicine, Department of Digestive Disease and Internal Medicine,  
Sant'Orsola-Malpighi Hospital, University of Bologna, Bologna, Italy

## ABSTRACT

**Background.** The percentage of patients with single hepatocellular carcinoma (HCC) routinely submitted to transarterial chemoembolization (TACE) although outside the current treatment guidelines is high but very few information about the impact of TACE in this class of patients are available. **Aim** of the study was to assess the overall survival and clinical determinants of survival (including bland portal thrombosis and impaired performance status) in patients with single nodule of HCC submitted to TACE. Secondary aims were: tumour response at 1 month, local and distant recurrence rates, time to recurrence and the impact of TACE on liver function.

**Methods.** The outcome of 148 consecutive patients with single HCC submitted to TACE from January 2004 to December 2009 was retrospectively analysed.

**Results.** Median overall survival was 36.0 months with 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 85%, 50% and 26% respectively excluding transplanted patients. Interestingly, no impact of bland portal thrombosis and mild impairment of performance status likely due to cirrhosis was observed at univariate survival analysis. Factors associated with overall shorter survival at multivariate analysis were: tumour >5 cm, lack of complete radiological response (CR), presence of ascites, AFP  $\geq 14.5$  ng/mL and MELD score increase  $\geq 1$  point. CR was reported in 95/148 (64%) and a partial response (PR) in 39 (26%). The estimated recurrence rate in patients with CR was 27%, 42% and 65% at 6, 12 and 24 months respectively. The day after TACE, 56 (38%) patients had a Child-Pugh increase  $\geq 1$  point and 93 (63%) MELD score increase  $\geq 1$  point.

**Conclusions.** Our results showed that TACE is a valid treatment option in patients with single nodule of HCC not suitable for curative treatments. Bland portal vein thrombosis and mild impairment of PS likely due to cirrhosis in patients within Milan criteria have no statistical impact on survival.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; transarterial chemoembolization; portal vein thrombosis; performance status; complete radiological response; tumor recurrence.

## **INTRODUCTION**

According to the international guidelines [1], curative treatments are recommended as first-line therapy for patients with single hepatocellular carcinoma (HCC). Primarily, patients with single nodule are usually evaluated for liver transplant (LT) if they fulfill Milan criteria (MC) [2]. If patients are not suitable for LT, the most curative treatments available, such as surgical resection [3] or ablation, are considered. In the routine clinical practice, however, many patients with single tumour not eligible for curative treatments, are usually treated by transarterial chemoembolization (TACE) on the basis of the clinical judgment. TACE is a well established treatment for HCC and the current guidelines recommend TACE as a first line non-curative treatment for intermediate stage patients with multinodular asymptomatic tumours without vascular invasion or extrahepatic spread [1]. Nonetheless, the percentage of patients with single HCC routinely submitted to TACE is higher than 40% in many studies [4-6].

The primary endpoint of the present study was to evaluate the overall survival and clinical determinants of survival, including the presence of bland portal vein thrombosis (PVT) and mild impairment of performance status (PS), in patients with single nodule of HCC submitted to TACE who could not be submitted to curative treatments.

The secondary end points were: tumour response at 1 month, local and distant recurrence rates and time to recurrence and impact of TACE on liver function.

## **PATIENTS AND METHODS**

### **Patient population**

The present study is a retrospective analysis based on a database of consecutive patients submitted to TACE between January 2004 and December 2009. In this timeframe, 902 patients with HCC were consecutively treated with TACE in the Interventional Radiology Unit of Sant'Orsola-Malpighi Hospital in Bologna after a multidisciplinary discussion. The analysis of the follow-up was closed at May 2012, in order to have at least 30 months of observation for each patient.

In the present study, patients had to fulfill the following criteria to identify those with single nodule of HCC treated with conventional TACE as first line treatment: (1) diagnosis of HCC according to EASL/AASLD criteria[7, 8]; (2) single HCC without vascular invasion or extrahepatic spread; (3) Child-Pugh (CPT) hepatic function A or B; (3) performance status (PS) 0 or 1; (4) first conventional TACE performed between January 2004 and December 2009. Patients were excluded from the study population if they had: (1) absence of at least one imaging control (CT: Computed Tomography and/or MRI: Magnetic Resonance Imaging) before and after TACE treatment; (2) multiple nodules of HCC; (3) vascular invasion or extrahepatic spread; (4) Child-Pugh hepatic function C; (5) PS  $\geq 2$ ; (5) previous treatments for HCC; (6) non conventional TACE treatment (DC-Beads, mixed treatments or radioembolization).

One hundred forty-eight patients among the series of consecutive patients fulfilled the inclusion and exclusion criteria and were therefore selected as cohort study (Fig. 1).

### **Methods**

#### **Diagnosis of HCC**

The diagnosis of HCC was assessed by the presence of intrahepatic mass with typical HCC

hallmarks at imaging techniques or with histological proof of HCC according to AASLD and EASL guidelines [7, 8].

### **TACE protocol and technical procedure**

In our routine clinical practice, HCC treatment for patients with single nodule is inspired by the BCLC staging system [9] but each case is discussed in multidisciplinary meetings and individually tailored.

TACE treatment was performed in patients with single nodule if curative treatments were not feasible due to the tumour size, tumour location, technical applicability of treatments, severity of liver dysfunction, presence of portal hypertension, presence of comorbidities and their severity and individual consent for specific treatments.

Before treatment, baseline clinical evaluation, laboratory tests, chest X-ray radiography and tumour stage were assessed in all patients. Very few patients were submitted to TACE despite moderate liver dysfunction in the perspective of transplantation. At admission, daily living abilities and consequently the calculated ECOG performance status [10] were assessed. In HCC patients with already compromised abilities it is not possible to distinguish with certainty whether they are cancer- or cirrhosis- related. The presence of compromised abilities let patients fall into advanced (BCLC-C) or terminal tumour stages (BCLC-D) irrespective of their origin. Nonetheless, whether some patients classified in advanced stages only for the presence of mild impairment of performance status (PS-1) should instead be reclassified in early (BCLC-A) or intermediate (BCLC-B) tumour stages when the tumour is poorly likely to determine an impairment of PS, still remains unclear. Given these unsolvable premises, in the present study we classified all patients with PS-1 in advanced tumour stage (BCLC-C) according to the guidelines [1].

Conventional TACE was performed by selective catheterization of the hepatic segmental arteries feeding the lesions, using a highly flexible coaxial microcatheter (2.7-2.8 Fr Progreat™ Terumo or

Renegade™ Hi-flo Boston Scientific) passed through a 4Fr catheter previously placed in hepatic artery itself. For superselective TACE, the tip of the catheter was further advanced into sub-segmental branches nourishing the nodule [11]. Lobar technique was performed in case of nodule fed by multiple arteries or when the selective/superselective catheterization of the feeding artery was not technically feasible. It consists in injecting the same treatment material as in selective procedures, but into either the right or left hepatic branch with a consequent larger treated region.

After microcatheter placement, a mixture of iodized oil (Lipiodol® Guerbet) and chemotherapeutic agent (Epirubicin®, Pfizer) was injected under fluoroscopic control, followed by embolization using Spongel (Gelitaspongel®) particles, until complete blockage of the tumor feeding vessels was demonstrated. The amount of administered Lipiodol (10-25 ml) and Epirubicin (45-75 mg) was determined on the basis of the size of nodule.

When the interventional radiologist was aware to be unable to achieve a complete tumor embolization by only one single TACE session (due to, for example, the use of the maximum dose of Epirubicin allowed) the treatment was split into two sessions, one apart from the other, performed at about 1 month. In the present study we considered the two treatments as only one treatment cycle.

After TACE, patients were generally managed with bed rest during the first day following the procedure and discharged the second day after the session if no complications occurred. During the hospital stay, patients underwent clinical examination and blood laboratory tests (with particular respect to hemoglobin, total bilirubin, albumin, INR and creatinine) the morning after the procedure in order to exclude the presence of complications or liver decompensation. The day after TACE also an abdominal ultrasound was routinely performed to exclude complications before patient discharge.

#### **Assessment of tumor radiological response and follow-up**

Patients underwent imaging assessment (triphasic CT or contrast-enhanced MRI) one month after TACE procedure in order to evaluate the radiological response in treated lesions. The radiological



response was evaluated according to the modified Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (mRECIST) [12], reviewing respectively all images stored as films or as PACS images. The response was considered complete (CR) when a dense homogeneous Lipiodol uptake with complete disappearance of any intratumoral enhancement was observed in the target lesion at CT scan or when no enhancement at all of the target nodule was observed at MRI [12]. All the other radiological response were considered non complete (non-CR) and categorised as partial response (PR), progressive disease (PD) and stable disease (SD) according to mRECIST criteria [12].

After the first imaging evaluation at 1 month, follow-up CT or MRI scans (at 3-6 months intervals) were performed in all cases with complete response in order to detect the presence of local and/or distant recurrence. In addition, even if there are no recommendation about routinely performing chest CT to detect extrahepatic metastasis, in our clinical practice a chest CT is frequently performed together with the abdominal scan, especially in large tumour. If no investigated with CT, all patients underwent repeated chest X-ray radiography during the follow-up. At each follow-up point of time, clinical and laboratory evaluation was routinely performed and patients could also be submitted to ultrasonographic evaluation according to the clinician's choice.

For the assessment of overall survival, patient follow-up was censored either at the closure time of the study (if phone contact confirmed the patient to be alive) or at the time of death or at the last inpatient/outpatient clinical evaluation when no further information were available (patients lost to follow-up). For the assessment of recurrence-free survival, patients were censored either at the time of recurrence or death or liver transplant (if performed) or the last inpatient/outpatient clinical evaluation when no further information were available (patients lost to follow-up)

### **Statistical analysis**

Continuous variables were reported as median and range. Comparisons among groups were calculated using non-parametric tests (Mann-Whitney and Wilcoxon). Categorical variables were

compared with the  $\chi^2$  test. All tests were considered significant at  $P < 0.05$ . Overall survival was defined as the time interval between TACE and death or the date of the last follow-up. Univariate analysis was performed in order to identify factors predicting survival. Survival curves were computed according to Kaplan-Meier methods and compared by Log rank tests. Variables with  $P < 0.1$  in the univariate analysis were entered into a stepwise Cox regression model (conditional backward selection) to assess their impact as independent predictive factors. For patients who stopped attending the facilities of our hospital, survival could be calculated requesting the living status or time of death to the registry offices of the patients hometowns, making them assessable for the survival analysis.

Analysis of the data was performed using SPSS statistical analysis software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 1999).

## RESULTS

Conventional transarterial chemoembolization was the primary treatment after diagnosis of HCC in 148 patients with single nodule of HCC not eligible for curative treatments (final study group) (Fig. 1).

### **Baseline characteristics of patients**

The majority of patients were male (70%) with a median age of 64 years and the most frequent etiology of cirrhosis was HCV (57%) followed by alcohol (13%) and HBV (9%). In agreement with the enrollment criterion of single nodules, the majority of patients were in BCLC-A tumour stage (70%), followed by BCLC-0 (11%), BCLC-C (10%) and BCLC-B (9%). The vast majority of patients were fully active in all daily living abilities with no related symptoms (PS-0, 90%), 10% were restricted in physically strenuous activities (PS-1, thus all coded as BCLC-C). Table 1 and Table 2 report the baseline demographic, clinical and tumour characteristics of the whole patient cohort and of patients according to BCLC tumour stage.

### **Tumour response at 1 month**

A complete radiological response (CR) at one month was reported in 95/148 (64%) patients, a partial response (PR) in 39 (26%), a stable disease (SD) in 1 patient and a progressive disease (PD) in 10 (7%). Three patients were not evaluable (1 submitted to radiofrequency as complementary treatment after TACE and 2 received liver transplant within 1 month after the procedure, before CT).

At univariate analysis of clinical and tumour variables pre-TACE on radiological response (CR vs. non-CR), only a smaller tumour size ( $P=0.012$ ), particularly if within Milan criteria (tumour diameter  $\leq 5\text{cm}$ ,  $P=0.004$ ), was found to be a statistically significant predictor of complete response (Table 3). Alpha-fetoprotein (AFP) values showed a trend towards higher values in incomplete responders.

### **Local and distant recurrence after TACE**

Out of 95 patients achieving CR, 61 (64%) relapsed after a median time of 9 months (range 2-72), 28 (30%) did not relapse after a median follow-up of 13.5 months (range 2-53) and 6 patients were not evaluable because no further information were available. Out of 62 patients who relapsed, 23 patients (38%) had local relapse after a median of 10 months (range 2-37), 23 (38%) had distant intrahepatic relapse after a median of 8 months (range 2-72), 15 (24%) had both local and distant intrahepatic relapse after a median of 11 months (range 3-36). No patients developed extrahepatic recurrence before or concurrently with the detection of local or intrahepatic relapse. The estimated overall recurrence rate in patients with complete response was 27%, 42% and 65% at 6, 12 and 24 months respectively.

### **Impact of TACE on laboratory tests the day after the procedure**

A significant negative impact on liver function was observed the day after TACE treatment. In particular, 56 (38%) patients suffered a Child-Pugh increase  $\geq 1$  point and 93 (63%) patients suffered a MELD score increase  $\geq 1$  point. Interestingly, CTP and MELD score increase  $\geq 1$  were not related to lobar TACE procedure ( $P=0.320$  and  $P=1.000$  respectively).

The impact of TACE on the serum levels of albumin, bilirubin, INR, creatinine and MELD score the day after TACE is reported in Figure 2. More in detail, the median serum albumin values decreased from 3.60 mg/dL (range 2.10-5.00) to 3.50 mg/dL (range 2.10–4.50;  $P<0.001$ ), whereas the median serum values of bilirubin, INR and MELD score increased respectively from 1.34 mg/dL (range 0.30-10.67), 1.28 (range 1.00-1.97) and 11 (range 6-24) to 1.84 mg/dL (range 0.30-13.94;  $P <0.001$ ), 1.33 (range 1.00-2.00;  $P=0.003$ ) and 12 (range 7-24;  $P<0.001$ ). The median serum value of creatinine increased from 0.92 mg/dL (range 0.50-1.73) to 0.97 mg/dL (0.57-2.27) but no statistical difference was observed ( $P=0.823$ ).

### **Overall patient survival after TACE**

Out of 148 patients submitted to TACE, 79 (53%) died within the study period (January 2004 - May 2012) and 4 patients were lost to follow-up. The median overall follow-up of the whole study population was 44.0 months (95% CI = 33.5-54.5) with a 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 89%, 61% and 42% respectively. If patients submitted to liver transplant (who generally were long-term survivors) were excluded (34 patients), the median overall follow-up decreased to 36.0 months (95% CI = 24.6–47.4) with 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 85%, 50% and 26% respectively. At univariate survival analysis, tumour characteristics (and particularly tumour dimension), some liver function parameters and the achievement of complete radiological response (Table 4) had statistical impact on survival. Interestingly, an increase of  $\geq 1$  point of CPT or MELD score the day after TACE was significantly associated with lower survival ( $P=0.003$ ). As expected, median survival was also influenced by BCLC stage, but BCLC-B patients showed lowest median survival (6 months,  $P=0.002$ ) with respect to BCLC 0-A (41 months) and BCLC-C (28 months) patients (the latter all categorized as BCLC-C only on the basis of PS-1, but with tumor burden within MC) (Fig. 3).

Furthermore, the presence of bland segmental or lobar portal vein thrombosis and a mild impairment of performance status (PS-1) most likely due to cirrhosis, had no impact on overall survival (Table 1).

All the variables with  $P < 0.1$  in the univariate analysis (Table 4) were entered into a Cox regression analysis except for CPT score and BCLC to avoid redundancy since, the variables upon which they are built, were already included in the analysis. After a conditional backward selection, tumour diameter beyond Milan criteria ( $P=0.015$ , OR=3.0), lack of complete radiological tumour response ( $P=0.006$ , OR=2.3), presence of ascites before TACE ( $P=0.021$ , OR=2.3), AFP  $\geq 14.5$  ng/mL

( $P=0.007$ , OR=2.1) and MELD increase  $\geq 1$  point the day after TACE ( $P=0.037$ , OR=2.0) remained significant independent predictors of worse survival.

## **DISCUSSION**

According to the international guidelines [1, 7], curative treatments are recommended as first-line treatments for patients with single HCC regardless tumour diameter.

In the routine clinical practice, however, many patients with single tumours who have contraindications for curative treatments are usually treated by TACE on the basis of clinical judgment. TACE is a well established treatment for HCC and the current guidelines recommend TACE as the first line non-curative treatment for intermediate stage patients with multinodular asymptomatic tumours without vascular invasion or extrahepatic spread [1]. No evidence of beneficial impact of TACE in patients with single HCC is reported in the guidelines since the trials upon which the guidelines are built [13] mostly included patients with multiple nodules of HCC. Accordingly, TACE is frequently performed outside the current treatment guidelines including a considerable percentages of patients with single nodule [14].

To the best of our knowledge, only few studies evaluated the efficacy of TACE in patients with single nodule [6, 15] and a valid comparison with previous data reported in literature is very difficult due to different criteria used for the evaluation of tumour response, TACE procedure, the selectivity of technique and expertise of the radiological center. This fact led us to investigate the overall survival and clinical determinants of survival in patients with single nodule who represent about half (45%) of the total cohort of patients submitted to a first TACE cycle in our interventional Radiology Unit (156/344). The number is fully comparable to a very large Japanese series in which patients with single tumours were 46% of those submitted to TACE [6] and many other studies which showed high heterogeneity of patients routinely submitted to TACE including 35-50% [12, 16] of patients with single tumours even <5 cm. That makes our data well representative of the real life clinical practice.

Furthermore, the vast majority of the studies investigating the efficacy of TACE excluded patients with advanced liver disease, portal vein thrombosis and presence of impaired performance status so that there is no evidence of beneficial impact of TACE also in those categories of patients [17]. We already described the impact of TACE in patients with impaired liver function (namely CPT-B patients) [18] and in the present study we wanted also to evaluate the impact of non neoplastic portal vein thrombosis and mild impairment of PS on overall survival of patients submitted to TACE. The selection of patients with single nodule led us to better define the origin of portal vein thrombosis and PS as reported below.

The median overall survival of the whole patient population, after the exclusion of patients submitted to liver transplant who were generally long term survivors, was 36.0 months with 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 85%, 50% and 26% respectively. These data are slightly lower than those reported in a large Japanese series [6], reporting a 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 91%, 66% and 53% in patients treated with TACE for single nodule of HCC (even if no information about possible subsequent LT was reported). As expected, when comparing these results with that reported in the metaanalysis of Lovet et al. (median survival of 20 months in patients submitted to TACE) in which the vast majority of patients had multinodular HCC [13], the median overall survival is considerably higher. On the basis of survival analysis, TACE treatment represents indeed a valid therapeutic option for patients with single HCC not eligible for curative treatments.

