



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE**  
**FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

---

*Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia*

**RUOLO DEI BIOMARCATORI INFIAMMATORI E  
NUTRIZIONALI COME PARAMETRI PROGNOSTICI  
DI RECIDIVA E DI SOPRAVVIVENZA DOPO IL  
TRAPIANTO DI FEGATO PER EPATOCARCINOMA:  
ANALISI RETROSPETTIVA**

Relatore: Chiar.mo  
**Prof. Marco Vivarelli**

Tesi di Laurea di:  
**Elena Mancini**

Correlatore: Chiar.mo  
**Prof. Federico Mocchegiani**

**AA 2021/2022**



*A nonna Maria*

*Sempre più donatori, sempre più trapianti.  
Sempre più da una morte accadeva  
che tornasse a sbocciare una vita.*

***Cinzia Sasso***



## **INDICE**

### **Capitolo 1 – L’epatocarcinoma**

1.1	Epidemiologia e fattori di rischio	1
1.2	Cirrosi ed epatocarcinoma	2
1.3	Ruolo dei virus epatotropi nello sviluppo di HCC	3
1.4	Prevenzione	3
1.5	Sorveglianza	4
1.6	Diagnosi	4
1.7	Stadiazione	7
1.8	Storia naturale e prognosi	11
1.9	Opzioni terapeutiche	12
1.10	Follow up	17
1.11	Recidiva di HCC dopo trapianto	18

### **Capitolo 2 – Il trapianto di fegato**

2.1	Cenni storici	20
2.2	Indicazioni al trapianto di fegato nell’adulto	21
2.3	Indicazioni controverse o marginali al trapianto di fegato nell’adulto	30
2.4	Controindicazioni al trapianto di fegato nell’adulto	34
2.5	Inserimento in lista d’attesa	35
2.6	Tecnica chirurgica	38
2.7	Terapia immunosoppressiva	47
2.8	Complicanze	51

### **Capitolo 3 – Scores prognostici di sopravvivenza post-LT e fattori predittivi di recidiva di HCC**

3.1	Score prognostici di sopravvivenza post trapianto	55
3.2	Fattori predittivi di recidiva HCC dopo LT	59

### **Capitolo 4 – Studio clinico**

4.1	Obiettivi dello studio	64
4.2	Materiali e metodi	65
4.3	Analisi statistica	66
4.4	Risultati	67
4.5	Discussione	73
4.6	Conclusioni	75

### **Bibliografia**



# ***CAPITOLO 1***

## **L'EPATOCARCINOMA**

### **1.1 EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO**

L'epatocarcinoma (HCC) rappresenta il principale tumore primitivo maligno del fegato, la quinta neoplasia più frequente al mondo e la principale causa di morte nei pazienti cirrotici [1].

A livello mondiale l'HCC costituisce il 5,4% di tutte le neoplasie. I tassi di incidenza di HCC più bassi, intorno a 5 casi ogni 100.000 abitanti, si registrano in America, Europa settentrionale e centrale e in Australia; l'incidenza maggiore, fino a 36 casi su 100.000 abitanti, si osserva in Corea, Taiwan, Mozambico e nel sud-est della Cina. Nel bacino del Mediterraneo l'incidenza è intermedia e si attesta intorno a 15 casi ogni 100.000 abitanti. Questa neoplasia è nettamente predominante nel sesso maschile; l'etnia nera è colpita 3 volte in più rispetto a quella caucasica. Il rapporto M:F varia da 1,5:1 fino a 3:1, quest'ultimo registrato nelle popolazioni ad alta incidenza [2].

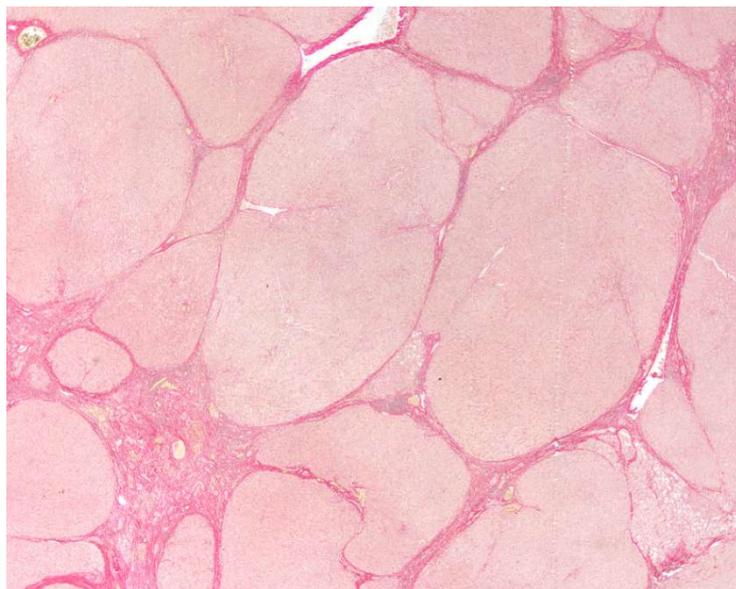
Oltre al sesso, anche l'età è un fattore di rischio significativo, specie se considerati in associazione ad altri fattori di rischio maggiori o minori. Nel sesso maschile l'incidenza passa da 1 caso su 100.000 prima dei 45 anni a 16,2 casi su 100.000 a 80 anni. La dieta riveste un ruolo di grande rilievo nello sviluppo dell'epatocarcinoma; tra i principali fattori di rischio vanno annoverati un eccessivo consumo di alcol, una dieta ricca di grassi e l'aflatossina B1 prodotta dall'*Aspergillus Flavus*, fungo che non raramente infetta cereali, legumi e noci. Per quanto riguarda la componente genetica, attualmente non è stato identificato alcun fattore indipendente; c'è da tenere in considerazione che alcune malattie ereditarie, come il deficit di  $\alpha$ 1-antitripsina, evolvendo in cirrosi, aumentano il rischio di sviluppare HCC. In generale, il fattore di rischio più significativo in assoluto risulta essere la cirrosi epatica, specie se secondaria ad infezione virale o ad abuso di alcol. Altri fattori di rischio sono poi emocromatosi e cirrosi biliare primitiva [2, 3].