When assessing the clinical predictors of survival, tumour diameter >5 cm (beyond MC), lack of complete radiological tumour response, AFP  $\geq 14.5$  ng/mL, presence of ascites before TACE and MELD increase  $\geq 1$  point the day after TACE were found to be independently associated with shorter survival at multivariate analysis. These data are in agreement with the fact that life expectancy depends not only upon tumour treatment efficacy, but also on the underlying severity of liver disease and patients with worsening of hepatic function after TACE with MELD increase  $\geq 1$  point are to be



evaluated for possible switching to another or no treatment if further treatments are needed.

Interestingly, despite the limited number of patients with portal bland thrombosis (n=17) submitted to TACE, our results showed that the presence of portal bland thrombosis either lobar or segmental has no negative impact on overall survival when TACE is performed in a selective manner. The presence of portal vein thrombosis (PVT) in patient with HCC may represent a challenging therapeutic issue. The detection of peripheral/subsegmental or segmental portal thrombosis in patients with HCC may generate doubts upon its nature, whether neoplastic or bland [14] and the diagnosis of neoplastic thrombosis assign the patient to the advanced stage rather than the early or intermediate tumour stage. The presence of PVT has been considered by some a contraindication for TACE treatment due to the risk of hepatic decompensation [19] but patients with portal thrombosis may not present technical and safety contraindications to TACE if a selective/supers elective procedure is performed [17, 20]. Portal vein thrombosis is therefore not considered a contraindication to TACE, even if only few studies report these results [17] without differentiating moreover the origin of thrombosis (cancer- or cirrhosis-related). To the best of our knowledge, no studies have been carried out evaluating the impact of TACE focusing on patients with bland thrombosis in term of survival but, given the high incidence of PVT in patients with cirrhosis and HCC, the issue is extremely important. In our Hospital, patients with bland thrombosis may be candidate to TACE after multidisciplinary discussions if they have preserved liver function, limited tumor burden, contraindications to other treatments and a selective approach feasible. Our results stress the possibility to treat patients with bland PVT without impact on overall survival. It is therefore imperative to accurately diagnose the origin of the thrombus with appropriate imaging techniques in order to correctly stage and treat patients with PVT who may benefit from TACE treatment as also suggested by a recent expert opinion [14].

Worth to point out that in our survival analysis a mild impairment of the performance status in patients with tumour burden within Milan criteria didn't impact on survival. The BCLC staging system includes the ECOG performance status [10] or Karnofsky index evaluation in the assessment of tumour stage. The performance status is widely established in oncology practice and it evaluates the presence and severity of cancer-related symptoms. When considering patients with HCC, however, the contemporary presence of liver cirrhosis and consequent hepatic dysfunction should be taken into account. Unfortunately, the classic judgment of performance status is not able to discriminate between cancer- or cirrhosis- related symptoms [14] and the subjective assessment of "how the patient feels" can be related to cirrhosis as well as cancer. The absence or presence of clinical symptoms is frequently evaluated for treating or not patients otherwise candidate for a given intervention and the presence of symptoms let patients fall into advanced (BCLC-C) or end (BCLC-D) tumour stage preventing the patients the possibility of a potentially effective treatment. We agree with previous reported data of impaired survival of patients with cancer-related symptoms [21], but it is almost impossible differentiating between cancer- and cirrhosis-related symptoms in the routine clinical practice. Furthermore, most of the research trials exclude patients just because of a compromised PS, no matter if cancer- or cirrhosis- related. Furthermore, patients in earlier tumour stage of BCLC should be free of cancer-related symptoms as many studies reported [22]. Hence, patients with limited tumour burden and few symptoms with only strenuous physical activities restriction ( $PS \leq 2$ ) might only have cirrhosis-related symptoms. In our study population, 15 patients with PS-1 were included and classified in advanced stage (BCLC-C) according to the BCLC classification [9] (Table 2). Nonetheless, all the patients with PS-1 had tumour diameter  $\leq 5$  cm with very low/null possibility of having cancer-related symptoms. In the survival univariate analysis, PS-1 wasn't found to be a predictor of survival further strengthening the role of cirrhosis-related variable in survival prediction. Furthermore, BCLC-C patients (all with PS-1) had a significant better survival

than patients in BCLC-B tumour stage (all with tumour diameter >5 cm) (Table 2) with a median survival of 28 months and 6 months respectively (Table 4) suggesting that tumor burden, rather than PS in patients with limited tumour burden, has a pivotal role on survival (Fig. 3). The evaluation of tumour burden already includes itself the possibility to have cancer-related symptoms and the assessment of PS might be considered redundant. In conclusion, the assessment of performance status can be considered misleading in the staging of patients with HCC, especially in those with limited tumour burden, since the mere presence of symptoms is not unequivocally cancer-related.

To the best of our knowledge, there are no data on tumour radiological response of conventional TACE in patients with single HCC and only Malagari et al [15] reported data on the efficacy of TACE with DC Beads on single unresectable HCC. The selection of patients with only single tumor allowed us a more precise assessment of tumour response since, in case of multiple nodules, the presence of non-CR could be misleading due to either the possible achievement of CR in one or few nodules or the complete absence of CR in all nodules. Our study shows high rates of complete response (64%) and partial response (26%) achieved after TACE (Table 1) and, comparing our data with those of Malagari et al [15], our objective response rates (complete and partial responses) are notably higher (90% vs 59.6% with 4.8% of CR and 54.8% of PR). We acknowledge that the response rate in our study might be overestimated since the assessment of radiological response was usually made with CT which may produce false negative results of presence of viable tumour due to the interference of Lipiodol [11]. MRI availability is not enough in our hospital to offer this technique as a standard procedure after TACE to all patients especially in the study period. Anyway, our data are of current interest since, despite the introduction of TACE using drug-eluting beads [23], clinical trials comparing TACE with drug-eluting beads and conventional TACE didn't show significant differences in tumour response and overall survival [16, 24] and conventional TACE is nowadays still largely used. As expected, the radiological response rates were higher than those

reported in a previous analysis of patients submitted to TACE by the Bologna Liver Oncology Group (BLOG) for either single or multinodular HCC where we found rates of CR and PR of 48% and 21% respectively [4].

Tumour recurrence represents a major complication after TACE. In our study, out of 95 patients achieving a CR, 61 (64%) relapsed with an estimated recurrence rate at 6, 12 and 24 months of 27, 42 and 65%. The incidence of recurrence is lower respect of that reported for patients treated not only for single nodule (37 and 61% at 6 and 12 months respectively) [4] but still high. Given these premises, further studies evaluating combined treatment approaches for preventing or delaying recurrence incidence even in patients with single nodule, are required. TACE and Sorafenib represent a potentially ideal synergistic treatment option as well as the combination with locoregional treatments [14].

TACE procedure is not without risks and the deterioration of liver function in cirrhotic patients is one of the most dreadful complications ranging from subtle changes in laboratory tests to severe hepatic dysfunction. The anti-tumour effect of TACE treatment, documented with the radiological response, has to face with the potential decrease of liver function which may nullify any benefit achieved on the tumour [25]. It is therefore necessary to select the best TACE candidates who may benefit from treatment and eventually subsequent cancer retreatments. The issue of proper patient selection for retreatment after TACE has become more stringent in recent years due to the availability of alternative treatments such as sorafenib [26] and radioembolisation [19]. A number of studies have demonstrated that the repetition of TACE increases tumour response and prolong survival [14]. In particular, when deciding to retreat patients for incomplete response or recurrence, despite the high percentages of complete radiological responses potentially achievable [4], the deterioration of liver function should be adequately considered in the decision process [25] in order to properly select patients who may benefit for the retreatment. To this end, we evaluated the

worsening of laboratory tests after 24 hours from the treatment and we documented a significant modification in serum albumin, bilirubin, INR and MELD score after TACE treatment (Figure 2). We also evaluated the impact on survival of CPT and MELD score increase and we found that an increase of both CPT and MELD score  $\geq 1$  point was associated with a significant worse prognosis irrespectively of a subsequent retreatment (Table 4).

In conclusion our results showed TACE to be an effective treatment in patients with single nodule of HCC not eligible for curative treatment and a valid option to curative treatments. Bland portal vein thrombosis and a mild impairment of performance statue (PS-1) likely due to cirrhosis, have no impact on survival.

## REFERENCES

- [1] EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-943.
- [2] Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334:693-699.
- [3] Cescon M, Vetrone G, Grazi GL, Ramacciato G, Ercolani G, Ravaioli M, et al. Trends in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1500 consecutive unselected cases over 20 years. *Ann Surg* 2009;249:995-1002.
- [4] Terzi E, Golfieri R, Piscaglia F, Galassi M, Dazzi A, Leoni S, et al. Response rate and clinical outcome of HCC after first and repeated cTACE performed "on demand". *J Hepatol* 2012;57:1258-1267.
- [5] Piscaglia F, Camaggi V, Ravaioli M, Grazi GL, Zanello M, Leoni S, et al. A new priority policy for patients with hepatocellular carcinoma awaiting liver transplantation within the model for end-stage liver disease system. *Liver Transpl* 2007;13:857-866.
- [6] Takayasu K, Arai S, Kudo M, Ichida T, Matsui O, Izumi N, et al. Superselective transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. Validation of treatment algorithm proposed by Japanese guidelines. *J Hepatol* 2012;56:886-892.
- [7] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1208-1236.
- [8] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001;35:421-430.
- [9] Llovet JM, Bru C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification. *Semin Liver Dis* 1999;19:329-338.
- [10] Sorensen JB, Klee M, Palshof T, Hansen HH. Performance status assessment in cancer patients. An inter-observer variability study. *Br J Cancer* 1993;67:773-775.
- [11] Golfieri R, Cappelli A, Cucchetti A, Piscaglia F, Carpenzano M, Peri E, et al. Efficacy of selective transarterial chemoembolization in inducing tumor necrosis in small (<5 cm) hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2011;53:1580-1589.
- [12] Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular

carcinoma. *Semin Liver Dis* 2010;30:52-60.

[13] Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003;37:429-442.

[14] Bolondi L, Burroughs A, Dufour JF, Galle PR, Mazzaferro V, Piscaglia F, et al. Heterogeneity of Patients with Intermediate (BCLC B) Hepatocellular Carcinoma: Proposal for a Subclassification to Facilitate Treatment Decisions. *Semin Liver Dis* 2012;32:348-359.

[15] Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E, Kelekis A, Hall B, Dourakis S, et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008;31:269-280.

[16] Sangro B, D'Avola D, Inarrairaegui M, Prieto J. Transarterial therapies for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:1057-1073.

[17] Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007;30:6-25.

[18] Piscaglia F, Terzi E, Cucchetti A, Trimarchi C, Granito A, Leoni S, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma in Child-Pugh B patients. *Dig Liver Dis* 2013;Epub ahead of print.

[19] Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, et al. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology* 2008;47:71-81.

[20] Pentecost MJ, Daniels JR, Teitelbaum GP, Stanley P. Hepatic chemoembolization: safety with portal vein thrombosis. *J Vasc Interv Radiol* 1993;4:347-351.

[21] Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology* 2006;131:461-469.

[22] Forner A, Reig ME, de Lope CR, Bruix J. Current strategy for staging and treatment: the BCLC update and future prospects. *Semin Liver Dis* 2010;30:61-74.

[23] Raoul JL, Sangro B, Forner A, Mazzaferro V, Piscaglia F, Bolondi L, et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. *Cancer Treat Rev* 2011;37:212-220.

[24] Malagari K, Pomoni M, Kelekis A, Pomoni A, Dourakis S, Spyridopoulos T, et al.

Prospective randomized comparison of chemoembolization with doxorubicin-eluting beads and bland embolization with BeadBlock for hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010;33:541-551.

[25] Sieghart W, Hucke F, Pinter M, Graziadei I, Vogel W, Müller C, et al. The ART of decision making: Retreatment with TACE in patients with hepatocellular carcinoma. 2013;Epub ahead of print.

[26] 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.



## TABLES

Variable	Study Population (n = 148)
<b>Gender male, n (%)</b>	104 (70)
<b>Age, median (years) (range)</b>	64 (36 - 84)
<b>Cause of disease, n (%)</b>	
HBV	14 (9)
HCV	85 (57)
Alcohol	19 (13)
Multiple etiologies	17 (12)
Unknown	12 (8)
Other	1 (1)
<b>Lesion location, n (%)</b>	
Right lobe	110 (74)
Left lobe	38 (26)
<b>TACE Selectivity, n (%)</b>	
Lobar	10 (7)
Selective	73 (49)
Supersselective	65 (44)
<b>Tumor size, median (cm) (range)</b>	3.0 (0.8 – 15.0)
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	135 (91)
<b>Portal vein thrombosis, n (%)</b>	
Absent	131 (88)
Segmental bland thrombosis	4 (3)
Lobar bland thrombosis	13 (9)
<b>Serum AFP, median (ng/mL) (range)</b>	14.5 (1.0 – 39576.0)
<b>Ascites, n (%)</b>	
Absent	120 (81)
Mild – Moderate	23 (16)
Severe – Refractory	5 (3)
<b>Encephalopathy, n (%)</b>	
Absent	145 (98)
Mild	3 (2)

<b>Serum total bilirubin, median (mg/dL) (range)</b>	1.34 (0.30 – 10.67)
<b>Serum albumin, median (g/dL) (range)</b>	3.60 (2.10 – 5.00)
<b>Serum INR, median (range)</b>	1.28 (1.00 – 1.97)
<b>Hepatic function, n (%)</b>	
CPT-A	92 (62)
CPT-B	56 (38)
<b>Performance status, n (%)</b>	
0	133 (90)
1	15 (10)
<b>BCLC stage, n (%)</b>	
0	16 (11)
A	104 (70)
B	13 (9)
C	15 (10)
<b>MELD score, median (range)</b>	11 (6 – 24)

---

**Table 1.** Baseline demographic, clinical and tumour characteristics of the whole patient cohort before TACE treatment.

*Abbreviations:* HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; TACE: transarterial chemoembolization; AFP: Alpha-fetoprotein, INR: international normalized ratio; CPT: Child-Pugh-Turcotte score; BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer; MELD: Model for end stage liver disease.

<b>Variable</b>	<b>BCLC-0</b>	<b>BCLC-A</b>	<b>BCLC-B</b>	<b>BCLC-C</b>
	<b>(n = 16)</b>	<b>(n = 104)</b>	<b>(n = 13)</b>	<b>(n = 15)</b>
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	16 (100)	104 (100)	0	15 (100)
<b>Tumour size, median (cm) (range)</b>	1.3 (1.0 – 1.9)	3.0 (0.8 – 5.0)	6.0 (5.1 – 15.0)	3.0 (1.0 – 4.8)
<b>Portal vein thrombosis, n (%)</b>				
Absent	14 (88)	94 (90)	11 (85)	12 (80)
Segmental bland thrombosis	0	3 (3)	0	1 (7)
Lobar bland thrombosis	2 (12)	7 (7)	2 (15)	2 (13)
<b>Hepatic function pre TACE, n (%)</b>				
CPT-A	16 (100)	58 (56)	8 (62)	10 (67)
CPT-B	0	46 (44)	5 (38)	5 (33)
<b>Performance status pre TACE, n (%)</b>				
0	16 (100)	104 (100)	13 (100)	0
1	0	0	0	15 (100)

**Table 2.** Clinical and tumour characteristics of the whole patient cohort before TACE treatment according to BCLC tumour stage.

*Abbreviations:* BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer; TACE: transarterial chemoembolization; CPT: Child-Pugh-Turcotte score.

<b>Variable</b>	<b>CR (n = 95)</b>	<b>Non-CR (n = 50)</b>	<b>P</b>
<b>Gender male, n (%)</b>	71 (75)	31 (62)	0.122
<b>Age, median (years) (range)</b>	63 (36 - 83)	67.5 (45 - 84)	0.099
<b>Cause of disease, n (%)</b>			0.928
HBV	7 (7)	7 (7)	
HCV	54 (57)	28 (56)	
Alcohol	15 (16)	4 (8)	
Multiple etiologies	9 (9.5)	8 (16)	
Unknown	9 (9.5)	8 (16)	
Other	1 (1)	3 (6)	
<b>Lesion location, n (%)</b>			0.453
Right lobe	72 (76)	35 (70)	
Left lobe	23 (24)	15 (30)	
<b>TACE Selectivity, n (%)</b>			0.992
Lobar	5 (5)	5 (10)	
Selective	45 (47)	26 (52)	
Supersselective	45 (47)	19 (38)	
<b>Tumor size, median (cm) (range)</b>	2.7 (0.8 – 6.0)	3.1 (1.0 – 15.0)	<b>0.012</b>
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	92 (97)	41 (82)	<b>0.004</b>
<b>Portal vein thrombosis, n (%)</b>			0.789
Absent	83 (87)	45 (90)	
Bland thrombosis	12 (13)	5 (10)	
<b>Serum AFP, median (ng/mL) (range)</b>	13.0 (1.0 – 10000.0)	21.0 (2.0 – 39576.0)	0.094
<b>Ascites, n (%)</b>			1.000
Absent	77 (81)	40 (80)	
Present	18 (19)	10 (20)	
<b>Encephalopathy, n (%)</b>			1.000
Absent	93 (98)	49 (98)	
Mild	2 (2)	1 (2)	
<b>Serum total bilirubin, median (mg/dL) (range)</b>	1.39 (0.30 – 7.56)	1.24 (0.35 – 7.72)	0.594
<b>Serum albumin, median (g/dL) (range)</b>	3.60 (2.10 – 5.00)	3.75 (2.40 – 4.90)	0.064
<b>Serum INR, median (range)</b>	1.29 (1.00 – 1.83)	1.23 (1.00 – 1.97)	0.365

<b>Hepatic function, n (%)</b>			0.155
CPT-A	55 (58)	35 (70)	
CPT-B	40 (42)	15 (30)	
<b>Performance status, n (%)</b>			0.775
0	86 (91)	44 (88)	
1	9 (9)	6 (12)	
<b>BCLC stage, n (%)</b>			0.077
0 – A	83 (87)	35 (70)	
B	3 (3)	9 (18)	
C	9 (10)	6 (12)	
<b>MELD score, median (range)</b>	12 (7 – 19)	11 (6 – 24)	0.637

**Table 3.** Clinical and tumour characteristics of the whole patient cohort before TACE treatment according to tumour response. Three patients not evaluable for tumour response were excluded from the analysis.

*Abbreviations:* CR: complete response; HBV: hepatitis B virus; HCV: hepatitis C virus; TACE: transarterial chemoembolization; AFP: Alpha-fetoprotein, INR: international normalized ratio; CPT: Child-Pugh-Turcotte score; BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer; MELD: Model for end stage liver disease.