## 1.2 CIRROSI ED EPATOCARCINOMA

La cirrosi è ritenuta la lesione pre-neoplastica per eccellenza, anche se non è sempre riscontrata in pazienti affetti da epatocarcinoma. In alcuni casi, infatti, al momento della diagnosi di HCC non appare alcuna evidenza clinica di ulteriori patologie epatiche. La cirrosi costituisce l'end point di numerose condizioni patologiche; importanti studi epidemiologici hanno indicato che l'infezione cronica da HBV e HCV rappresenta il più importante fattore di rischio per lo sviluppo di cirrosi epatica e conseguentemente del carcinoma epatocellulare [4].

Dal punto di vista anatomico-patologico, la cirrosi si visualizza come un generale sovvertimento dell'architettura del parenchima epatico. Le caratteristiche morfologiche principali della cirrosi includono:

- *Fibrosi*, presente sia sotto forma di setti (che collegano le triadi portalari tra di loro o con le vene epatiche centro-lobulari) che di estese aree cicatriziali (che sostituiscono interi lobuli di epatociti danneggiati);
- *Noduli rigenerativi*, contenenti epatociti proliferanti e circondati da fibrosi, di dimensioni variabili da pochi millimetri a diversi centimetri;
- *Alterazione delle strutture vascolari*, con capillarizzazione dei sinusoidi e formazione di shunt intraepatici tra vasi afferenti ed efferenti; ciò determina un peggioramento della perfusione del parenchima e conseguente ipossia del tessuto epatico [2, 5].



*Figura 1: cirrosi, quadro istopatologico*

### **1.3 RUOLO DEI VIRUS EPATOTROPI NELLO SVILUPPO DI HCC**

Ad oggi, non è stato ancora chiarito con precisione se nella patogenesi del carcinoma epatocellulare associato a HBV e HCV questi virus svolgano un ruolo diretto o soltanto indiretto. È stato appurato che la proteina *HBx* di HBV e la proteina *core* di HCV hanno un potenziale oncogeno, anche se agiscono con meccanismi differenti e non del tutto specificati. Da alcuni studi emerge che nella patogenesi di HCC i virus epatotropi sono coinvolti sia direttamente che indirettamente, in quanto determinano l'insorgenza di un'epatite cronica con necrosi epatocitaria e continua rigenerazione cellulare [4].

La necrosi e la rigenerazione cellulare conseguenti allo stato infiammatorio cronico determinano la comparsa e l'accumulo di mutazioni genetiche che possono culminare nello sviluppo di HCC [6].

L'accumulo di tali mutazioni, il concomitante danneggiamento dei meccanismi di riparazione del DNA e l'effetto di alcune proteine virali agiscono stimolando ulteriormente la replicazione degli epatociti [7, 8, 9].

### **1.4 PREVENZIONE**

La strategia migliore per prevenire il carcinoma epatocellulare consiste nel limitare l'insorgenza di epatopatie e la loro progressione verso la cirrosi. La causa principale di HCC nel mondo è rappresentata dall'infezione da HBV; da questo si evince il ruolo fondamentale della vaccinazione. Nei paesi ad alta incidenza di epatocarcinoma ci giungono risultati incoraggianti: somministrando ai bambini il vaccino contro il virus dell'epatite B si è verificata una drastica riduzione della neoplasia, con risultati estremamente positivi in termini di rapporto costo/beneficio [10].

Nelle aree geografiche dove lo sviluppo di HCC è correlato maggiormente all'abuso di alcol e all'infezione da HCV, la misura preventiva consiste nell'individuazione precoce dei soggetti a rischio, nella prevenzione e nella cura dell'infezione virale e dell'etilismo. Dunque, per ogni tipologia di paziente dovranno essere messe in atto strategie preventive differenti e adeguate [11].

## 1.5 SORVEGLIANZA

Le procedure di sorveglianza clinico-strumentali hanno due scopi principali, ossia ridurre la mortalità correlata alla malattia e aumentare la sopravvivenza attraverso la diagnosi precoce, in modo tale da fornire al paziente la migliore strategia terapeutica possibile.

L'epatocarcinoma ha tutte le carte in regola per poter essere oggetto di un programma di sorveglianza; pertanto, lo screening dell'HCC è diventato un aspetto totalmente condiviso nell'ambito della gestione dei pazienti con malattie epatiche in stadio avanzato. I test di screening più comunemente impiegati per HCC sono il dosaggio dell' $\alpha$ -fetoproteina sierica (AFP) e l'esame ecografico [12].

L'AFP, in particolare, è il marcatore che è stato maggiormente utilizzato negli studi condotti sulla sorveglianza dell'epatocarcinoma; tuttavia, non è specifica per HCC ed i valori sierici possono aumentare anche nei picchi di attività dell'epatite. Infatti, individui con infezione virale ma senza HCC possono presentare livelli di AFP elevati in modo transitorio, persistente o intermittente. Tali rialzi, specie se accompagnati da un aumento dei livelli sierici di transaminasi, devono essere attribuiti ad una esacerbazione dell'epatite; sono infatti indicatori di infezione attiva o sieroconversione. Nonostante ciò, i livelli di AFP in presenza di epatocarcinoma tendono ad aumentare in maniera cospicua e il range superano di gran lunga quelli osservati in assenza di tumore [13, 14].

## 1.6 DIAGNOSI

Il carcinoma epatocellulare viene sempre più frequentemente diagnosticato in uno stadio asintomatico nel corso di una valutazione clinica o del programma di screening del paziente cirrotico. La diagnosi di HCC si basa sulla combinazione di dati clinici, laboratoristici, strumentali e anatomopatologici.

L'esordio clinico dell'epatocarcinoma è spesso insidioso e la malattia decorre pressoché silente nei primi stadi, rendendo complessa una diagnosi precoce. Inizialmente compaiono sintomi piuttosto sfumati e aspecifici, come:

- Dolore sordo, profondo e ingravescente in ipocondrio destro e in epigastrio;
- Sensazione di distensione addominale;
- Sintomi aspecifici come febbre, malessere generale, anoressia, senso di ripienezza postprandiale e calo ponderale.

Spesso nel paziente cirrotico HCC può presentarsi all'esordio con uno scompenso della patologia di base:

- Ittero;
- Ascite;
- Encefalopatia;
- Emorragia digestiva da sanguinamento delle varici esofagee [15].

La diagnosi radiologica si avvale in prima istanza di un accurato studio ecografico; in particolare US è utilizzata sia nell'iter diagnostico che per lo screening dei pazienti a rischio, in associazione al dosaggio di AFP. Se durante lo studio ecografico dell'addome si evidenzia un nodulo di pertinenza epatica, esso va attentamente misurato perché è dalle sue dimensioni che dipenderanno i successivi step diagnostici; in particolare:

- Nodulo <1 cm

Diversi studi hanno dimostrato che oltre la metà di noduli sospetti con diametro inferiore al centimetro non siano in realtà HCC ma noduli rigenerativi e/o displastici; per questo motivo devono essere seguiti ecograficamente ad intervalli di 4-6 mesi per almeno due anni. Se in questo arco di tempo il nodulo sospetto non mostra importanti cambiamenti dimensionali, il paziente rientrerà nel regolare programma di screening.

- Nodulo 1-2 cm

In questo caso le linee guida EASL prevedono l'impiego di due metodiche di imaging, quali TC e RM, che valutino la vascolarizzazione del nodulo. In presenza di un pattern vascolare tipico si interpreta o meno il nodulo quale lesione attribuibile a HCC. In presenza di un pattern vascolare atipico e dubbio è bene procedere con biopsia e conseguente esame istologico.

- Nodulo >2 cm

Quando ci si trova davanti a questa situazione, è sufficiente un'unica ulteriore metodica di imaging, a scelta tra TC e RM. Questa, nella maggior parte dei casi, evidenzierà il tipico pattern contrastografico; se ciò non accadesse, con valori di AFP <200 ng/ml, sarebbe necessario eseguire una biopsia [16].

Per concludere, l'ecografia è in grado di riconoscere HCC prima del diametro critico di 3 cm in più dell'85% dei casi e deve essere utilizzata nonostante i suoi noti limiti, legati a:

- Operatore-dipendenza;
- Caratteristiche del paziente (obesità, anse intestinali);
- Caratteristiche del tumore (possibile isoecogenicità);
- Caratteristiche del restante parenchima epatico (pattern disomogeneo nella steatosi o nella cirrosi epatica macronodulare) [17].



Figura 2: nodulo ipoecogeno di 38.3 mm

TC o RM sono le tecniche di imaging che vengono utilizzate per la conferma diagnostica e per la stadiazione del tumore. Lo studio ottimale del fegato richiede l'impiego di tecnologia spirale in TC e di gradienti di campo adeguatamente performanti che permettano acquisizioni veloci o ultraveloci in RM. Entrambe le metodiche consentono di acquisire immagini di tutto il parenchima epatico nel corso di una singola apnea inspiratoria. Un protocollo standard per lo studio TC o RM del fegato nel sospetto di HCC deve prevedere, oltre alle acquisizioni basali, uno studio contrastografico nelle fasi arteriosa (35 s), porto-venosa (80 s) e tardiva (120 s). Il mezzo di contrasto viene somministrato ad alto flusso per via endovenosa e consiste in sostanze iodate per la TC e chelati del gadolinio per la RM [18].

L'epatocarcinoma mostra un'ampia variabilità di presentazioni, che riflette le altrettanto variabili caratteristiche patologiche di questo tumore. Il fegato cirrotico, infatti, presenta noduli di rigenerazione, noduli displastici e noduli di "very early HCC" che all'imaging possono essere a volte indistinguibili da piccoli noduli di HCC. In questi casi dubbi bisogna valutare attentamente l'apporto vascolare alla lesione, che rappresenta la chiave

per la diagnosi differenziale; l'epatocarcinoma infatti, a differenza dei noduli rigenerativi e/o displastici, presenta tipicamente un enhancement contrastografico in fase arteriosa e un wash-out tardivo in fase portale [15].