Variable	Survival (%)			Median survival (95% C.I.)	P
	1-yr	3-yr	5-yr		
<b>Sex</b>					
Male	84	45	29	26.0 (16.7 – 35.3)	0.975
Female	88	63	20	41.0 (34.9 – 47.1)	
<b>Age, yr</b>					
<64	80	35	26	24.0 (21.5 – 26.5)	0.453
≥64	88	59	26	40.0 (36.2 – 43.8)	
<b>Cause of disease</b>					
Alcohol	81	28	21	24.0 (22.5 – 25.5)	0.081
Non alcohol	86	56	27	40.0 (33.0 – 47.0)	
<b>TACE selectivity</b>					
Lobar	87	58	58	44.0 (0 – 104.8)	0.823
Selective	87	51	29	36.0 (25.8 – 46.2)	
Superselective	82	49	27	26.0 (10.2 – 41.8)	
<b>Milan criteria</b>					
Within	90	54	28	37.0 (30.2 – 43.8)	<b>0.003</b>
Beyond	46	18	10	6.0 (0 – 17.3)	
<b>Portal vein thrombosis</b>					
Absent	86	50	24	36.0 (24.0 – 48.0)	0.876
Bland thrombosis	78	52	39	36.0 (4.6 – 67.4)	
<b>AFP, ng/mL</b>					
<14.5	89	58	39	41.0 (23.0 – 59.0)	0.052
≥14.5	79	43	22	25.0 (19.5 – 30.5)	
<b>Ascites</b>					
Absent	92	55	28	37.0 (29.0 – 45.0)	<b>0.013</b>
Present	57	32	16	15.0 (3.0 – 27.0)	
<b>Serum total bilirubin, mg/dL</b>					
<1.34	92	62	31	41.0 (36.6 – 45.4)	<b>0.026</b>
≥1.34	74	32	18	23.0 (18.1 – 27.9)	
<b>Serum albumin, g/dL</b>					
<3.60	81	40	20	24.0 (18.3 – 29.6)	0.340
≥3.60	87	55	29	40.0 (32.4 – 47.6)	

<b>Serum INR</b>						
<1.28	89	58	27	40.0 (34.5 – 45.5)		0.211
≥1.28	80	40	23	25.0 (18.8 – 31.2)		
<b>Hepatic function</b>						
CPT-A	93	60	26	40.0 (36.1 – 43.9)		0.075
CPT-B	83	47	22	21.0 (15.3 – 26.7)		
<b>Performance status</b>						
0	85	51	29	36.0 (24.7 – 47.3)		0.080
1	80	36	0	28.0 (11.2 – 44.7)		
<b>BCLC stage</b>						
0 – A	91	55	31	41.0 (31.5 – 50.5)		<b>0.002</b>
B	46	18	10	6.0 (0 – 17.3)		
C	83	47	0	28.0 (11.2 – 44.8)		
<b>MELD score</b>						
< 11	92	61	34	41.0 (27.0 – 55.0)		0.060
≥ 11	78	41	18	25.0 (21.5 – 28.5)		
<b>Child-Pugh increase post-TACE</b>						
Absent	92	60	35	41.0 (33.6 – 48.3)		<b>0.003</b>
≥ 1 point	83	35	14	22.0 (10.3 – 33.6)		
<b>MELD increase post-TACE</b>						
Absent	94	39	44	44.0 (24.5 – 63.4)		<b>0.003</b>
≥ 1 point	80	43	17	25.0 (17.9 – 32.0)		
<b>Tumour response</b>						
CR	92	54	30	37.0 (25.4 – 48.6)		<b>0.048</b>
Non-CR	72	45	17	28.0 (17.8 – 38.2)		
<b>Recurrence type</b>						
Local	95	63	32	42.0 (31.4 – 52.6)		0.312
Distant intrahepatic	100	53	39	44.0 (9.5 – 78.5)		
Local + distant intrahepatic	82	45	11	31.0 (12.1 – 49.9)		

**Table 4.** Univariate survival analysis.

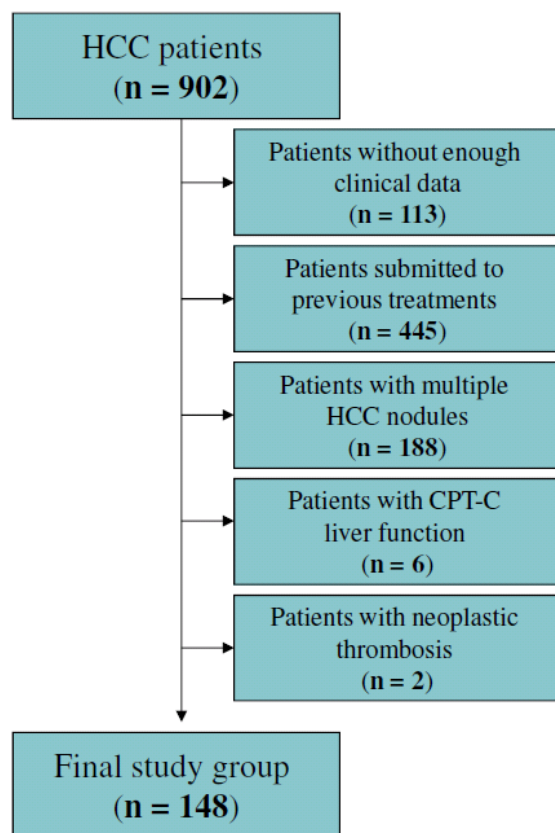
Patients submitted to liver transplant (LT) were excluded from the analysis (34 patients). The assessment of tumour response was considered at 1 month after TACE. In the analysis of survival according to tumour response also patients not evaluable were excluded from the analysis.

*Abbreviations:* HCV: hepatitis C virus; TACE: transarterial chemoembolization; AFP: Alpha-fetoprotein, INR:

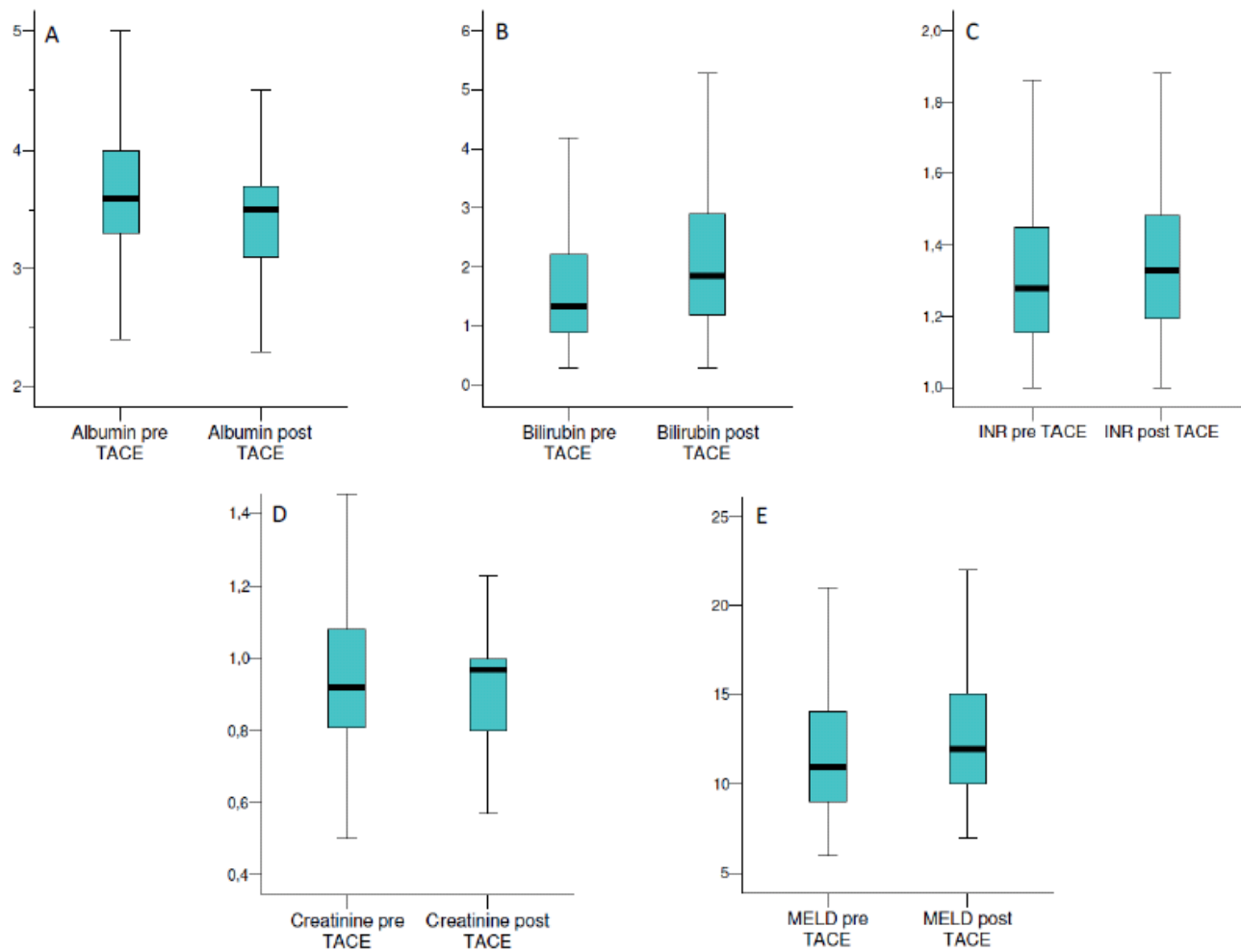
international normalized ratio; CPT: Child-Pugh-Turcotte score; BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer; MELD: Model for end stage liver disease; CR: complete response; PR: partial response; PD: progressive disease.; BCLC: Barcelona Clinic Liver Cancer.



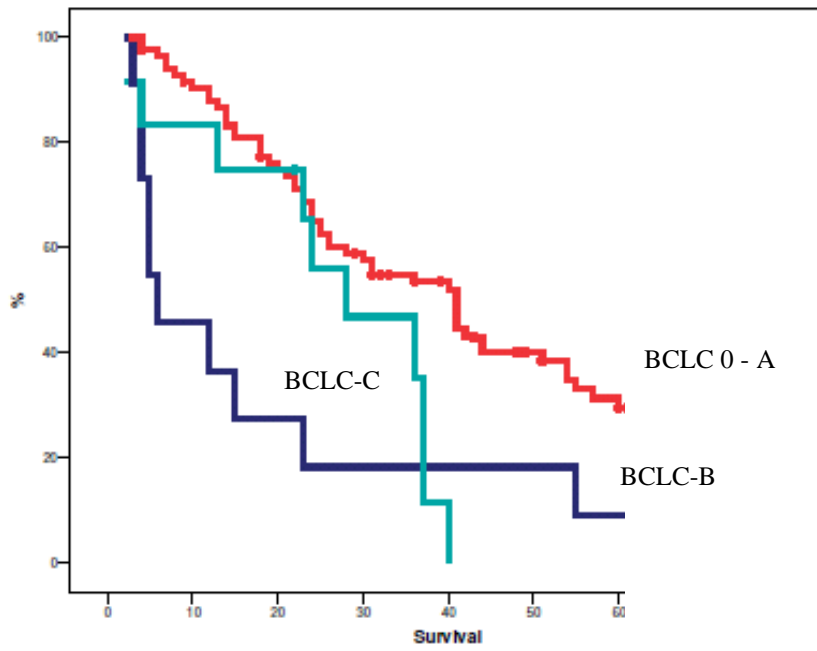
## FIGURES



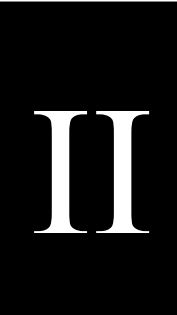
**Fig. 1.** Flow chart of the study population.



**Fig. 2.** Impact of TACE on laboratory tests one day after the procedure. **(A)** Modification of serum albumin ( $P<0.001$ ); **(B)** modification of serum bilirubin ( $P<0.001$ ); **(C)** modification of serum INR ( $P=0.003$ ); **(D)** modification of serum creatinine ( $P=0.823$ ); **(E)** modification of MELD score ( $P<0.001$ ).



**Fig. 3.** Overall patients' survival according to BCLC tumour stage.



# **RESPONSE RATE AND CLINICAL OUTCOME OF HCC AFTER FIRST AND REPEATED cTACE PERFORMED “ON DEMAND”**

**Terzi E<sup>1</sup>, Golfieri R<sup>2</sup>, Piscaglia F<sup>1</sup>, Galassi M<sup>1</sup>, Dazzi A<sup>3</sup>, Leoni S<sup>1</sup>, Giampalma E<sup>2</sup>,  
Renzulli M<sup>2</sup>, Bolondi L<sup>1</sup>**

**BLOG-Bologna Liver Oncology Group, S.Orsola-Malpighi Hospital, University of Bologna,  
Bologna, Italy**

<sup>1</sup> Division of Internal Medicine, Dpt of Digestive Disease and Internal Medicine, Sant’Orsola-Malpighi Hospital, University of Bologna, Bologna, Italy

<sup>2</sup> Radiology Unit, Dpt of Digestive Disease and Internal Medicine, Sant’Orsola-Malpighi General and University Hospital, Bologna, Italy

<sup>3</sup> Liver and Multiorgan Transplant Unit, Sant’Orsola-Malpighi Hospital, University of Bologna, Bologna, Italy

## **ABSTRACT**

**Background and aims.** Aim of the study was to assess the clinical impact of conventional Transarterial Chemoembolization (cTACE) repeated “on demand” on HCC outcome. Outcome measures were: response rate to first and repeated cTACE, recurrence rates and overall survival.

**Methods.** The outcome of 151 consecutive HCC patients submitted to a first cTACE from January 2004 to December 2005 was retrospectively analysed.

**Results.** Complete radiological response (CR) was observed in 72/151 (48%), 34/60 (52%) and 12/22 (55%) patients after first, second and third cTACE respectively. Recurrence rates at 6 and 12 months were respectively 37% and 61% after the first cTACE and 40% and 59% after the second cTACE. Patients not achieving CR or with a recurrence after CR not treated with curative therapies were 94 and 84 after first and second cTACE respectively. Of these, 60/94 (64%) and 22/84 (26%) were submitted to a second and third cTACE respectively. Median overall survival was 32.0 months but 25.0 months excluding transplanted patients. Factors at the time of first cTACE associated with overall shorter survival at multivariate analysis were higher bilirubin, higher AFP and not achieving CR.

**Conclusions.** CR and recurrence rates after first and second cTACE were similar. About 64% of patients were submitted to second cTACE, while only few patients (26%) were submitted to third cTACE using an “on demand” policy. These figures may be also useful for planning trials for the evaluation of the efficacy of repeated TACE versus TACE combined with adjuvant treatments or versus systemic treatments.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; repeated conventional transarterial chemoembolization; complete radiological response; tumor recurrence.

## **INTRODUCTION**

Transarterial Chemoembolization (TACE) is one of the most utilized treatment for hepatocellular carcinoma (HCC) on cirrhosis [1, 2]. However, it is an heterogeneous procedure [2, 3], lacking a standard approach in terms of patient selection, technical procedure, chemotherapeutic agents and schedule of treatment. In particular, major sources of variability are the population heterogeneity, the time interval between treatments and the number of courses. A number of studies demonstrate that the repetition of conventional TACE (cTACE) maximizes tumour response [4] and may prolong survival [4, 5]. Repeated cTACE cycles are however associated with increase of related side effects and liver damage [6, 7], potentially preventing an even greater survival advantage. Multiple cTACE cycles can be performed at regular intervals or based on tumour response (“on demand”), namely performed only in case of non complete response to previous cTACE or of appearance of recurrence. There are no definitive data demonstrating a significant superiority of one or the other treatment strategy, but cTACE performed on the basis of tumour response and patient tolerance seems to be the most rationale and effective procedure [2, 8] since it reduces the degree of liver damage and complications [7] and it allows a proper patient selection at each course [7]. What is still to be definitely established is a recommendation about the number of repeated cTACE before switching to another or no treatment. This issue has actually become more stringent due to the availability of alternative treatments such as radioembolization [9-10] and Sorafenib [11-12].

Aim of the present study was to investigate the efficacy of first and repeated cTACE performed “on demand” in order to understand the clinical impact of this policy on disease outcome. Outcome measures are the following:

1. Response rate to first cTACE
2. Recurrence rate and time to recurrence (TTR) after CR following first cTACE

3.     Retreatment strategy
4.     Response rate to second and third cTACE and subsequent clinical outcome
5.     Overall patients' survival and clinical determinants of survival after cTACE performed "on demand"



## **PATIENTS AND METHODS**

### **Patient population**

The present study is a cohort study conducted as a retrospective analysis of a prospective database. Between January 2004 and December 2005, 265 patients with HCC were consecutively treated with cTACE in the Interventional Radiology Unit of Sant'Orsola-Malpighi Hospital in Bologna after a multidisciplinary discussion. The time period was limited to end 2005 in order to have a follow-up period long enough to assess overall survival in most patients and to include only patients treated with conventional cTACE. The analysis of the follow-up was stopped at April 2011. Of 265 patients treated with cTACE, 33 were not evaluated because of the lack of enough clinical data and 81 were excluded because they had previously received other cTACE cycle(s). The final study group included 151 patients with HCC submitted to a first cTACE cycle. Patients' characteristics are reported in Table 1. The diagnosis of HCC was performed according to EASL guidelines [13].

### **Methods**

#### **Indication to cTACE**

In our center treatment of intermediate HCC is based on the BCLC proposal but cases are usually discussed in multidisciplinary meeting and individually tailored. At first, transplantation within a downstaging protocol is considered [14]. If patients are not suitable for transplantation the most curative treatments affordable by the conditions are considered. In particular, selected patients are considered for surgical resection [15] or ablation which is performed only when technically feasible and when there is a forecast of complete treatment. All the remaining cases are considered for TACE which is the first line non-curative treatment for intermediate HCC. For patients eligible for TACE

no alternative treatments were available during the study period and treatments within research trials were considered only for patients unsuitable to cTACE.

#### **cTACE: technique and schedule for retreatment**

A microcatheter (<3F) was utilized using a transfemoral access. A mixture of 10 mL of Lipiodol and 50 mg of Doxorubicin followed by Spongel was injected until a complete blockage of the tumour feeding branch was demonstrated. Whenever possible, cTACE was performed with a superselective technique [16]. The lobar technique was used in case of multiple (>3) HCC in the same lobe or when the superselective cannulation of the feeding artery was not technically feasible. When the operator was aware during the procedure to be unable to treat all nodules in one single session, the first cTACE was split in two sessions performed within one month.