*Figura 3: HCC in fase arteriosa*



*Figura 4: HCC in fase portale-tardiva*

La scelta di effettuare una biopsia deve essere sempre ben ponderata, in quanto si tratta di una procedura gravata da molteplici complicanze non trascurabili. I rischi maggiori sono quelli di sanguinamento e di “*seeding*”, ossia la disseminazione di cellule neoplastiche oltre la capsula epatica, nei tessuti circostanti o nella cavità peritoneale. È stato stimato che il rischio di seeding in seguito a biopsia epatica vari tra lo 0% e l'11%, risultando particolarmente elevato in caso di biopsie percutanee di lesioni localizzate in sede sotto-glissoniana [19].

## **1.7 STADIAZIONE**

La stadiazione è un momento importante nell'iter diagnostico-terapeutico dell'HCC; essa ci permette di distribuire i pazienti in diversi gruppi, in modo tale da individuare la strategia terapeutica più appropriata per ciascuno, definire una stima della prognosi e fornire un valido strumento per valutare i risultati del trattamento. A differenza della maggior parte delle neoplasie, nell'HCC i sistemi proposti per la stadiazione non sono quelli classici e non vengono condivisi da tutti. La stadiazione dell'carcinoma epatocellulare risulta piuttosto difficoltosa perché nella quasi totalità dei casi questa neoplasia insorge in pazienti affetti da cirrosi epatica. Pertanto, la stadiazione non può

non tenere conto della severità della patologia sottostante, che il più delle volte è un elemento che condiziona la prognosi. Secondo l'EASL (*European Association for the Study of the Liver*) [16] un'appropriata stadiazione dell'HCC dovrebbe tener conto di quattro aspetti fondamentali:

- Caratteristiche del tumore;
- Funzionalità epatica;
- Condizioni generali del paziente;
- Prospettive terapeutiche per ciascun individuo.

Le principali indagini strumentali per rilevare l'estensione della massa consistono nella RM con mezzo di contrasto e nella TC dinamica; in caso di malattia localmente avanzata dovrebbero essere inoltre eseguite una TC del torace e una scintigrafia ossea per la ricerca di eventuali secondarismi.

La classificazione più largamente utilizzata per la valutazione della sola compromissione epatica è la classificazione di Child-Pugh (*tabella 1*); il suo principale difetto è la scarsa capacità predittiva dato che non tiene conto della variabilità clinica e biochimica della malattia.

Il primo sistema di classificazione dell'epatocarcinoma fu proposto da Okuda (*tabella 2*) nel 1985; esso include parametri che valutano la funzione epatica in associazione alle dimensioni del tumore. Con questo sistema non è possibile distinguere adeguatamente un epatocarcinoma in stadio iniziale da uno in stadio avanzato in quanto non sono inclusi alcuni parametri come l'unifocalità o la multifocalità del tumore, l'invasione vascolare e la presenza di localizzazioni extraepatiche.

Un altro sistema di stadiazione per l'HCC è il sistema TNM (*tabella 3*) che ha tuttavia come limite principale il non includere parametri di funzionalità epatica.

La stadiazione CLIP – Cancer of the Liver Italian Program è stata creata utilizzando un database di 435 pazienti, con l'intento di superare le classificazioni TNM e Okuda; rispetto a queste ultime, il CLIP ha dimostrato maggior accuratezza e maggior capacità di discriminare gruppi omogenei [20].

Attualmente la stadiazione più utilizzata è la BCLC – Barcelona Clinic Liver Cancer, l'unica che tiene conto dei quattro aspetti suddetti (caratteristiche del tumore, funzionalità epatica, condizioni generali del paziente e prospettive terapeutiche per ciascun caso) [16].

Questa, sebbene possa essere ulteriormente migliorata, rappresenta attualmente il più valido strumento per garantire ad ogni paziente l'opzione terapeutica più appropriata (*tabella 4*). In questa classificazione si utilizzano variabili correlate allo stadio tumorale (nodulo singolo o multiplo, dimensioni, invasione portale, N positivi, M1), alla funzionalità epatica (Child-Pugh score), e alla sintomatologia correlata alla malattia (Performance Status). Vengono delineati cinque stadi (Stage 0, A, B, C e D), ad ognuno dei quali viene affiancato un diverso protocollo terapeutico. È particolarmente efficace nella selezione dei pazienti con HCC in stadio precoce (stadio A) che vanno incontro a trattamento curativo, quale la resezione chirurgica, il trapianto epatico o le terapie ablative locali [18].

Nella *tabella 5* sono riportate le più significative differenze tra le varie classificazioni.

PUNTI	1	2	3
<b>Encefalopatia</b>	NO	Lieve	Grave
<b>Ascite</b>	NO	Lieve	Importante
<b>Bilirubina (mg/dl)</b>	< 2	2-3	> 3
<b>Albumina (g/dl)</b>	> 3,5	3-3,5	< 3
<b>T. Quick</b>	> 70 %	50-70 %	50 %

CHILD-PUGH	A	B	C
<b>Totale</b>	<b>5-6</b>	<b>7-9</b>	<b>10</b>

*Tabella 1: Classificazione di Child-Pugh*

Fattori	Grado	Caratteristiche
Estensione del tumore >50% del fegato	1	Assenza di fattori
Ascite +/-	2	Presenza di 1 o 2 fattori
Albumina <3 g/dl	3	Presenza di 3 o 4 fattori
Bilirubina >3 mg/dl		

*Tabella 2: Classificazione di Okuda*

Stadio	Tumore (T)	Linfonodi (N)	Metastasi (M)
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III A	T3	N0	M0
III B	T4	N0	M0
III C	Qualsiasi T	N1	M0
IV	Qualsiasi T	Qualsiasi N	M1

*Tabella 3: Classificazione TNM*

<b>BCLC* sistema di stadiazione per HCC</b>			
Stadio	Performance status	Stadio del tumore	Funzionalità epatica
Stadio A0: HCC molto precoce	0	Singolo < 2 cm	
A1	0	Singolo, <5 cm	Non ipertensione portale e bilirubina normale
A2	0	Singolo, <5 cm	Ipertensione portale e bilirubina normale
A3	0	Singolo, <5 cm	Ipertensione portale e bilirubina elevata
A4	0	3 tumori < 3 cm	Child-Pugh classe A-B
Stadio B: HCC intermedio	0	Grande Multinodulare	Child-Pugh classe A-B
Stadio C: HCC avanzato	1-2	Invasione vascolare o diffusione extraepatica	Child-Pugh classe A-B
Stadio D: HCC stadio finale	3-4	Qualunque	Child C

*Tabella 4: Stadiazione BCLC*

Score	Semplicità	Accuratezza prognostica	Validazione prospettica	Confronto con altri score	Valutazione funz. Epatica
Okuda	+++	Bassa	Si	Si	Si
TNM	+	Bassa	Si	Si	No
CLIP	+++	Alta	Si	Si	Si
BCLC	++	Alta	No	No	Si

*Tabella 5: classificazioni a confronto*

## 1.8 STORIA NATURALE E PROGNOSI

### - HCC in stadio molto precoce e precoce (stadio 0 e A – BCLC)

La definizione di HCC precoce ha subito variazioni nel tempo. Fino a pochi anni fa veniva indicato come precoce un tumore di dimensioni inferiori a 5 cm di diametro; in seguito è stato considerato HCC precoce un nodulo singolo di dimensioni inferiori a 2 cm o noduli multipli, in numero massimo di 3, con diametro ciascuno inferiore e 3cm [21]. La storia naturale dell'HCC in stadio precoce (early stage) è sconosciuta, in quanto generalmente tutti i pazienti in questa fase ricevono un trattamento curativo, quale la resezione o il trapianto. Per definire la prognosi dell'HCC in stadio precoce bisogna tenere in considerazione lo stato del tumore, la funzionalità epatica e il trattamento utilizzato. Lo stato del tumore è definito dalle dimensioni del nodulo e dalla multifocalità. La funzionalità epatica è particolarmente rilevante per la scelta del trattamento più opportuno; tra i pazienti in classe A di Child-Pugh è stato osservato che una concentrazione di bilirubina sierica  $<17,1 \mu\text{mol/L}$ , l'assenza di ipertensione portale (gradiente di pressione venosa epatica  $<10 \text{ mmHg}$ ) e la clearance dell'indocianina a 15 minuti  $>20\%$  sono fattori predittivi positivi di sopravvivenza. In generale, ad oggi la sopravvivenza a 5 anni si attesta intorno al 50-70% [22, 23, 24].

Dobbiamo anche considerare che la possibilità di identificare lesioni sempre più piccole ha portato alla definizione dell'HCC molto precoce (very early stage); questo, da un punto di vista anatomo-patologico, si riferisce al carcinoma in situ, ossia ad un HCC ben differenziato di forma nodulare, di diametro inferiore ai 2 cm, che contiene dotti biliari e vasi portali e non ha ancora invaso nessuna struttura. È da tenere presente che l'invasione da parte del tumore è un fenomeno indipendente dalle dimensioni del nodulo. L'identificazione dell'HCC molto precoce è estremamente importante in quanto questi pazienti, se adeguatamente trattati, presentano una prognosi decisamente favorevole, con sopravvivenza a 5 anni dell'89-93% dopo resezione chirurgica e del 71% dopo trattamento percutaneo [21, 23, 25].

- HCC in stadio intermedio ed avanzato (stadio B e C – BCLC)

Nella maggior parte dei pazienti il carcinoma epatocellulare viene individuato negli stadi più avanzati, precludendo così il ricorso a terapie curative radicali. Alcuni studi hanno osservato che i tassi di sopravvivenza ad 1 e 2 anni in pazienti che non avevano ricevuto alcun trattamento erano rispettivamente del 10-72% e dell'8-50%. L'ampia variabilità sottolinea l'eterogeneità della popolazione con HCC non candidata alla chirurgia e la necessità di suddividerla in sottocategorie [24].

- HCC in stadio terminale (stadio D – BCLC)

Un'alta percentuale di pazienti è ancora identificata con sintomi correlati al carcinoma in fase terminale, in particolare nei paesi meno sviluppati, dove i programmi di sorveglianza non sono attivati per motivi economici e logistici. La loro prognosi è infausta, con un'aspettativa di vita inferiore ai 3 mesi e nessun beneficio dal trattamento [21].