#### **Assessment of treatment efficacy and policy for retreatment**

One month after each cTACE procedure, a CT scan was performed in order to evaluate tumour radiological response. Follow-up CT scans (at 3-4 months intervals) were then performed in all cases with complete response in order to assess the appearance of recurrence. The response was considered complete (CR) when a dense homogeneous Lipiodol uptake with complete lack of any intratumoral enhancement was observed at CT scan [17]. All the other radiological response were considered non complete (non-CR) and categorised as Partial Response (PR), Progressive Disease (PD) and Stable Disease (SD) according to mRECIST criteria [17]. Repeated cTACE cycles were performed “on demand” upon the demonstration of viable tumour (non-CR) or local and/or distant intrahepatic recurrences in patients in Child-Pugh A and B clinically suitable to cTACE. Very few patients were submitted to cTACE despite severe liver dysfunction. This was done in the perspective of a downstaging protocol for transplantation running in our center since 2003 [14].

### **Statistical analysis**

Continuous variables were reported as median and range. Comparisons among groups were calculated using non-parametric tests (Mann-Whitney and Wilcoxon). Categorical variables were compared with the  $\chi^2$  test. All tests were considered significant at  $P < 0.05$ . Overall survival was defined as the time interval between cTACE and death or the date of the last follow-up. Univariate analysis was performed in order to identify factors predicting survival. Survival curves were computed according to Kaplan-Meier methods and compared by Log rank tests. All variables with  $P < 0.05$  were included in multivariate analysis to assess their impact as independent predictor factors. Cox regression was used for multivariate analysis.

For patients who stopped attending the facilities of our hospital, survival could be calculated requesting the living status or time of death to the registry offices of the patients hometowns, making them assessable for the survival analysis.

Analysis of the data was performed using SPSS statistical analysis software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 1999).

## RESULTS

Conventional TACE was the primary treatment after diagnosis of HCC in 110 (73%) patients, while 41 (27%) had been previously submitted to other therapies (Figure 1).

### **Response rate to first cTACE**

CR was demonstrated in 72/151 (48%) patients and non-CR in 64 (42%); 15 patients (10%) were not evaluable (8 submitted to other complementary treatments when cTACE did not result technically feasible in all tumours; 3 received transplantation and 1 died within 1 month after the procedure, before CT; for 3 patients no information on TACE outcome could be retrieved) (Figure 2). Table 1 describes tumour response according to mRECIST criteria.

Specifically, CR was achieved in 70/126 (56%) patients treated with superselective cTACE and in 2/25 (8%) treated with lobar cTACE.

### **Recurrence rate and time to recurrence after complete response following first cTACE**

Of 72 patients achieving CR, 52 (72%) relapsed after a median time of 8.5 months (mean 9.7, range 2-31), 8 (11%) did not relapse after a median follow-up of 16.5 months (mean 31, range 1-78) and 12 patients were not evaluable because no further informations were available. Of 8 patients who didn't relapse, 3 patients underwent transplantation 1, 5 and 6 months after cTACE; after the exclusion of these patients, the median follow-up of those not relapsing increased to 53 months (range 4-78). Of 52 patients who relapsed, 16 patients (31%) had local relapse after a median of 9.5 months, 21 (40%) had distant intrahepatic relapse after a median of 9 months, 14 (27%) had both local and distant intrahepatic relapse after a median of 6.5 months and 1 patient (2%) developed neoplastic portal vein thrombosis after 2 months. The estimated recurrence rate in patients with complete response was 37% and 61% at 6 and 12 months (Figure 3). When assessing only the local long term maintain of CR, we found a recurrence-free rate at 1 year was 61% (35 patients, all after a superselective

cTACE).

### **Retreatment strategy**

Of 52 patients who relapsed, 5 (10%) received no further treatment due to tumour progression and/or deterioration of liver function and 47 (90%) were retreated: 34 (72%) were submitted to a second cTACE cycle (65% of the 52 patients with relapse), 1 to PEI, 7 to RF, 2 to RF and PEI, 2 to resection and 1 to liver transplantation. Of 64 patients with non-CR, 27 (42%) received no further treatment due to tumour progression and/or deterioration of liver function and 37 (58%) were retreated: 26 (70%) were submitted to a second cTACE cycle (41% of the 64 patients without CR), 3 to PEI, 2 to RF, 1 to RF and PEI, 2 to intrarterial infusion of Irinotecan, 1 to resection and 2 to transplantation.

In conclusion, 60 patients (52%), out of a total of 116 patients with recurrence (n=52) or non-CR (n=64) after first cTACE, were submitted to a second cTACE cycle. After the exclusion of patients treated with surgery or percutaneous ablation, the rate of patients submitted to a second cTACE cycle was 60/94 (64%) of patients with still active tumor, using an “on demand” policy. The mean time between first and second cTACE was 12.2 months in 34 patients treated for recurrent HCC and of 4.6 in 26 patients treated for previous cTACE with non-CR.

### **Response rate to second and third cTACE and subsequent clinical outcome**

#### *Response rate to second cTACE*

CR was demonstrated in 34/60 (57%) patients and non-CR in 23 (38%); 3 patients (5%) were not evaluable (1 patient died within 1 month after the procedure; for 2 patients no information on TACE outcome could be retrieved). (Figure 2). Table 1 describes tumour response according to mRECIST criteria.

The rate of patients achieving CR after second cTACE was similar in patients treated for non-CR (15/25, 60%) after first cTACE and patients with recurrent HCC (19/32, 59%) (Table 2).

Specifically, CR was achieved in 34/55 (62%) patients treated with superselective cTACE and in 0/5 treated with lobar cTACE.

*Recurrence rate and time to recurrence after complete response following second cTACE and retreatment strategy*

Of 34 patients achieving CR, 27 (80%) relapsed after a median time of 8.0 months (mean 11.1, range 2-43), 5 (15%) did not relapse before receiving transplantation after a median waiting time of 5.0 months (mean 13.0, range 1-38) and 2 patients were not evaluable because further informations were lacking. The estimated recurrence rate in patients with complete response was 40% and 59% at 6 and 12 months (Figure 3).

Of 27 patients who relapsed, 20 (74%) were submitted to further treatments, as well as 14 (61%) of the 23 patients with non-CR. In the remaining patients no further treatment was performed due to tumour progression and/or deterioration of liver function.

Out of a total of 50 patients with distant intrahepatic/local recurrence (n=27) or non-CR (n=23) after second cTACE, 22 (44%) were submitted to a third cTACE cycle. After the exclusion of patients treated with surgery or percutaneous ablation, the rate of patients submitted to a third cTACE cycle was 22/84 (26%) of patients with still active tumor after one or two cTACE, using an “on demand” policy. These data are apparently different from what expected from a per protocol policy in which the majority of patients should have been treated with three cTACE courses.

*Response rate to third cTACE*

CR was demonstrated in 12/22 (55%) patients and non-CR in 8 (36%); 2 patients (9%) were non evaluable because no information on TACE outcome could be retrieved (Figure 2). Table 1 describes tumour response according to mRECIST criteria.

The rate of patients achieving CR after third cTACE was similar in patients treated for non-CR (5/8, 63%) after second cTACE and patients with recurrent HCC (7/12, 59%) (Table 2).

Specifically, CR was achieved in 7/11 (64%) patients treated with superselective cTACE and in 5/11 (46%) treated with lobar cTACE.

Recurrence-free survival curves after first, second and third TACE cycles are reported in Supplementary Figure 3S.

#### **Overall patients' survival after cTACE performed "on demand"**

Out of 151 patients submitted to cTACE, 103 (68%) died within the study period (January 2004 - April 2011) and 11 patients were lost to follow-up. The median overall follow-up of the whole study population was 32.0 months (95% CI = 23.3-40.7) with a six months, one year and two years survival rates of 90%, 75% and 60% respectively. After the exclusion of patients who underwent transplantation (generally long-term survivors), the median overall follow-up decreased to 25.0 months (95% CI = 19.5–30.5) with six months, one year and two years survival rates of 88%, 70% and 52% respectively. As expected, survival differed according to the Child-Pugh stage, being shorter in Child-Pugh B patients than in Child-Pugh A (Figure 4). The impact of different variables on patients survival after each cTACE cycle was analysed (Table 3).

At the time of first cTACE cycle, number of lesions, lesion morphology, lesion location, tumour size, Milan criteria, portal vein thrombosis, AFP, presence of ascites, bilirubin, albumin, CPT class, BCLC stage, tumour response and MELD score, were all significantly associated with survival at univariate analysis (Table 3). At multivariate analysis (including all variables with  $P < 0.05$ ) higher AFP, higher total bilirubin and non-CR to cTACE remained as significant predictors (Table 4). The same analysis, at the time of second and third cTACE was performed (Table 3, 4).

## DISCUSSION

Current guidelines recommend TACE as a first line non-curative treatment for intermediate HCC according to BCLC classification [1]. In clinical practice, some patients in the early stage (BCLC A) carrying contraindications to surgery or local treatments or with large single tumours are treated by TACE. In fact, various studies on TACE show that the study populations are heterogeneous and include 35-50% [3, 17] of patients with single tumours and mainly <5 cm, not considered eligible to curative treatments, for instance due to ascites, nodule size or location. Our case series is in agreement with these data, since single tumours were 43% of those submitted to first cTACE treatment, a number fully comparable to a very large Japanese series reporting 44% [18]. Also the rate of Child-Pugh B patients in our and in the Japanese nationwide prospective series are very similar (34% vs 39%) [18]. This makes our data well representative of the real life clinical practice. At present, there are no definite data about the comparative efficacy of different retreatment strategies and then any recommendation about policy for retreatment is lacking. Despite the recent introduction of TACE using drug-eluting beads [8], cTACE is still performed in a large number of centers, since clinical trials performed so far failed to show significant improvement in response rate and overall survival using this procedure [3]. Regarding the performance of TACE on the basis of the selectivity of the technique, our data demonstrate that cTACE with a selective technique achieved higher CR rates in comparison with lobar cTACE. These data are in keeping with the literature [2, 7].

In our case series, approximately 50% of patients submitted to first cTACE treatment achieved a CR. A valid comparison with previous data reported in literature is very difficult due to different criteria used for the evaluation of tumour response, selectivity of the technique and expertise of the radiological center. Using WHO criteria, CR rates reported in the literature were 2-6% [19]. In a



recent randomized trial of Lammer et al, using EASL criteria, the reported results after the first 3 per protocol courses of TACE [20] showed a CR in 22% of patients at 6 months after the last TACE [20], which corresponds to approximately one year after the first TACE. Our findings, using a scheme on demand are comparable, since CR was maintained in 17% of all patients treated at 1 year, but using only one cTACE course. If the assessment at 6 months after the last cTACE course is considered, the rate of patients maintaining a CR would be 32%.

Patients submitted to a second and a third cTACE cycle achieved a CR of approximately 55-60% in both instances (comparable to the rates achieved after first cTACE), irrespective of being retreated for viable tumour after the previous cTACE or an intrahepatic recurrence. These data demonstrate the efficacy of repeated cTACE irrespective of treatment indication in properly selected patients, considering extent of viable tumour, tumour stage progression, tumour location, feasibility of percutaneous ablation, liver function and performance status. We also outline however, that in the present series, only 64% of patients with potential indication to repeat cTACE for non-CR or tumour recurrence (after the exclusion of patients treated with surgery or percutaneous ablation) were submitted to the second cTACE since judged adequately suitable and that a very limited number of patients (approximately 26%) were submitted to third cTACE cycle when using a policy “on demand” (Figure 2).

It is also remarkable that, after a first cTACE with non-CR, 27/64 (42%) patients could not be offered any type of further treatment despite still free from portal or extrahepatic spread, while this rate was only 5/52 (10%) in patient with intrahepatic recurrence after CR (Figure 2). After a second cTACE resulting in non-CR, patients not submitted to further locoregional treatment were 9/23 (39%). These figures can be interpreted taking into consideration the feasibility of percutaneous ablation for retreatment of small amount of viable tumours and small recurrent distant nodules, together with the possible liver functional impairment along the natural history of the disease

limiting cTACE feasibility and finally the tumour stage progression. At the time of the study period and until September 2008, any approved systemic therapy for HCC was not available and this should also be considered when evaluating the data regarding the retreatment. The rate of patients lacking any further retreatment after cTACE interruption could be now significantly reduced by the availability of Sorafenib, provided that cTACE does not result in liver decompensation [12]. Our study shows high rates of local and distant intrahepatic recurrences at 6 and 12 months (37% and 61% respectively after the first cTACE; 40% and 59% after the second). These figures strongly point out the need for an effective adjuvant treatment for preventing or delaying recurrences after cTACE. The majority of recurrences are local and are observed during the first year within the treatment, probably because of the limitations of the radiological (CT) evaluation of tumour response. We acknowledge that the radiological response rate in this study might be overestimated in comparison to an histological reference, as we also recently demonstrated [16], since the assessment was usually made with CT and TACE was performed with the conventional technique using a mixture of Lipiodol and Doxorubicin followed by Spongel injection. In this setting, CT may produce false negative results regarding the presence of viable tumour due to the interference of Lipiodol [16]. At the time of the study period, however, DC beads [21-22] were not available and the number of MRI places was and still is not large enough in our hospital to offer this technique as a standard procedure after cTACE to all patients, so that it is utilized in cases doubtful at CT. Notwithstanding this limitation, multivariate analysis showed that CR after first cTACE cycle was an independent predictor of longer survival. Finally, our study shows a median overall survival of 25.0 months of the whole study population (excluding patients submitted to liver transplantation) with a one year and two years survival rates of 70% and 52% respectively. These data are totally in agreement with the survival rates reported in a randomized controlled trial comparing the efficacy of cTACE performed at regular interval versus “on demand”, with a median overall survival of 27 months and one and two

years survival rates of 69% and 50% respectively when performed “on demand” [7]. Higher bilirubin before first cTACE was also independently associated with shorter survival. This is in agreement with the fact that life expectancy depends not only upon tumour treatment efficacy, but also on the underlying severity of liver disease. Since no control arm is available, as it is ethically hardly acceptable not to treat eligible patients, it is difficult to ascertain any potential benefit of TACE treatment in more functionally compromised patients (like for instance Child-Pugh B) in comparison to best supportive care. Worth to mention is that some patients with decompensated disease might have been treated with cTACE only in the light of a final perspective of meeting the downstaging criteria for transplantation (but not all finally transplanted).

Multivariate analysis showed different clinical variables to be independent predictors of response to first, second and third cTACE procedures. This finding could derive from different conditions. The main one appears however to be the limited number of patients who could undergo a second or third cTACE procedure (namely only 44 and 18 cases submitted to second and third cTACE could be included in the analysis in comparison to 122 of first cTACE). It is known that small groups are statistically more prone to the influence of a few subject characteristics on final results. Moreover, these smaller groups are not independent but are subgroups of the first one, so that a selection trend might have occurred, leading to eliminate some variables which are no more represented after the natural selection. Briefly, we believe that the findings of the multivariate analysis after the first cTACE are the most clinically meaningful in our present series.

A possible limitation in the assessment of recurrences is the lack of chest CT scan and bone scintigraphy in all patients during follow-up. This might have produced an underestimation of extrahepatic spread. However, the guidelines do not define any specific assessment modality. Moreover, all patients with recurrence considered still eligible for retreatment were restaged,

receiving at least a chest Xray film and often a chest CT. Thus, the risk of underestimation appears rather limited.

In summary, although there is no standard approach in terms of the number of cTACE cycles to be performed in the individual patient, these data support the policy of repeating cTACE in patients with preserved liver function and not eligible to percutaneous treatments or surgery. Unfortunately only a limited proportion of patients are suitable to undergo more cTACE cycles even “on demand”, and thus other treatments [23], which are now available, should be considered at an early stage.

According to our series, in fact, three cTACE courses were performed only in very selected cases.

We believe that these results could provide the rationale for clinical recommendations for TACE repetition and be utilized as reference data for planning controlled trials aimed at the evaluation of the efficacy of repeated TACE versus TACE combined with other locoregional or versus systemic treatments.

## REFERENCES

- [1] Bruix J, Sherman M; Practice Guidelines Committee, American Association for the Study of Liver Disease. Management of hepatocellular carcinoma. An update. *Hepatology* 2011;53(3):1020-2.
- [2] Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, et al. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007;30:6-25.
- [3] Sangro B, D'Avola D, Inarrairaegui M, Prieto J. Transarterial therapies for hepatocellular carcinoma. *Expert Opin Pharmacother* 2011;12:1057-73.
- [4] Monna T, Kanno T, Marumo T, Harihara S, Kuroki T, Yamamoto S, et al. A comparison of transcatheter arterial embolization with one shot therapy for the patients with hepatic cell carcinoma. *Gastroenterol Jpn* 1982;17:542-9.
- [5] Vogl TJ, Trapp M, Schroeder H, Mack M, Schuster A, Schmitt J, et al. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: volumetric and morphologic CT criteria for assessment of prognosis and therapeutic success-results from a liver transplantation center. *Radiology* 2000;214:349-57.
- [6] Kwok PC, Lam TW, Chan SC, Chung CP, Wong WK, Chan MK, et al. A randomized clinical trial comparing autologous blood clot and gelfoam in transarterial chemoembolization for inoperable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2000;32:955-64.
- [7] Ernst O, Sergent G, Mizrahi D, Delemazure O, Paris JC, L'Hermine C. Treatment of hepatocellular carcinoma by transcatheter arterial chemoembolization: comparison of planned periodic chemoembolization and chemoembolization based on tumor response. *AJR Am J Roentgenol* 1999;172:59-64.
- [8] Raoul JL, Sangro B, Forner A, Mazzaferro V, Piscaglia F, Bolondi L, et al. Evolving strategies for the management of intermediate-stage hepatocellular carcinoma: available evidence and expert opinion on the use of transarterial chemoembolization. *Cancer Treat Rev* 2011;37:212-20.
- [9] Salem R, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Riaz A, Ryu RK, Ibrahim S, et al. Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-term outcomes. *Gastroenterology* 2010;138:52-64.
- [10] Sangro B, Carpanese L, Cianni R, Golfieri R, Gasparini D, Ezziddin S, et al. Survival after Yttrium-90 resin microsphere radioembolization of hepatocellular carcinoma across barcelona clinic liver cancer stages: A European evaluation. *Hepatology* 2011; 54:868-78.

- [11] Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, 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* 2009;10:25-34.
- [12] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008;359:378-90.
- [13] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001;35:421-30.
- [14] Piscaglia F, Camaggi V, Ravaioli M, Grazi GL, Zanello M, Leoni S, et al. A new priority policy for patients with hepatocellular carcinoma awaiting liver transplantation within the model for end-stage liver disease system. *Liver Transpl* 2007;13:857-66.
- [15] Cescon M, Vetrone G, Grazi GL, Ercolani G, Ravaioli M, Del Gaudio M, et al. Trends in perioperative outcome after hepatic resection: analysis of 1500 consecutive unselected cases over 20 years. *Ann Surg* 2009;249:995-1002
- [16] Golfieri R, Cappelli A, Cucchetti A, Piscaglia F, Carpenzano M, Peri E, et al. Efficacy of selective transarterial chemoembolization in inducing tumor necrosis in small (<5 cm) hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2011;53:1580-9.
- [17] Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2010;30:52-60.
- [18] Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, et al. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology* 2006;131:461-9.
- [19] Camma C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, Trevisani F, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 2002;224:47-54.
- [20] Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010;33:41-52.
- [21] Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E, Kelekis A, Hall B, Dourakis S, et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008;31:269-80.