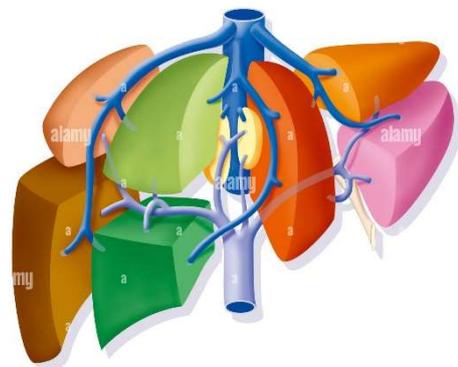
## **1.9 OPZIONI TERAPEUTICHE**

Nel management dell'HCC sono state validate e raccomandate nelle linee guida solo cinque opzioni terapeutiche: la *resezione epatica*, il *trapianto di fegato*, l'*ablazione percutanea*, la *TACE* ed il *Sorafenib*. Queste si dividono in opzioni terapeutiche curative (resezione, trapianto e ablazione percutanea) e palliative; l'utilizzo di una terapia piuttosto che di un'altra viene deciso in base alla stadiazione della neoplasia secondo i criteri del BCLC (*figura 6*). Oltre a queste cinque opzioni esistono altre terapie che sono attualmente in fase di sperimentazione e necessitano di ulteriori studi per provare la loro superiorità o almeno la non inferiorità rispetto ai trattamenti ad oggi raccomandati. Fanno parte di questa categoria la *radioembolizzazione con Itrio-90*, la *radioterapia stereotassica* e la *chemioterapia sistemica adiuvante* dopo resezione [26].

- Resezione epatica

La resezione epatica, così come anche il trapianto di fegato, rappresenta un trattamento radicale nei confronti di HCC; è considerata il gold standard in pazienti con tumori resecabili in stadio precoce, con ottima riserva funzionale epatica e possibilmente in assenza di epatopatia di base.

Nei pazienti cirrotici è fondamentale valutare la funzionalità epatica residua (FLR) prima della chirurgia e preservare quanto più parenchima possibile pur garantendo la radicalità oncologica (margini negativi). In alcuni casi è opportuno eseguire una resezione estesa; questa possibilità viene valutata in base ad alcuni criteri quali la presenza di ascite e/o ittero e la ridotta escrezione di indocianina dopo 15 minuti dalla somministrazione. Le tecniche chirurgiche che possono essere utilizzate sono la resezione parziale, la resezione sub-segmentale, segmentale, di due segmenti, la resezione estesa di due segmenti o la resezione di tre segmenti [27]. Poiché molto spesso l'epatocarcinoma invade il sistema portale, la chirurgia dovrebbe seguire i margini anatomici del segmento in cui si trova il nodulo tumorale, quando la riserva funzionale epatica lo permette, in modo da eliminare tutto il parenchima che viene vascolarizzato dallo stesso ramo portale e ridurre il rischio di metastasi [28]. Questo approccio conservativo è frequente soprattutto in Asia, dove il principale fattore di rischio per l'HCC è l'infezione da HBV ed i pazienti sono più giovani e con epatopatia di base assente o trascurabile [29]. Esiste un'altra classe di pazienti che presentano HCC su fegato non cirrotico, ossia quelli in cui il fattore eziologico è rappresentato dalla NASH; la resezione epatica potrebbe rappresentare una valida opzione terapeutica anche per questi soggetti [30]. La recidiva di tumore dopo resezione è circa del 50% a 2 anni e del 75% a 5 anni [31]; ciò può essere la conseguenza di una diffusione metastatica del tumore primitivo (soprattutto nei casi di recidiva precoce) oppure della comparsa di un tumore ex novo, a causa dell'epatopatia di base che rappresenta un continuo stimolo alla cancerogenesi per il restante parenchima.



*Figura 5: segmenti epatici*

Nella diagnosi precoce delle recidive rivestono un ruolo importante sia la TC che la RM, effettuate con un intervallo di 3-4 mesi durante il primo anno post-chirurgia e ogni 6 mesi a partire dal secondo anno [28].

- Trapianto di fegato

Il trapianto ortotopico di fegato è considerato la terapia in assoluto più efficace sia per l'epatocarcinoma che per l'eventuale epatopatia sottostante; è anche associato ad un più basso tasso di recidiva rispetto alle altre opzioni terapeutiche. Nonostante gli ottimi risultati ottenuti con il trapianto, la scarsità di organi disponibili impone l'utilizzo di rigidi criteri di selezione dei pazienti che ne possono beneficiare, in modo da limitare i trapianti a quei pazienti che hanno effettivamente le migliori caratteristiche per un buon outcome. L'argomento verrà ampiamente trattato nel capitolo 2, essendo totalmente dedicato al trapianto ortotopico di fegato [32].

- Trattamenti percutanei

Le tecniche di ablazione rappresentano delle terapie potenzialmente curative nei pazienti con HCC in stadio precoce non candidabili alla resezione epatica o al trapianto. L'esito di queste tecniche è inversamente proporzionale alle dimensioni del tumore; per lesioni di 2-3 cm si ha un'alta percentuale di successo, ma questa diminuisce se il diametro tumorale supera i 3 cm [33].

Le tecniche ablativo che possono essere utilizzate sono due:

- *Termoablazione con RF, laser, microonde ecc...;*
- *Ablazione chimica con etanolo o acido acetico.*

La prima tecnica ad essere stata utilizzata è la PEI, che consiste nell'iniezione intratumorale di alcool etilico, con conseguente necrosi coagulativa del tumore per disidratazione cellulare, denaturazione proteica e occlusione chimica dei piccoli vasi tumorali. Il suo principale limite è l'alto tasso di recidiva locale, che può arrivare al 33% in lesioni <3 cm e al 43% in lesioni >3cm [34]. Ciò è da attribuirsi alla disomogenea diffusione dell'etanolo, in seguito all'inadeguato posizionamento dell'ago all'interno del nodulo tumorale e/o alla presenza di setti intra-tumorali.

Ad oggi, la tecnica più utilizzata e che si è dimostrata più efficace è la termocoagulazione con RF; questa distrugge il tessuto tumorale attraverso un danno termico, grazie all'applicazione di energia elettromagnetica, causando una necrosi coagulativa nei giorni successivi al trattamento. Per ottenere un'efficace distruzione della lesione, l'intero volume tumorale deve essere sottoposto a temperature citotossiche ( $>60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ); inoltre è necessario includere anche una zona circostante di 0,5-1 cm di tessuto apparentemente sano per eradicare eventuali foci microscopici di malattia e per ovviare all'incertezza che spesso esiste riguardo alla reale localizzazione dei margini tumorali. L'energia elettromagnetica viene emessa tramite uno o più elettrodi inseriti per via percutanea o durante una procedura chirurgica. Le indicazioni alla termocoagulazione con RF sono:

- Presenza di meno di 3 focolai neoplastici con diametro inferiore o uguale a 3 cm;
- Pazienti appartenenti alla classe A o B di Child-Pugh, senza ascite e senza rischio emorragico.

Nella pratica clinica, i criteri utilizzati sono:

- PLT  $>50.000/\text{ml}$ ;
- PT  $>50\%$ ;
- Bilirubina totale  $\leq 3\text{ mg/dl}$  [17].

Secondo alcuni autori la termocoagulazione a RF può rappresentare la terapia di prima scelta nei pazienti con HCC di dimensioni inferiori a 2 o 3 cm anche nei casi in cui è possibile la resezione chirurgica [35, 36].

Il tasso di sopravvivenza a 1 anno è del 100% e a 2 anni scende al 98%; tuttavia, anche con questo trattamento la recidiva locale è elevata, analoga a quella post-resezione chirurgica [35].

L'efficacia delle ablazioni percutanee viene valutata tramite una TC o una RM a distanza di 1-2 mesi dal trattamento e successivamente con controlli programmati ogni 3 mesi per i primi due anni e ogni 4-6 mesi a partire dal terzo anno, al fine di diagnosticare precocemente un'eventuale ripresa di malattia, che nella maggior parte dei casi avviene entro due anni [17].

- Trattamenti palliativi

La peculiare vascolarizzazione del fegato ha permesso lo sviluppo di particolari terapie di tipo intra-arterioso che consentono di somministrare i farmaci in maniera selettiva all'interno del tumore tramite il sistema dell'arteria epatica; in questo modo si minimizzano gli effetti sul parenchima epatico sano, che viene irrorato principalmente dal sistema portale.

Queste tecniche comprendono:

- La sola embolizzazione TAE (*Transcatheter hepatic Artery Embolization*);
- La chemio-embolizzazione TACE (*Transcatheter hepatic Artery Chemo-Embolization*);
- La chemio-embolizzazione con microparticelle che liberano chemioterapici DEBs (*Drug-Eluting Beads*);
- La radioembolizzazione [17].