[22] Varela M, Real MI, Burrel M, Forner A, Sala M, Brunet M, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol* 2007;46:474-81.

[23] Piscaglia F, Bolondi L. The intermediate hepatocellular carcinoma stage: Should treatment be expanded? *Dig Liver Dis* 2010;42 Suppl 3:S258-63.

## **TABLES**



Variable	1st cTACE (151 pts)		2nd cTACE (60 pts)		3rd cTACE (22 pts)	
	Number of patients	%	Number of patients	%	Number of patients	%
<b>Sex</b>						
Male	115	76	43	72	14	64
Female	36	24	17	28	8	36
<b>Age (yr)</b>						
≤65	84	56	31	52	10	45
>65	67	44	29	48	12	55
<b>Cause of disease</b>						
HBV	14	9	5	8	2	9
HCV	93	62	40	67	16	73
Alcohol	23	15	8	14	2	9
Multiple etiologies	11	7	5	8	2	9
Unknown	10	7	2	3	0	0
<b>Number of lesions</b>						
Unifocal	67	44	32	53	9	41
Multifocal	84	56	28	47	13	59
<b>Lesion morphology</b>						
Well defined	147	97	59	98	22	100
Infiltrating	4	3	1	2	0	0
<b>Lesion location</b>						
Right lobe	87	58	29	48	13	59
Left lobe	22	14	15	25	4	18
Bilobar	42	28	16	27	5	23

<b>Maximum tumor size, cm</b>						
<3.5	101	67	53	88	17	77
≥3.5	50	33	7	12	5	23
<b>Milan criteria</b>						
Within	103	68	44	73	16	73
Beyond	48	32	16	27	6	23
<b>Portal vein thrombosis</b>						
Absent	135	89	54	90	21	96
Segmental bland thrombosis	1	1	0	0	1	4
Lobar bland thrombosis	7	5	3	5	0	0
Segmental neoplastic thrombosis	8	5	3	5	0	0
<b>AFP, ng/mL</b>						
<20	65	43	25	42	7	32
20 – 200	57	38	25	42	11	50
>200	29	19	10	16	4	18
<b>Ascites</b>						
Absent	129	86	51	85	20	91
Mild – Moderate	17	11	3	5	1	4.5
Severe - Refractory	5	3	6	10	1	4.5
<b>Encephalopathy</b>						
Absent	147	97	59	98	22	100
Mild	4	3	1	2	0	0
Severe	0	0	0	0	0	0
<b>Serum total bilirubin, mg/dL</b>						
≤1.00	48	32	19	32	9	41

1.01 – 2.00	59	39	21	35	10	45
>2.00	44	29	20	33	3	14
<b>Serum total bilirubin, mg/dL</b>						
≤1.30	78	52	28	47	15	68
>1.30	73	48	32	53	7	32
<b>Serum albumin, g/dL</b>						
≤3.50	71	47	27	45	12	55
>3.50	80	53	33	55	10	45
<b>Serum INR</b>						
≤1.22	77	51	29	48	13	59
>1.22	74	49	31	52	9	41
<b>Hepatic function</b>						
CPT A	97	64	40	67	19	86
CPT B	51	34	17	28	3	14
CPT C	3	2	3	5	0	0
<b>Performance status</b>						
0	146	97	55	92	21	96
1	4	2	3	5	1	4
2	1	1	1	1.5	0	0
3 - 4	0	0	1	1.5	0	0
<b>BCLC stage</b>						
A	78	52	37	62	15	68
B	61	40	16	27	7	32
C	9	6	3	5	0	0
D	3	2	4	6	0	0

<b>MELD score</b>						
≤11	88	58	34	57	19	86
>11	63	42	26	43	3	14
<b>Tumour response</b>	72	48	34	57	12	55
CR	72	48	34	57	12	55
PR	32	21	11	18	5	23
SD	6	4	3	5	1	4
PD	26	17	9	15	2	9
<i>New HCC + CR target lesions</i>	11	42	6	63	2	100
<i>New HCC + non-CR target lesions</i>	13	50	3	37	2	100
<i>New onset neoplastic thrombosis</i>	1	4	0	0	0	0
<i>New HCC + progression neoplastic thrombosis + non-CR target lesions</i>	1	4	0	0	0	0
Not evaluable (NE)	15	10	3	5	2	9

**Table 1.** Clinical characteristics of patients submitted to cTACE at first, second and third cTACE cycle.

Variable were dichotomised on the basis of median values for age, albumin, INR. Maximum tumor size was dichotomised on the basis of the distribution of the values in a simple scatter graph. Bilirubin was reported twice considering as cut-off the median value and the values more clinically significant. Tumour response was evaluated according to mRECIST criteria.

		Indication to repeat cTACE					
		Recurrence after CR		Non-CR			
			%	PR	SD	PD	%
Tumour response to 2nd cTACE	CR	19	59	8	0	7	60
	PR	6	19	1	1	3	20
	SD	2	6	1	0	0	4
	PD	5	16	1	1	2	16
Tumour response to 3rd cTACE	CR	7	59	2	1	2	62.5
	PR	4	33	1	0	0	12.5
	SD	0	0	1	0	0	12.5
	PD	1	8	1	0	0	12.5

**Table 2.** Response outcome after second and third cTACE in patients grouped according to tumour response after previous cTACE cycles (reported in columns). Patients not evaluable were excluded (3 and 2 patients at second and third cTACE cycle respectively).

Variable	1st cTACE (122 pts)		2nd cTACE (44 pts)		3rd cTACE (18 pts)	
	Median survival (95% C.I.)	<i>P</i>	Median survival (95% C.I.)	<i>P</i>	Median survival (95% C.I.)	<i>P</i>
<b>Sex</b>						
Male	24.0 (17.5 – 30.5)	0.450	18.0 (9.2 – 26.8)	0.581	16.0 (10.6 – 21.4)	<b>0.037</b>
Female	29.0 (17.8 – 40.2)		34.0 (27.3 – 40.7)		9.8 (7.8 – 46.2)	
<b>Age, yr</b>						
≤65	24.0 (19.0 – 29.0)	0.992	12.0 (9.7 – 14.3)	<b>0.001</b>	17.0 (0 – 36.3)	0.171
>65	29.0 (18.3 – 39.7)		34.0 (26.2 – 41.7)		21.0 (4.0 – 38.0)	
<b>Cause of disease</b>						
HBV	21.0 (0 – 61.3)	0.166	12.0 (5.6 – 18.4)	0.147	**	
HCV	25.0 (15.1 – 34.9)		33.0 (26.5 – 39.5)		27.0 (7.0 – 47.0)	
Alcohol	28.0 (19.5 – 36.5)		25.0 (10.0 – 40.4)		**	
Multiple etiologies	10.0 (4.2 – 15.8)		**		-	
Unknown	23.0 (0 – 52.2)		**		-	
<b>Number of lesions</b>						
Unifocal	34.0 (21.8 – 46.1)	<b>0.035</b>	27.0 (13.6 – 40.4)	0.804	35.0 (15.3 – 54.7)	<b>0.008</b>
Multifocal	21.0 (15.7 – 26.3)		19.0 (0 - 41.0)		16.0 (13.1 – 19.0)	
<b>Lesion morphology</b>						
Well defined	26.0 (19.0 – 33.0)	<b>&lt;0.001</b>	27.0 (15.9 – 38.1)			
Infiltrating	3.0		*			
<b>Lesion location</b>						
Right lobe	34.0 (24.3 – 43.6)	<b>0.004</b>	30.0 (19.8 – 40.2)	0.656	21.0 (9.0 – 32.9)	0.103
Left lobe	26.0 (0 – 60.0)		21.0 (0.3 – 41.7)		35.0 (3.0 – 67.9)	
Bilobar	17.0 (4.1 – 29.8)		14.0 (1.6 – 26.4)		16.0 (1.6 – 30.4)	

<b>Maximum tumor size, cm</b>						
<3.5	29.0 (20.0 – 38.0)	<b>0.019</b>	33.0 (23.9 – 42.1)	<b>&lt;0.001</b>	15.0 (10.5 – 19.5)	0.821
≥3.5	12.0 (0.8 – 23.1)		3.0 (0.4 – 5.6)		21.0 (14.6 – 27.4)	
<b>Milan criteria</b>						
Within	34.0 (23.7 – 44.3)	<b>&lt;0.001</b>	33.0 (23.9 – 42.1)	<b>0.015</b>	27.0 (11.4 – 42.6)	0.385
Beyond	11.0 (5.9 – 16.1)		4.0 (1.4 – 6.6)		17.0 (11.4 – 42.6)	
<b>Portal vein thrombosis</b>						
Absent	29.0 (22.0 – 36.0)	<b>&lt;0.001</b>	29.0 (18.7 – 32.3)	<b>&lt;0.001</b>	17.0 (13.1 – 20.1)	
Bland thrombosis	28.0 (22.9 – 33.1)		10.0 (0.4 – 19.6)		*	
Neoplastic thrombosis	3.0		1.0		-	
<b>AFP, ng/mL</b>						
<20	39.0 (29.3 – 48.7)	<b>&lt;0.001</b>	36.0 (16.1 – 55.9)	0.550	34.0 (7.0 – 60.9)	0.528
20 – 200	22.0 (9.4 – 34.5)		8.0 (10.3 – 41.6)		15.0 (8.8 – 21.2)	
>200	17.0 (3.9 – 30.0)		10.0 (0 – 23.8)		4.9 (11.3 – 24.7)	
<b>Ascites</b>						
Absent	29.0 (21.7 – 36.3)	<b>0.040</b>	30.0 (19.7 – 40.3)	<b>&lt;0.001</b>	21.0 (9.0 – 32.9)	<b>0.019</b>
Present	10.0 (4.7 – 15.3)		3.0 (0 – 7.3)		**	
<b>Encephalopathy</b>						
Absent	24.0 (18.2 – 29.8)	0.809				
Present	34.0 (19.6 – 48.4)					
<b>Serum total bilirubin, mg/dL</b>						
≤1.00	50.0 (34.3 – 65.7)	<b>&lt;0.001</b>	38.0 (22.7 – 53.3)	<b>0.034</b>	27.0 (7.8 – 46.2)	<b>0.001</b>
1.01 – 2.00	25.0 (20.5 – 29.5)		19.0 (5.1 – 32.9)		17.0 (14.2 – 19.8)	
>2.00	10.0 (7.4 – 12.6)		11.0 (1.7 – 20.3)		8.0 (6.4 – 9.6) (3 pz)	
<b>Serum total bilirubin, mg/dL</b>						

≤1.30	41.0 (34.6 – 47.4)	<b>&lt;0.001</b>	34.0 (24.0 – 44.0)	0.074	27.0 (9.6 – 44.4)	<b>0.007</b>
>1.30	17.0 (6.4 – 27.6)		16.0 (8.0 – 24.0)		12.0 (9.4 – 14.6)	
<b>Serum albumin, g/dL</b>						
≤3.50	17.0 (7.5 – 26.5)	<b>0.010</b>	16.0 (3.0 – 29.0)	0.206	35.0 (24.5 – 45.5)	<b>0.004</b>
>3.50	32.0 (17.9 – 46.1)		29.0 (21.3 – 36.7)		15.0 (11.3 – 18.7)	
<b>Serum INR</b>						
≤1.22	32.0 (17.9 – 46.1)	0.164	34.0 (25.0 – 43.0)	<b>0.025</b>	18.0 (15.1 – 21.0)	0.769
>1.22	22.0 (18.0 – 25.9)		16.0 (5.9 – 26.1)		16.0 (0 – 38.6)	
<b>Hepatic function</b>						
CPT A	35.0 (26.5 – 43.5)	<b>0.001</b>	33.0 (24.5 – 41.5)	<b>&lt;0.001</b>	21.0 (5.8 – 36.2)	<b>0.001</b>
CPT B	10.0 (5.9 – 14.1)		11.0 (1.7 – 20.2)		8.0 (6.4 – 9.6)	
CPT C	10.0 (0 – 26.0)		*		-	
<b>Performance status</b>						
0	25.0 (19.2 – 30.8)	<b>0.664</b>	27.0 (16.3 – 37.7)	0.083	17.0 (13.1 – 21.0)	*
1 - 4	23.0 (0 – 48.5)		4.0 (0 – 8.7)			
<b>BCLC stage</b>						
A	39.0 (32.9 – 45.0)	<b>&lt;0.001</b>	34.0 (27.5 – 40.5)	<b>&lt;0.001</b>	27.0 (1.6 – 52.4)	0.233
B	20.0 (9.3 – 30.7)		8.0 (0 – 18.2)		17.0 (14.4 – 19.5)	
C	3.0		1.0		-	
D	10.0 (0 – 26.0)		**		-	
<b>MELD score</b>						
≤ 11	38.0 (27.5 – 48.5)	<b>0.001</b>	30.0 (19.2 – 40.8)	0.162	34.0 (23.0 – 45.0)	<b>&lt;0.001</b>
> 11	19.0 (9.6 – 28.3)		12.0 (0 – 26.6)		12.0 (10.4 – 13.6)	
<b>Tumour response</b>						
CR	35.0 (26.8 – 43.1)	<b>0.014</b>	29.0 (21.3 – 36.7)	<b>0.497</b>	16.0 (0 – 42.2)	<b>0.759</b>



PR	22.0 (7.4 – 36.6)		5.0 (2.8 – 7.1)		21.0 (0 – 43.4)	
SD	3.0 (0 – 7.9)		16.0 (0 – 40.0)		-	
PD	22.0 (1.5 – 42.5)		3.0 (0 – 19.6)		**	
<b>Tumour response</b>						
CR vs.	35.0 (26.8 – 43.1)	<b>0.001</b>	29.0 (21.3 – 36.7)	0.163	16.0 (0 – 42.2)	0.786
Non-CR	19.0 (6.5 – 31.5)		14.0 (0 – 33.2)		21.0 (14.5 – 27.4)	
Responders vs.	30.0 (21.3 – 38.6)	0.076	29.0 (22.0 – 36.0)	0.140	21.0 (0.1 – 41.9)	0.648
Non Responders	11.0 (0 – 27.5)		14.0 (0 – 29.1)		**	
Disease control vs.	28.0 (19.9 – 36.1)	0.102	29.0 (16.6 – 41.4)	0.253	21.0 (0.1 – 41.9)	0.648
Progressors	22.0 (1.5 – 42.5)		3.0 (0 – 19.6)		**	
<b>Retreatment indication</b>						
Relapse			21.0 (6.3 – 35.7)	0.504	17.0 (11.9 – 22.1)	0.429
Non-CR after previous cTACE			34.0 (18.5 – 49.5)		27.0 (3.4 – 50.6)	

**Table 3.** Univariate survival analysis considering the survival from the date of each cTACE cycle.

Patients submitted to transplantation were excluded from the analysis. The assessment of tumour response was considered at 1 month after cTACE. In the analysis of survival according to tumour response also patients not evaluable were excluded from the analysis.

\* survival was not reported because the analysis includes only 1 patient

\*\* survival was not reported because the analysis includes in only 2 patients

*Abbreviations:* **Non-CR:** PR + SD + PD; **Responders:** CR + PR; **Non Responders:** SD + PD; **Disease control:** CR + PR + SD; **Progressors:** PD.

Variable	1st cTACE (122 pts)		2nd cTACE (44 pts)		3rd cTACE (18 pts)	
	<i>P</i>	HR	<i>P</i>	HR	<i>P</i>	HR
Sex					n.s.	
Age			<0.001	4.3		
Number of lesions	n.s				0.005	0.1
Lesion morphology	n.s					
Lesion location	n.s					
Maximum tumor size	n.s		<0.001	0.1		
Milan criteria	n.s		n.s			
Portal vein thrombosis	n.s		n.s			
AFP	0.018	1.9				
Ascites	n.s		n.s		n.s.	
Serum total bilirubin	0.007	2.3	n.s		n.s.	
Serum albumin	n.s				n.s.	
Serum INR			0.031	0.4		
Hepatic function	n.s		n.s		n.s.	
Performance status						
BCLC stage	n.s		n.s			
Tumour response	0.015	2.1				
MELD score	n.s				0.002	0.03

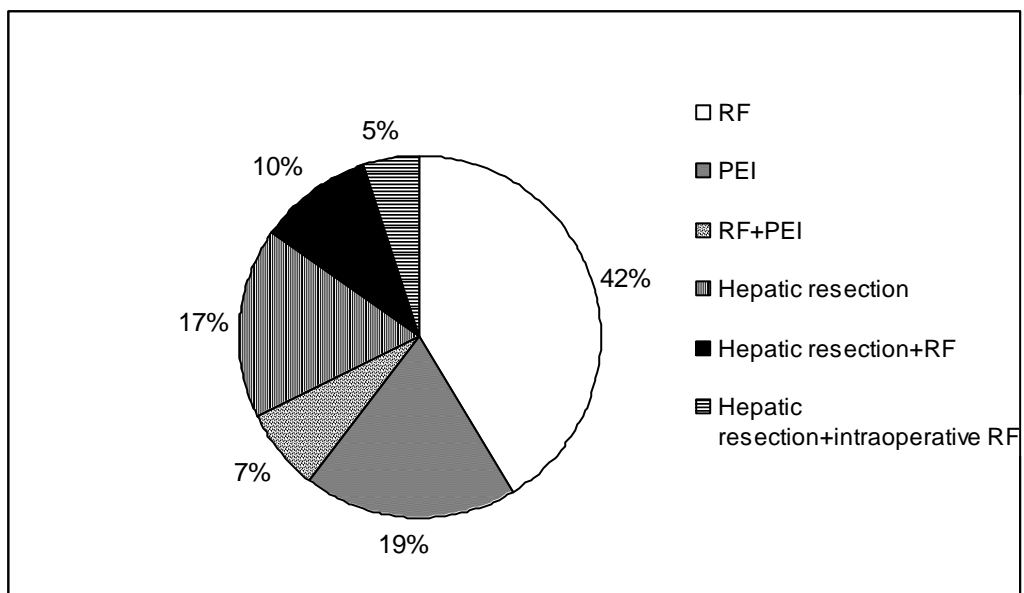
**Table 4.** Multivariate survival analysis.

Patients submitted to transplantation were excluded from the analysis.

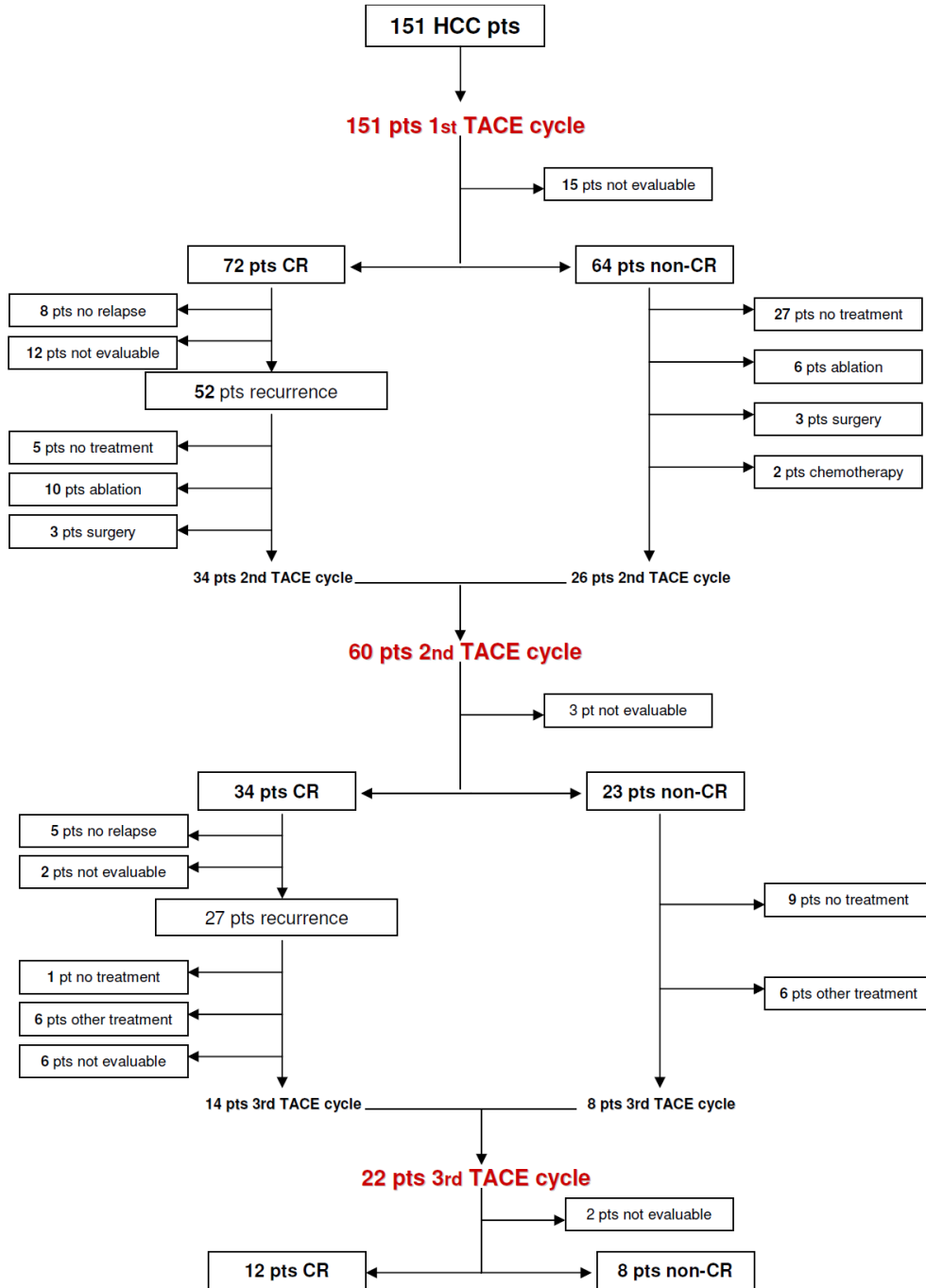
\* survival was not reported because the analysis includes only 1 patient

\*\* survival was not reported because the analysis includes in only 2 patients

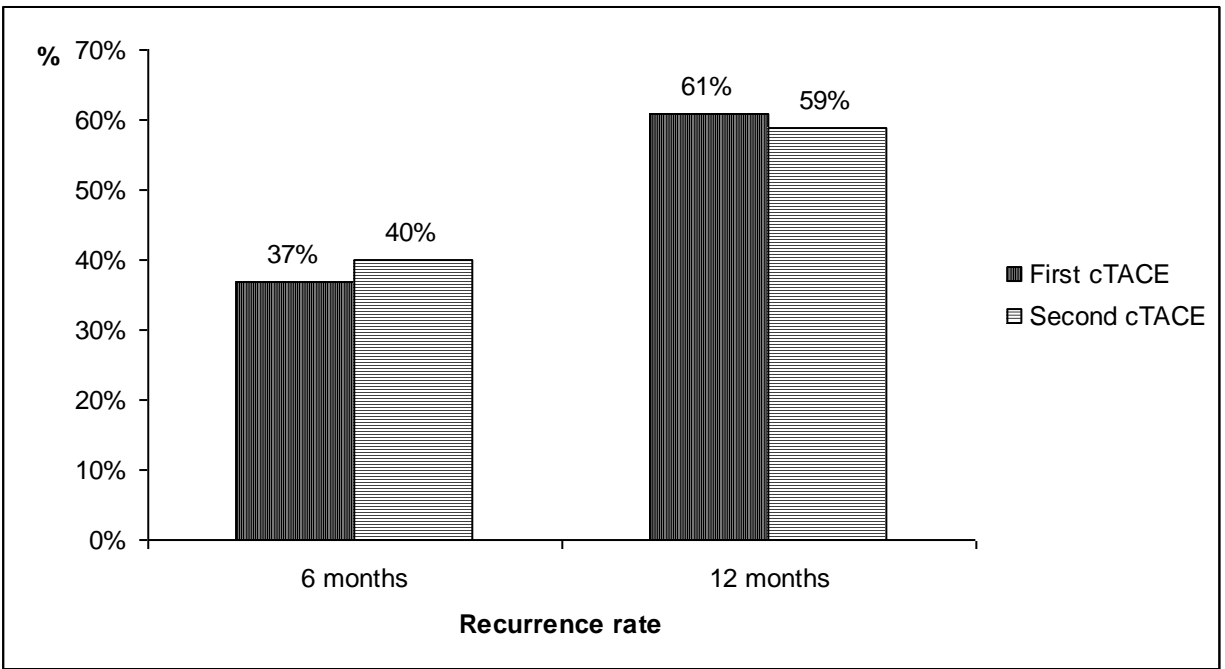
## FIGURES



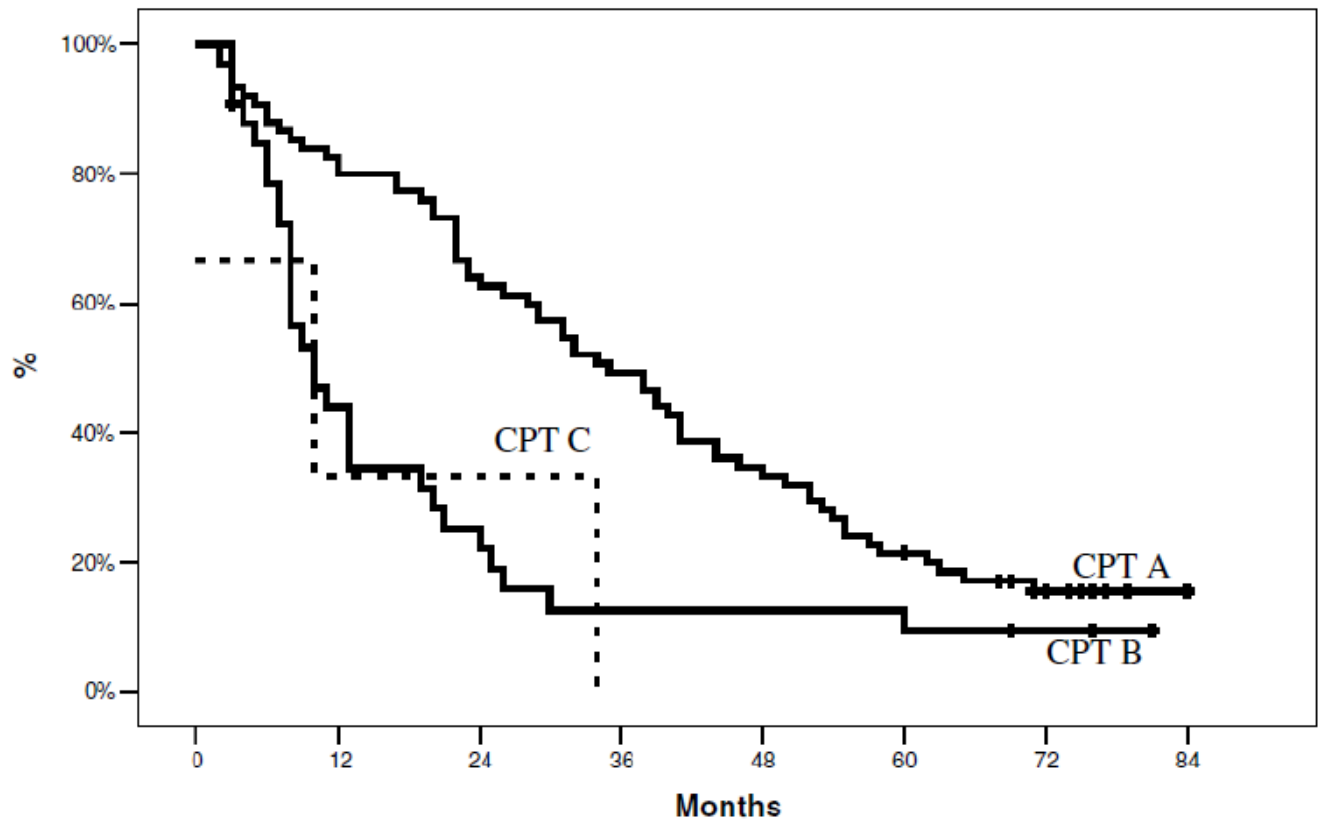
**Fig. 1.** Treatment modalities before first cTACE cycle (41/151 patients).



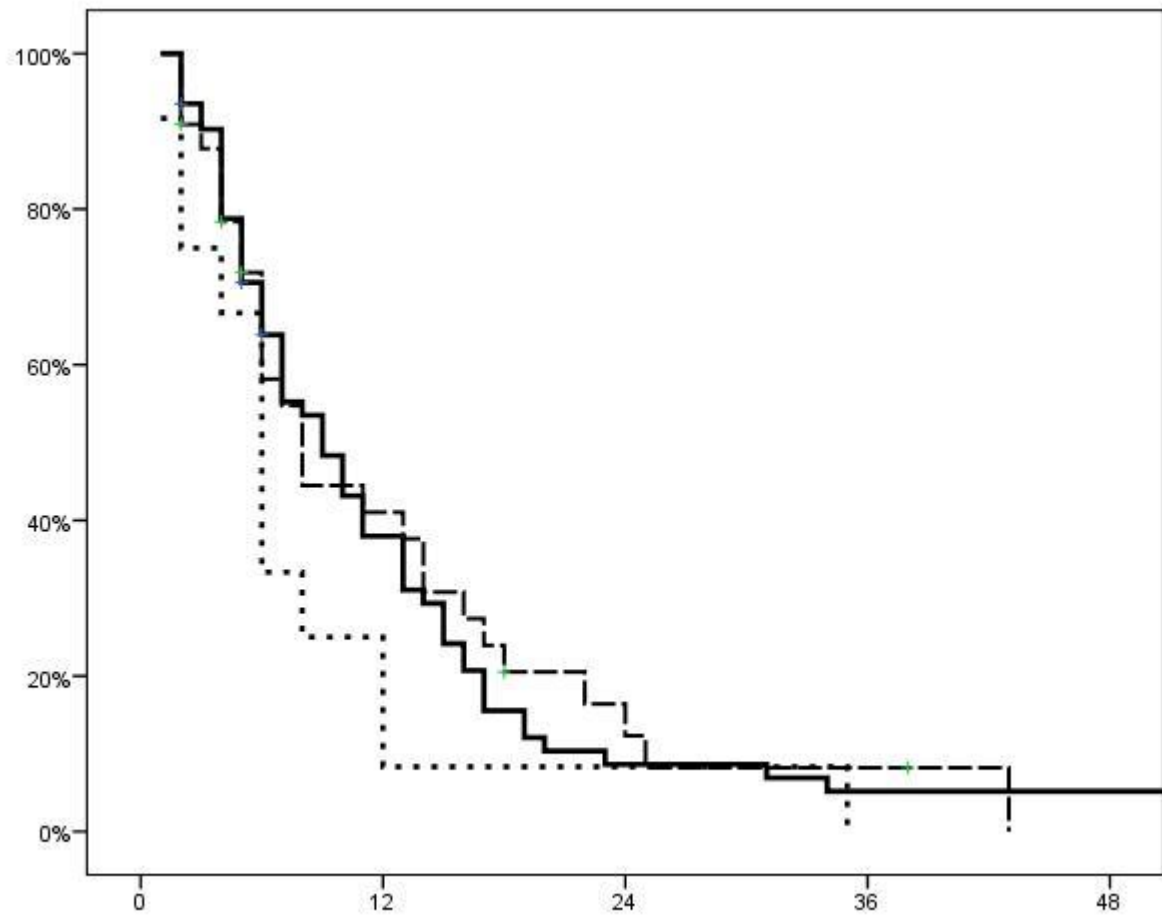
**Fig. 2.** Flow chart summarizing the actual cTACE repetition in the present series of patients based on a schedule “on demand”.



**Fig. 3.** Estimated recurrence rate at 6 and 12 months in patients with complete response after first cTACE and a second cTACE cycle performed “on demand”.

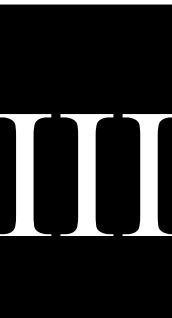


**Fig. 4.** Overall survival analysis in patients treated with first TACE cycle subgrouped according to Child-Pugh class (patients submitted to transplantation excluded).



**Fig. 3S.** Recurrence-free survival of patients with CR after first (RFS 1), second (RFS 2) and third (RFS 3) cTACE cycle. Patients submitted to liver transplantation were considered as having or not recurrence according to last imaging assessment before liver transplant. RFS 1 curve was stopped at 48 months to be entered in the figure, but approximated a straight line thereafter.





**THE IMPACT OF MULTIPLE TACE TREATMENTS ON HCC FOR  
PATIENTS AWAITING LIVER TRANSPLANTATION**

**Terzi E<sup>1,2</sup>, Kim WR<sup>2</sup>, Sanchez W<sup>2</sup>, Charlton MR<sup>2</sup>, Schmeltzer P<sup>2</sup>, Gores GJ<sup>2</sup>, Heimbach JK<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Department of Internal Medicine and Gastroenterology; University of Bologna, Policlinico

Sant'Orsola-Malpighi, Bologna, Italy

<sup>2</sup> Division of Transplant Surgery, William J. von Liebig Transplant Center, Mayo Clinic, Rochester,

Minnesota, USA

## ABSTRACT

**Background.** Transarterial Chemoembolization (TACE) is a common treatment for patients with hepatocellular carcinoma (HCC) awaiting liver transplantation (LT) to reduce risk of tumor progression. The **Aim** of the current study was to assess the impact of multiple TACE treatments on tumor necrosis, tumor recurrence, and survival in HCC patients awaiting LT.

**Methods.** A retrospective analysis of 115 consecutive LT for HCC from January 2002 - December 2009 and treated with TACE before LT was performed using chi-square, *t* test, Kaplan-Meier, Logistic regression and Cox regression and.

**Results.** The number of TACE cycles was not associated with complete or partial tumor necrosis in the explant. However, lesions >3 cm and single lesions were more likely to show complete or partial necrosis compared to no necrosis.

After a median follow-up of 57 months (range 0-123), 17/115 patients (15%) developed recurrent HCC after LT. Recurrence free survival was 95%, 94% and 88% at 1-, 3- and 5-years respectively.

Recurrence had a significant relationship with a short interval between diagnosis of HCC and LT (23% of patients waiting  $\leq 6$  months recurred versus 7% of patients who waited  $> 6$  months,  $P=0.013$ ) both at univariate and multivariate analysis ( $P=0.050$ , OR=4.4). Patients submitted to single TACE were also found to have more likely recurrence at univariate analysis though this finding was not confirmed at multivariate analysis probably because patients submitted to single TACE had a shorter waiting time ( $P<0.001$ ). No significant relationship was observed between tumor necrosis and recurrence. At multivariate analysis, also largest tumor diameter  $> 2.5$  cm ( $P=0.033$ , OR=14.1), AFP  $> 8.7$  ng/mL before LT ( $P=0.028$ , OR=5.2), short interval between diagnosis of HCC and LT  $\leq 6$  months ( $P=0.050$ , OR=4.4) and vascular invasion in the explanted livers ( $P=0.033$ , OR=6.9) were independent predictor of recurrence.

The mean overall survival was 101.5 months (95% C.I. 93.9-109.2). Largest tumor >2.5 cm before TACE ( $P=0.032$ , OR=3.3) and tumor characteristics at pathological examination of the explanted liver including multiple nodules ( $P=0.005$ , OR=10.4), tumor beyond MC ( $P=0.048$ , OR=3.7) and vascular invasion ( $P<0.001$ , OR=14.0) were found to be independent predictors of shorter survival at multivariate analysis. The number of TACE treatments was not associated with survival.

**Conclusions.** The present study did not show any impact of multiple TACE cycles on tumor necrosis, recurrence or overall survival. Waiting time >6 months to LT is associated with decreased risk of recurrence after LT. This data may be useful to guide organ allocation policy for selection of HCC patients with a more favorable biological behavior through a minimum observation time before LT.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma; liver transplantation; multiple transarterial chemoembolization; tumor necrosis; tumor recurrence.

## INTRODUCTION

Liver transplantation (LT) for hepatocellular carcinoma (HCC) offers excellent results if the indication is restricted to patients within Milan criteria (1 tumor  $\leq 5$  cm and up to 3 tumors  $\leq 3$  cm) with reported 5-year survival rates of up to 70% and 5-year recurrence rates of less than 20% [1]. Although LT is a widely accepted treatment for HCC, much controversy remains [2] such as the optimal tumor criteria selection for LT, the best allocation policy for HCC patients and the use of locoregional treatments for patients awaiting LT. Several neo-adjuvant antitumoral therapies are usually administered to HCC patients on the wait list for LT (bridging treatments) both to reduce tumor growth [3] and the wait list dropout rate and to improve post-transplant survival [4]. Transarterial chemoembolization (TACE) is a common treatment for patients awaiting LT to prevent list dropout and to improve post-transplant survival [4] even if no prospective studies showing decreased wait list dropout rates or better outcome in patients submitted to TACE before LT have been performed [3].

To date no evidences exist about the possibility of having adverse events or surgical complications during LT after multiple TACE session [4] but, to the best of our knowledge, no studies evaluating the impact of multiple TACE in patients awaiting LT on tumor necrosis, recurrence and post-transplant survival are reported. In addition, some studies evaluated the relationship between the completeness of necrosis after TACE and HCC recurrence but discordant results were reported [5, 6].

Given these premises, the aim of our study was to evaluate the impact of multiple TACE treatments on tumor necrosis, recurrence and overall survival after LT. Secondary aim was also to evaluate the impact of tumor necrosis on post-transplant recurrence.

## **PATIENTS AND METHODS**

### **Patient population**

The present study is a cohort study conducted as a retrospective analysis of a database of consecutive patients. Between January 2002 and December 2009, 151 patients with HCC were consecutively treated with TACE in the Department of Radiology of the Mayo Clinic before being submitted to LT. The time period was limited to end 2009 in order to have a follow-up period long enough to assess overall survival in most patients and the analysis of the follow-up was stopped at May 2012. Patients included in the study met the following inclusion criteria: (1)  $\geq 18$  years of age of either sex; (2) HCC diagnosis based on AASLD and EASL guidelines [7, 8]; (3) first treatment of HCC before liver transplant performed during the study period; (4) treatment of HCC performed only with TACE with bridging (or in selected cases downstaging) intents. Patients were excluded from the study population if they had (1) histological diagnosis in liver explant of tumor different from HCC; (2) no HCC treatment before liver transplant or (3) HCC treatments different from TACE. Medical records were reviewed from the Mayo Clinic hepatobiliary neoplasia registry in order to collect demographic, clinical and laboratory data and to review both the images and the reports of computed tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI) and angiography performed.

Out of 151 patients treated with TACE during the study period and subsequently submitted to LT, 5 were excluded because they had histological diagnosis in liver explant of tumor different from HCC, 12 were excluded because they didn't receive TACE treatments before LT and 19 were excluded because they received HCC treatments different from TACE. The remaining 115 patients met the inclusion criteria for the study and represent the final study group (Fig 1).

## **Methods**

### **Diagnosis of HCC**

The diagnosis of HCC was assessed by the presence of intrahepatic mass with histological proof of HCC or typical HCC features at imaging techniques according to AASLD and EASL guidelines [7, 8].

### **Suitability to liver transplant**

Prior to placement of patients on the waiting list, each individual case was evaluated for appropriateness during the liver transplantation selection conference held by the transplant center multidisciplinary team. The vast majority of patients met Milan criteria (1 nodule  $\leq$  5 cm or 2-3 nodules, each  $<$  3 cm) based on a pre-operative imaging. A limited number of patients, otherwise suitable to LT and reasonably close to Milan criteria at the time of first TACE treatment, were referred to LT once their tumor burden was successfully downstaged to meet MC. All patients were followed with serial imaging at least every 3 months including abdominal CT or MR and chest CT to rule out vascular invasion or extrahepatic disease. A bone scan was also performed at time of initial evaluation to rule out bone metastasis. The decision of candidacy for liver transplantation was reviewed according to standard center selection guidelines.

After the placement of patients on the waiting list, each patient was routinely followed-up in the outpatient clinic to define (1) clinical status, (2) laboratory tests and (3) tumor burden by imaging techniques. Clinical, laboratory and imaging assessment were performed at least every 3 months but with possible intensifications according to the clinician's choice on the basis of the clinical context. The wait list status of each patient was reviewed weekly during the wait list review in order to maintain an up-to-date imaging and wait list status.

### **Preoperative TACE protocol and policy for retreatment**

TACE treatment was performed using a transfemoral access with a microcatheter (<3F). A selective celiac and superior mesenteric angiography was initially performed to define the hepatic artery anatomy and to evaluate the portal system. The embolization solution, contained a mixture of 10 mg of mitomycin, 50 mg of cisplatin, 50 mg of doxorubicin and polyvinyl alcohol particles (250 to 355  $\mu\text{m}$ ). The mixture of chemotherapeutic agents and polyvinyl alcohol particles was suspended in 10 mL of contrast. The blood supply to the tumor(s) was then catheterized as selectively as possible and the chemoembolic mixture was injected under fluroscopic control, until a complete blockage of the tumor feeding branch was demonstrated. At the end of the procedure, a hepatic angiography was performed to define the extent of embolization.

After TACE, patients were generally managed with bed rest for 6 hours following the procedure and discharged the second day after the session if no complications appeared. During the hospital recovery, patients underwent clinical examination and laboratory tests on the next morning after the procedure in order to exclude the development of significant liver decompensation.

In some cases, when the single procedure was unable to treat all nodules in one single session, subsequent TACE sessions were performed generally within 3 months. Patients underwent imaging (chest radiography and CT scans of the chest and abdomen or contrast-enhanced MRI) at 3 months after TACE procedure in order to assess the radiological response in treated lesions and exclude disease recurrences. If evidence of viable tumor remained or local and/or distant intrahepatic recurrences were demonstrated, patients with a well preserved liver function and clinical status, were submitted to further TACE sessions.

In the present study, both the total number of TACE sessions for each patient and for each single nodule were reported.



### **Surgical procedure**

An abdominal exploration and possible hilar lymph nodes biopsy (if suspicious) was performed during LT to further exclude extrahepatic metastasis. LT was performed using both deceased and living donor allografts, utilizing a caval-sparing approach and the piggy-back technique . The time period between HCC diagnosis and LT was reported.

### **Pathological examination of the explanted liver**

After LT, all the livers were evaluated by expert hepatobiliary pathologists. Liver specimens were evaluated according to the recommendations of the Association of Directors of Anatomic Surgical Pathology (ADASP) [9] including fixation and subsequent sectioning with 1 cm slices. Tumor location, greatest dimension, type of margins, histological degree of differentiation according to Edmondson and Steiner classification [10], tumor necrosis, satellites lesions, macroscopic or microscopic vascular invasion were reported for each single nodule of HCC. In the present study, tumor necrosis was considered “complete” and “none” when the pathologist reported a necrosis of 100% and 0% respectively in the whole tumor area. All the other percentages of necrosis were considered “partial”. Tumor size was reported according to the largest size of the nodule, irrespectively of the presence of viable tumor or necrotic tissue. Obviously, the degree of differentiation was not reported for completely necrotic nodules.

For the purpose of our study of evaluating tumor recurrences and overall survival of patients according to tumor characteristics, in patients with multiple lesions only the worst tumor characteristics were reported for each patient. The analysis of the histological outcome (tumor necrosis) was reported for each single nodule.

### **Assessment of tumor recurrence after liver transplant**

After LT, patients were routinely submitted to chest radiography and CT scans of the chest and abdomen every 4 months during the first year, every 6 months during the second year and then

additional imaging techniques were performed if HCC recurrence was suspected. If recurrence appeared, its location and time to recurrence were reported.

### **Statistical analysis**

Continuous variables were reported as median and range. Comparisons among groups were calculated using non-parametric tests (Mann-Whitney and Wilcoxon). Categorical variables were compared with the  $\chi^2$  test. All tests were considered significant at  $P < 0.05$ . Overall survival was defined as the time interval between LT and death or the date of the last follow-up. For the assessment of recurrence-free survival, patients were censored either at the time of recurrence or death. Univariate analysis was performed in order to identify factors predicting survival. Survival curves were computed according to Kaplan-Meier methods and compared by Log-rank tests. All variables with  $P < 0.05$  were included in multivariate analysis to assess their impact as independent predictive factors. Cox regression and Logistic regression were used for multivariate analysis. Overall survival was reported as mean and 95% of confidence interval since median was not evaluable due to a survival superior to 50%.

Analysis of the data was performed using SPSS statistical analysis software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 1999).

## **RESULTS**

### **Baseline characteristics of patients**

The vast majority of patients were male (87%), the most frequent etiology of cirrhosis was viral (38% ) and the median age at the time of the first TACE procedure was 57 years. The majority of patients were submitted to multiple TACE cycles before LT (63%) and 11 patients (10%) were beyond Milan criteria before TACE (in those patients TACE treatment was performed with downstaging intention). Table 1 reports the baseline demographic, clinical and tumor characteristics of the whole patient cohort.

### **Tumor characteristics at pathological examination of the explanted liver**

For the purpose of collecting tumor characteristics for each patient, patients with multiple nodules were reported as having the worst tumor characteristics observed at the pathological examination. The majority of patients had single nodules (57%). Unfortunately some patients showed histological features of more advanced tumor burden such as tumor size beyond Milan criteria (23%), microscopic vascular invasion (11%), poorly differentiated tumor (G4, 5%) and satellites (13%). Regarding tumor necrosis, 21 patients (19%) showed no necrosis at all, 64 (54%) partial necrosis and 23 (21%) complete necrosis in all nodules (Table 2).

### **Tumor necrosis at pathological examination of the explanted liver**

Out of 115 patients, a total of 196 nodules were identified with the aim to assess tumor necrosis for each single HCC nodule. Variables affecting tumor necrosis were also evaluated (Table 3).

Tumor necrosis was influenced by the number of nodules and their diameter (Table 3). In fact, single nodules and nodules >3 cm were more likely to show complete or partial necrosis compared to none necrosis ( $P=0.002$  and  $P=0.023$  respectively). Interestingly, the number of TACE cycles for each single nodule was not predictive of tumor necrosis.

### **Tumor recurrence after liver transplant**

After a median follow-up of 57 months (range 0-123 months) after LT, 17 patients (15%) developed recurrence after a median time of 12 months (range 1-96) from LT. Out of 17 patients who relapsed, 11 (65%) had liver involvement. Recurrence-free survival rates were 95%, 94% and 88% at 1-, 3- and 5-year respectively. Variables significantly associated with tumor recurrence at univariate analysis were: tumor characteristics including largest tumor diameter >2.5 cm before TACE ( $P<0.001$ ), serum AFP >8.7 ng/mL before LT ( $P=0.012$ ), microscopic vascular invasion and satellites in the explanted liver ( $P<0.001$  and  $P=0.009$  respectively) (Table 4).

Interestingly, recurrence had a significant relationship with a short interval between diagnosis of HCC and LT (23% of patients waiting  $\leq 6$  months recurred versus 7% of patients who waited >6 months,  $P=0.013$ ) both at univariate and multivariate analysis ( $P=0.050$ , OR=4.4). Patients submitted to single TACE were also found to have more likely recurrence at univariate analysis though this finding was not confirmed at multivariate analysis. No significant relationship was observed between tumor necrosis and recurrence. At multivariate analysis, also largest tumor diameter >2.5 cm ( $P=0.033$ , OR=14.1), AFP >8.7 ng/mL before LT ( $P=0.028$ , OR=5.2), short interval between diagnosis of HCC and LT  $\leq 6$  months ( $P=0.050$ , OR=4.4) and vascular invasion in the explanted livers ( $P=0.033$ , OR=6.9) were independent predictor of recurrence

### **Overall patient survival after liver transplant**

Out of 115 HCC patients submitted to LT after single or multiple TACE, 24 (21%) died within the study period (January 2002 - May 2012). The mean overall survival of the whole study population was 101.5 months (95% CI = 93.9-109.2) with a 1-year, 3-year and 5-year survival rates of 92%, 88% and 83% respectively. At univariate survival analysis, largest tumor diameter >2.5 cm before TACE, presence of ascites before TACE and tumor characteristics at pathological examination including multiple nodules, tumor beyond Milan criteria, vascular invasion, poorly differentiated

HCC and the presence of satellites (Table 5), were statistically associated with shorter survival. Interestingly, tumor necrosis in explanted liver had no impact on overall survival (Table 5). At multivariate analysis, largest tumor >2.5 cm before TACE ( $P=0.032$ , OR=3.3) and tumor characteristics at pathological examination of the explanted liver including multiple nodules ( $P=0.005$ , OR=10.4), tumor beyond MC ( $P=0.048$ , OR=3.7) and vascular invasion ( $P<0.001$ , OR=14.0) remained significant independent predictors of shorter survival.

## DISCUSSION

Liver transplant represents the treatment of choice in selected patients with HCC but many issues regarding the optimal tumor criteria selection for LT, the best allocation policy for HCC patients and the use of neo-adjuvant locoregional treatments for patients awaiting LT are still controversial.

LT achieves excellent results in patients within Milan criteria (1 tumor  $\leq 5$  cm and up to 3 tumors  $\leq 3$  cm) with reported 5-year survival rates of up to 70% and recurrence rates of less than 20% [1]. The major dilemma of LT for the treatment of HCC is the increasing scarcity of donors with a prolonged waiting time and dropout rates on the wait list both for patients with and without HCC [11, 12]. Dropout of HCC patients is common because of cancer progression [2] and evidences show higher dropout rates in patients with tumor  $>3$  cm and an expected waiting time longer than 3-6 months [4]. Several neo-adjuvant locoregional treatments are usually administered as bridging strategy for patients on the wait list in order to reduce tumor growth [3] and consequently the wait list dropout [2]. Bridging strategies might be appropriate for patients with 1 nodule of 2-5 cm or less than 3 nodules each  $\leq 3$  cm expected to wait longer than 6 months [2] even if no RCT evaluating the impact of neo-adjuvant therapies on wait list dropout rate are available. Furthermore, evidences indicate that neo-adjuvant treatments for patients awaiting LT also improve post-transplant survival.

Transarterial chemoembolization is a common treatment for patients awaiting LT both to prevent list dropout and to improve post-transplant survival [4] even if no prospective studies showing decreased wait list dropout rates or better outcome in patients submitted to TACE before LT have been performed [3].

TACE has been reported to be more effective in terms of histological tumor necrosis when performed in tumor between 3-5 cm in diameter [13]. In our study, when assessing tumor necrosis for each single HCC nodule, we found that both single nodule vs. multiple and nodules  $>3$  cm vs.

smaller ones were more likely to show complete or partial necrosis compared to no necrosis ( $P=0.002$  and  $P=0.023$  respectively). These data probably reflect the limitation of TACE treatment for smaller tumor where an incomplete tumoral neoangiogenesis usually occurs [13]. Notably, multiple TACE cycles performed for each single nodule were not found to be predictor of tumor necrosis.

When assessing tumor recurrence after LT, we found that tumor recurrence had a significant relationship with the time interval between diagnosis of HCC and LT (23% of patients waiting  $\leq 6$  months recurred versus 7% of patients who waited  $>6$  months,  $P=0.013$ ) which was also an independent predictor of survival at multivariate analysis ( $P=0.050$ , OR=4.4). Patients submitted to single TACE cycle vs. multiple were also found to have more likely recurrence at univariate analysis but this finding was not confirmed at multivariate analysis probably because patients submitted to single TACE had a shorter waiting time ( $P<0.001$ ). The increased incidence of recurrence in case of short time to LT has been already raised [4]. Short times to LT, in fact, may prevent the tumor biology to be exposed masking more aggressive tumors with a subsequent negative impact on post-LT survival.

The other independent predictors of recurrence at multivariate analysis included tumor characteristics such as largest tumor diameter  $>2.5$  cm before TACE ( $P=0.033$ , OR=14.1), AFP  $>8.7$  ng/mL before LT ( $P=0.028$ , OR=5.2) and vascular invasion at pathological examination ( $P=0.033$ , OR=6.9) further stressing the role of tumor biology in the recurrence after LT.

Other studies have evaluated the relationship between the completeness of necrosis after TACE and HCC recurrence after LT but discordant results were reported. In particular, Ravaioli et al. found partial necrosis to be an independent risk factor for tumor recurrence after LT [5] but others were unable to show significant decrease in recurrence after histopathological good response to TACE [6]. The contradictory results lead us to investigate also this topic. Differently from the data reported

by Ravaioli et al [5], we did not find a statistical relationship between histological necrosis at pathological examination and recurrence after LT (Table 4). This data, similar to Shaudt et al. [6] is not completely unexpected since both tumor necrosis and recurrence after liver transplant are most likely related to tumor biology rather than multiple treatments or apparent necrosis respectively.

Our study showed excellent survival rates of 92%, 88% and 83% at 1-, 3- and 5-year respectively, similar to that reported by Mazzaferro et al. [1]. At multivariate analysis, either tumor characteristics before TACE (largest tumor >2.5 cm,  $P=0.032$ , OR=3.3) and tumor characteristics at pathological examination of the explanted liver including multiple nodules ( $P=0.005$ , OR=10.4), tumor beyond MC ( $P=0.048$ , OR=3.7) and vascular invasion ( $P<0.001$ , OR=14.0) were independent predictors of shorter survival.

Interestingly, neither multiple TACE nor tumor necrosis in explanted liver had impact on overall survival (Table 5).

In conclusion, the present study didn't show significant impact of multiple TACE cycles on tumor necrosis, tumor recurrence or overall survival. Furthermore we didn't find relationship between necrosis and recurrence after LT.

On the contrary, waiting time >6 months to LT is independent predictor of recurrence after LT. This data could reflect the presence of more aggressive tumor biology in patients prematurely transplanted in whom the tumor biology wasn't allowed to be exposed. This data may be useful to guide organ allocation policy for selection of HCC patients with a more favorable biological behavior through a minimum observation time before LT (at least 6 months).



## REFERENCES

- [1] Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996;334:693-699.
- [2] Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, Gores GJ, Langer B, Perrier A. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: an international consensus conference report. *Lancet Oncol* 2012;13:e11-22.
- [3] Llovet JM, Mas X, Aponte JJ, Fuster J, Navasa M, Christensen E, et al. Cost effectiveness of adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma during the waiting list for liver transplantation. *Gut* 2002;50:123-128.
- [4] Pomfret EA, Washburn K, Wald C, Nalesnik MA, Douglas D, Russo M, et al. Report of a national conference on liver allocation in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Liver Transpl* 2010;16:262-278.
- [5] Ravaioli M, Grazi GL, Ercolani G, Fiorentino M, Cescon M, Golfieri R, et al. Partial necrosis on hepatocellular carcinoma nodules facilitates tumor recurrence after liver transplantation. *Transplantation* 2004;78:1780-1786.
- [6] Schaudt A, Kriener S, Schwarz W, Wullstein C, Zangos S, Vogl T, et al. Role of transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma before liver transplantation with special consideration of tumor necrosis. *Clin Transplant* 2009;23 Suppl 21:61-67.
- [7] Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1208-1236.
- [8] Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol* 2001;35:421-430.
- [10] Dabbs DJ, Geisinger KR, Ruggiero F, Raab SS, Nalesnik M, Silverman JF. Recommendations for the reporting of tissues removed as part of the surgical treatment of malignant liver tumors. *Hum Pathol* 2004;35:1315-1323.
- [11] Edmondson HA, Steiner PE. Primary carcinoma of the liver: a study of 100 cases among 48,900 necropsies. *Cancer* 1954;7:462-503.
- [12] Alberts SR, Gores GJ, Kim GP, Roberts LR, Kendrick ML, Rosen CB, et al. Treatment options for hepatobiliary and pancreatic cancer. *Mayo Clin Proc* 2007;82:628-637.

[13] EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012;56:908-943.

[14] Golfieri R, Cappelli A, Cucchetti A, Piscaglia F, Carpenzano M, Peri E, et al. Efficacy of selective transarterial chemoembolization in inducing tumor necrosis in small (<5 cm) hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2011;53:1580-1589.

## TABLES

Variable	Total population (n=115)
<b>Gender male, n (%)</b>	87 (76)
<b>Age, median (years) (range)</b>	57 (20 – 72)
<b>Race white, n (%)</b>	94 (83)
<b>Blood type, n (%)</b>	
0	56 (49)
A	41 (36)
B	10 (8)
AB	8 (7)
<b>Etiology, n (%)</b>	
Viral	43 (38)
Alcohol	15 (13)
Multiple	35 (30)
Others	16 (14)
Unknown	6 (5)
<b>Number of nodules, n (%)</b>	
Single	85 (74)
Multiple	30 (26)
<b>Diameter of the largest tumor, median (cm) (range)</b>	2.5 (0.6 – 7.0)
<b>Sum of tumor diameters, median (cm) (range)</b>	3.0 (0.6 – 10.5)
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	104 (90)
<b>Lesion location, n (%)</b>	
Right lobe	70 (61)
Left lobe	32 (28)
Bilobar	13 (11)
<b>Portal vein thrombosis, n (%)</b>	
Absent	102 (90)
Bland thrombosis	12 (10)
<b>Serum albumin, median (g/dL) (range)</b>	3.4 (1.9 – 4.7)
<b>Serum creatinine, median (mg/dL) (range)</b>	1.0 (0.5 – 6.3)
<b>Serum total bilirubin, median (mg/dL) (range)</b>	1.7 (0.4 – 9.0)

<b>Serum INR, median (range)</b>	1.1 (0.9 - 1.9)
<b>MELD score, median (range)</b>	11 (6 – 23)
<b>Ascites, n (%)</b>	
Absent	70 (61)
Present	45 (39)
<b>Serum AFP before TACE, median (ng/mL) (range)</b>	13 (1 – 15740)
<b>TACE cycle(s), n (%)</b>	
Single	42 (37)
Multiple	73 (63)
<b>Serum AFP before LT, median (ng/mL) (range)</b>	8.7 (0.6 – 6130)
<b>Time between HCC diagnosis and LT (mo), n (%)</b>	
≤6	56 (49%)
>6	59 (51%)

**Table 1.** Baseline demographic, clinical and tumor characteristics of the whole patient cohort. Tumor characteristics and laboratory tests were assessed before TACE treatment.

*Abbreviations:* INR: international normalized ratio; MELD: Model for end stage liver disease; AFP: Alpha-fetoprotein; TACE: transarterial chemoembolization; LT: liver transplant; HCC hepatocellular carcinoma.

Variable	Total population (n=115)
<b>Number of nodules, n (%)</b>	
Single	65 (57)
Multiple	50 (43)
<b>Diameter of the largest tumor, median (cm) (range)</b>	2.0 (0.8 – 6.0)
<b>Sum of tumor diameters, median (cm) (range)</b>	2.9 (0.8 – 11.7)
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	88 (77)
<b>Lesion location, n (%)</b>	
Right lobe	56 (52)
Left lobe	28 (26)
Bilobar	24 (22)
<b>Portal vein thrombosis, n (%) <sup>1</sup></b>	
Absent	109 (96)
Bland thrombosis	5 (4)
<b>Microscopic vascular invasion, n (%) *</b>	
Absent	96 (89)
Present	12 (11)
<b>Tumor grade, n (%) *</b>	
G1-G2	31 (36)
G3	50 (59)
G4	4 (5)
<b>Satellites, n (%)</b>	
Absent	94 (87)
Present	14 (13)
<b>Tumor necrosis, n (%) *</b>	
None	21 (19)
Partial	64 (59)
Complete	23 (21)

**Table 2 .** Tumor characteristics of the whole patient cohort at pathological examination of explanted liver after LT.

<sup>1</sup> One patient with neoplastic portal vein thrombosis was excluded from the analysis

\*The worst tumor characteristics for patients with multiple nodules were reported

Variable	Necrosis				P
	All nodules (n=196)	None necrosis (n=84)	Partial necrosis (n=63)	Complete necrosis (n=49)	
<b>Number of nodules, n (%)</b>					<b>0.002</b>
Single	65 (33)	17 (26)	26 (40)	22 (34)	
Multiple	131 (67)	67 (51)	37 (28)	27 (21)	
<b>Tumor size (cm), n (%)</b>					<b>0.023</b>
<2.0	114 (58)	60 (53)	26 (23)	28 (24)	
2.0–3.0	51 (26)	16 (31)	24 (47)	11 (22)	
>3.0	31 (16)	8 (26)	13 (42)	10 (32)	
<b>Lesion location, n (%)</b>					0.500
Right lobe	132 (67)	55 (42)	42 (32)	35 (26)	
Left lobe	64 (33)	29 (45)	21 (33)	14 (22)	
<b>TACE cycle(s), n (%)</b>					0.274
*					
Single	90 (53)	36 (40)	30 (33)	24 (27)	
Multiple	79 (47)	23 (29)	33 (42)	23 (29)	

**Table 3.** Tumor characteristics of the nodules at pathological examination of the explanted liver after LT with respect to the tumor necrosis.

\* Nodules not treated were excluded from the analysis

*Abbreviations:* TACE: transarterial chemoembolization; LT: liver transplant.

Variable	Recurrence		P
	No (n=98)	Yes (n=17)	
<b>Before TACE</b>			
<b>Gender male, n (%)</b>	74 (85)	13 (15)	0.601
<b>Age, median (years) (range)</b>	57 (20 – 72)	61 (42 – 71)	0.371
<b>Number of nodules, n (%)</b>			0.529
Single	72 (85)	13 (15)	
Multiple	26 (87)	4 (13)	
<b>Diameter of the largest tumor (cm), n (%)</b>			<b>&lt;0.001</b>
≤2.5	58 (97)	2 (3)	
>2.5	40 (73)	15 (27)	
<b>Sum of tumor diameters (cm), n (%)</b>			0.251
≤3.0	58 (88)	8 (12)	
>3.0	40 (82)	9 (18)	
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	90 (87)	14 (13)	0.207
<b>Lesion location, n (%)</b>			0.982
Right lobe	60 (86)	10 (14)	
Left lobe	27 (84)	5 (16)	
Bilobar	11 (85)	2 (15)	
<b>Portal vein thrombosis, n (%)</b>			0.565
Absent	87 (85)	15 (15)	
Bland thrombosis	10 (83)	2 (17)	
<b>Serum albumin, median (g/dL) (range)</b>	3.2 (1.9 – 4.5)	3.2 (2.3 – 4.7)	0.335
<b>Serum creatinine, median (mg/dL) (range)</b>	1.0 (0.5 – 6.3)	1.1 (0.6 – 1.5)	0.257
<b>Serum total bilirubin, median (mg/dL) (range)</b>	1.6 (0.4 – 9.0)	1.9 (0.5 – 7.4)	0.793
<b>Serum INR, median (range)</b>	1.1 (0.9 – 1.9)	1.2 (0.9 – 1.4)	0.500
<b>MELD score, median (range)</b>	11 (6 – 23)	12 (6 - 17)	0.210
<b>Ascites, n (%)</b>			0.592
Absent	61 (87)	9 (13)	
Present	37 (82)	8 (18)	
<b>Serum AFP before TACE (ng/mL), n (%)</b>			0.071
≤13	51 (91)	5 (9)	

>13	47 (80)	12 (20)	
<b>TACE cycle(s), n (%)</b>			<b>0.038</b>
Single	32 (76)	10 (24)	
Multiple	66 (90)	7 (10)	
<b>Serum AFP before LT (ng/mL), n (%)</b>			<b>0.012</b>
≤ 8.7	55 (93)	4 (7)	
>8.7	43 (77)	13 (23)	
<b>Time between HCC diagnosis and LT (mo), n (%)</b>			<b>0.013</b>
≤ 6	43 (77)	13 (23)	
> 6	55 (93)	4 (7)	
<b>Pathological examination</b>			
<b>Number of nodules, n (%)</b>			0.474
Single	56 (86)	9 (14)	
Multiple	42 (84)	8 (16)	
<b>Diameter of the largest tumor (cm), n (%)</b>			0.196
≤ 2	49 (89)	6 (11)	
> 2	49 (82)	11 (18)	
<b>Sum of tumor diameters (cm), n (%)</b>			0.145
≤ 3	48 (89)	6 (11)	
> 3	43 (80)	11 (20)	
<b>Milan criteria within, n (%)</b>	77 (88)	11 (12)	0.225
<b>Lesion location, n (%)</b>			0.235
Right lobe	50 (89)	6 (11)	
Left lobe	21 (75)	7 (25)	
Bilobar	20 (83)	4 (17)	
<b>Portal vein thrombosis, n (%) <sup>1</sup></b>			0.573
Absent	94 (86)	15 (14)	
Bland thrombosis	4 (80)	1 (20)	
<b>Microscopic vascular invasion, n (%) *</b>			<b>&lt;0.001</b>
Absent	86 (90)	10 (10)	
Present	5 (42)	7 (58)	
<b>Tumor grade, n (%) *</b>			0.061
G1-G2	28 (90)	3 (10)	
G3	39 (78)	11 (22)	



G4	2 (50)	2 (50)	
<b>Satellites, n (%)</b>			<b>0.009</b>
Absent	83 (88)	11 (12)	
Present	8 (57)	6 (43)	
<b>Tumor necrosis, n (%) *</b>			0.096
None	19 (91)	2 (9)	
Partial	50 (78)	14 (22)	
Complete	22 (96)	1 (4)	

**Table 4.** Baseline demographic, clinical and tumor characteristics of the whole patient cohort with respect to the recurrence after liver transplant. Continuous variables were dichotomised on the basis of values reported in Tables 1 and 2.

<sup>1</sup> One patient with neoplastic portal vein thrombosis was excluded from the analysis

\*The worst tumor characteristics for patients with multiple nodules were reported

*Abbreviations:* INR: international normalized ratio; MELD: Model for end stage liver disease; AFP: Alpha-fetoprotein; TACE: transarterial chemoembolization; LT: liver transplant; HCC hepatocellular carcinoma.

Variable	Survival (%)			Mean survival (95% C.I.)	P
	1-yr	3-yr	5-yr		
<b>Before TACE</b>					
<b>Sex</b>					0.873
Male	94	90	83	102.3 (93.7 – 110.8)	
Female	86	82	82	97.8 (81.3 – 114.4)	
<b>Age, y</b>					0.232
≤57	93	89	89	105.1 (95.4 – 114.7)	
>57	91	87	78	97.0 (85.2 – 108.8)	
<b>Race</b>					0.898
White	94	89	82	101.6 (93.2 – 110.0)	
Others	86	86	86	100.7 (81.9 – 119.5)	
<b>Number of nodules</b>					0.876
Single	91	88	81	100.7 (91.7 – 109.8)	
Multiple	97	90	87	101.5 (87.6 – 115.4)	
<b>Diameter of the largest tumor, cm</b>					<b>0.028</b>
≤2.5	92	92	89	108.9 (99.7 – 118.1)	
>2.5	93	84	75	92.3 (80.1 – 104.5)	
<b>Sum of tumor diameters, cm</b>					0.482
≤3.0	89	88	84	103.1 (92.9 – 113.4)	
>3.0	96	88	80	98.2 (87.1 – 110.0)	
<b>Milan criteria</b>					0.212
Within	91	89	84	102.9 (94.9 – 110.8)	
Beyond	100	73	73	84.4 (60.4 – 108.4)	
<b>Lesion location</b>					0.947
Right	91	89	82	100.4 (90.6 – 110.2)	
Left	94	91	86	102.2 (88.2 – 116.3)	
Bilobar	92	77	77	99.4 (75.9 – 122.9)	
<b>Portal vein thrombosis</b>					0.757
Absent	91	87	82	100.1 (91.9 – 108.2)	
Bland thrombosis	100	92	79	104.8 (82.0 – 127.5)	
<b>Serum albumin, mg/dL</b>					0.450
<3.4	87	84	79	97.8 (85.7 – 109.9)	

$\geq 3.4$	97	92	86	104.5 (95.1 – 113.9)	
<b>Serum creatinine, mg/dL</b>					<b>0.458</b>
$\leq 1.0$	91	86	84	104.1 (94.3 – 113.9)	
$> 1.0$	94	91	81	98.8 (87.2 – 110.3)	
<b>Serum total bilirubin , mg/dL</b>					<b>0.890</b>
$\leq 1.7$	93	88	83	102.2 (91.1 – 113.3)	
$> 1.7$	92	88	82	100.8 (90.4 – 111.1)	
<b>Serum INR</b>					<b>0.831</b>
$\leq 1.1$	92	88	82	101.5 (91.5 – 111.5)	
$> 1.1$	92	88	83	101.0 (89.4 – 112.6)	
<b>MELD score</b>					<b>0.103</b>
$\leq 11$	96	91	88	107.6 (98.8 – 116.5)	
$> 11$	88	84	76	93.8 (81.1 – 106.5)	
<b>Ascites</b>					<b>0.034</b>
Absent	96	91	90	107.7 (99.4 – 115.9)	
Present	89	82	72	91.4 (77.5 – 105.2)	
<b>Serum AFP before TACE, ng/mL</b>					<b>0.485</b>
$\leq 13$	93	89	85	104.5 (94.1 – 114.9)	
$> 13$	92	86	81	98.2 (87.2 – 109.2)	
<b>TACE cycle(s)</b>					<b>0.382</b>
Single	91	83	80	96.1 (82.7 – 109.4)	
Multiple	93	90	84	104.6 (95.5 – 113.7)	
<b>Serum AFP before LT, ng/mL</b>					<b>0.241</b>
$\leq 8.7$	93	90	83	105.7 (95.9 – 115.6)	
$> 8.7$	91	86	82	96.4 (84.8 – 108.0)	
<b>Time between HCC diagnosis and LT, mo</b>					<b>0.112</b>
$\leq 6$	91	86	80	96.0 (84.6 – 107.5)	
$> 6$	93	90	86	107.5 (98.1 – 116.9)	
<b>Pathological examination</b>					
<b>Number of nodules</b>					<b>0.035</b>
Single	94	91	87	107.5 (98.7 – 116.4)	
Multiple	90	84	77	92.8 (80.0 – 105.5)	
<b>Diameter of the largest tumor, cm</b>					<b>0.529</b>
$\leq 2.0$	89	87	83	102.5 (91.5 – 113.5)	

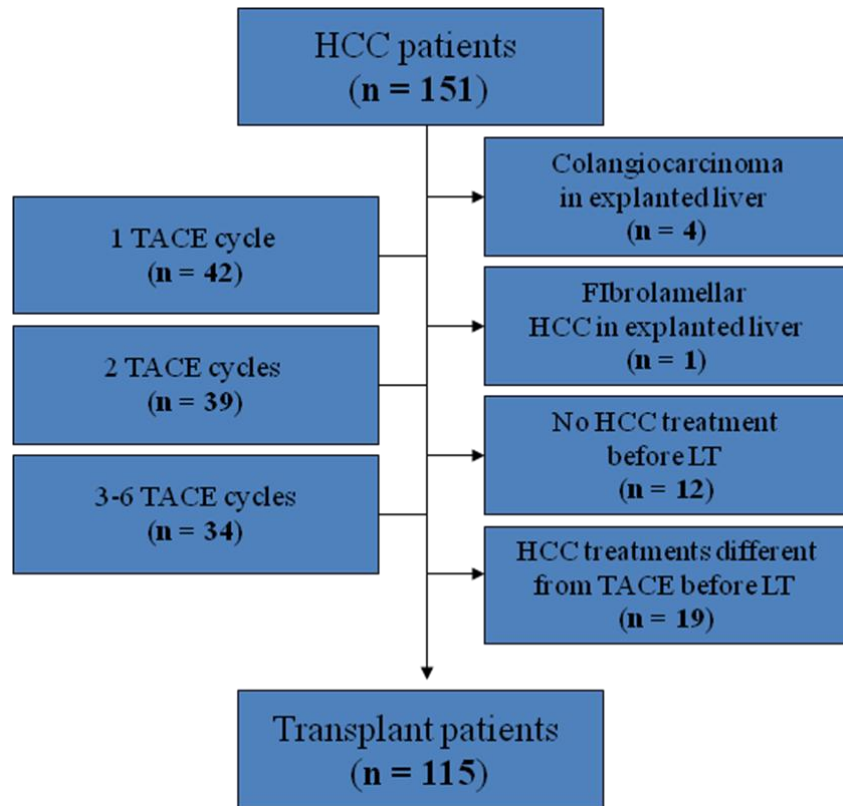
>2.0	95	88	82	99.7 (89.0 – 110.3)	
<b>Sum of tumor diameters, cm</b>					<b>0.057</b>
≤3.0	91	89	86	106.2 (95.9 – 116.4)	
>3.0	93	85	76	92.8 (80.5 – 105.1)	
<b>Milan criteria</b>					<b>0.008</b>
Within	93	92	93	105.9 (98.1 – 102.2)	
Beyond	89	78	87	83.2 (64.2 – 102.2)	
<b>Lesion location</b>					<b>0.179</b>
Right	95	89	89	106.1 (96.4 – 115.8)	
Left	89	82	73	95.5 (78.5 – 112.6)	
Bilobar	88	88	73	89.2 (70.3 – 108.1)	
<b>Portal vein thrombosis <sup>1</sup></b>					<b>0.210</b>
Absent	92	89	85	103.2 (95.5 – 110.8)	
Bland thrombosis	100	80	53	74.3 (40.2 – 108.3)	
<b>Microscopic vascular invasion *</b>					<b>&lt;0.001</b>
Absent	95	93	88	107.5 (100.2 – 114.7)	
Present	67	42	28	33.9 (15.3 – 52.5)	
<b>Tumor grade *</b>					<b>0.017</b>
G1–G2	94	90	86	103.1 (88.9 – 117.3)	
G3	92	86	81	96.4 (84.0 – 108.8)	
G4	75	50	25	42.0 (0 – 84.4)	
<b>Satellites</b>					<b>0.011</b>
Absent	94	89	84	103.7 (95.7 – 111.8)	
Present	79	71	57	70.3 (41.7 – 99.0)	
<b>Tumor necrosis</b>					<b>0.172</b>
None	95	86	86	105.9 (89.1 – 122.8)	
Partial	92	86	78	93.8 (82.6 – 105.1)	
Complete	91	91	86	108.3 (93.6 – 123.0)	

**Table 5.** Univariate survival analysis. Continuous variables were dichotomised on the basis of values reported in Tables 1 and 2.

<sup>1</sup> One patient with neoplastic portal vein thrombosis was excluded from the analysis

\*The worst tumor characteristics for patients with multiple nodules were reported

## FIGURES



**Fig. 1.** Flow chart of the study population.