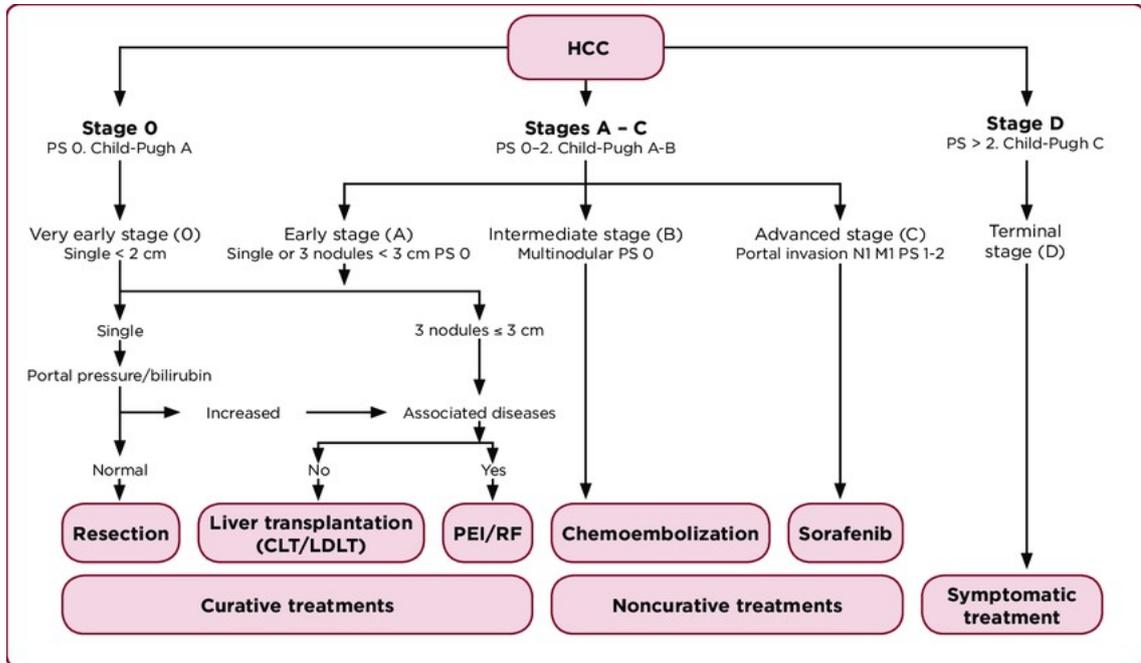


Figura 6: scelta del trattamento sulla base della stadiazione BCLC

## 1.10 FOLLOW UP

Il follow-up dovrebbe rappresentare un efficace strumento di controllo delle complicanze precoci e/o tardive dopo trattamento radicale della patologia oncologica. Tuttavia, in letteratura non sono presenti studi randomizzati che dimostrano il vantaggio di un trattamento precoce sulla ripresa di malattia [37]; esistono invece diversi studi che provengono da piccole realtà istituzionali che dimostrano un aumento di sopravvivenza nei pazienti sottoposti a terapie radicali (resezione, OLT) quando la recidiva è individuata in fase precoce [38]. In questo particolare sottogruppo di pazienti non sono raccomandate particolari procedure per la sorveglianza delle tossicità tardive, in quanto il paziente, solitamente affetto da epatopatia cronica ad evoluzione cirrotica, può andare incontro ad un rapido peggioramento della funzionalità epatica. È stato descritto che i pazienti sottoposti a trapianto di fegato hanno, rispetto alla popolazione sana di pari sesso ed età, un aumento del rischio di eventi cardiovascolari e cerebrovascolari, di malattia ossea e di secondi tumori. Quando il trattamento primario consiste nella resezione chirurgica, la safety è estremamente influenzata dalla FLR, indipendentemente dalle dimensioni del tumore asportato [39].

Una sopravvivenza prolungata è garantita dal riconoscimento precoce e dal trattamento tempestivo dei fattori di rischio modificabili quali:

- Assunzione di alcool;
- Ipertensione arteriosa (presente nel 77% dei casi);
- Diabete (presente nel 22% dei casi);
- Obesità (presente nel 40% dei casi);
- Insufficienza renale (presente nel 50% dei casi);
- Iperlipidemia (presente nel 66% dei casi) [40].

Pertanto, durante la visita di follow up il medico dovrebbe informare il paziente circa le possibili comorbidità in itinere, al fine di migliorare in toto la sopravvivenza e la qualità della vita. Ad oggi, non ci sono indicazioni e dati solidi a supporto di un follow up intensivo per la ricerca di secondi tumori. Secondo le linee guida per il trattamento dell'HCC il follow up clinico e strumentale deve essere piuttosto intensivo nei primi due anni, con cadenza semestrale. Nei pazienti che hanno ricevuto un trattamento chirurgico o ablativo percutaneo e hanno mostrato una risposta completa si raccomanda di eseguire una metodica di imaging con contrasto ogni 3-4 mesi per i primi due anni e

successivamente ogni 6 mesi [41, 42, 43]. Uno studio retrospettivo giapponese indica chiaramente come con un intervallo di 4 mesi sia sufficiente per individuare una recidiva curabile in più dell'80% dei pazienti [44].

In genere il follow up può essere eseguito con ecografia e RM ogni 3 o 6 mesi; inoltre, le linee guida NCCN suggeriscono anche il dosaggio dell'AFP, solo se questa risultava elevata alla diagnosi. Il dosaggio va effettuato con cadenza trimestrale o semestrale nei primi 2 anni e semestrale o annuale successivamente. Poiché nella maggior parte dei casi HCC insorge in pazienti cirrotici, ed essendo il fegato cirrotico il principale fattore di rischio per HCC, il follow up non deve mai essere interrotto. Idealmente, in una patologia così complessa, il follow up dovrebbe essere coordinato da un team multidisciplinare che coinvolga chirurgo, oncologo, epatologo e radiologo interventista. In virtù della complessità della gestione del carcinoma epatocellulare, legata al fatto che di solito c'è un'ulteriore patologia epatica sottostante, non è prevista la possibilità di affidare il paziente alla figura del MMG. Una reale diversificazione delle modalità di follow up, basate sulla caratterizzazione istologica/molecolare della neoplasia, non è ad oggi disponibile [41, 42, 43].

### **1.11 RECIDIVA DI HCC DOPO OLT**

Nonostante un'attenta selezione di pazienti, l'epatocarcinoma dopo il trapianto di fegato tende a recidivare con una frequenza che va dall'8 al 20% [45, 46, 47]. Inoltre, ogni espansione dei criteri di selezioni, in termini di dimensioni e numero dei noduli, incrementa il rischio di recidiva di HCC [46]. Frequentemente la recidiva tumorale si verifica a livello extraepatico, soprattutto nel polmone e nell'osso [48, 49]. Nella maggior parte dei casi le cause di recidiva sono da ricercare nella crescita di metastasi occulte a distanza di mesi o anni dal trattamento, o nell'impianto di cellule di HCC circolanti rilasciate in corso di intervento chirurgico, in una percentuale inferiore di casi [50].

Molto spesso la recidiva tumorale si manifesta precocemente, entro un anno dal trapianto di fegato; frequentemente viene a localizzarsi in sedi difficilmente aggredibili, siano esse intra- o extraepatiche, rendendo impossibile effettuare in questi pazienti un intervento curativo [51]. È noto come il picco di recidiva tumorale avvenga tra il secondo e il terzo anno dopo il trapianto; nei casi in cui la recidiva si sviluppi entro il primo anno la prognosi è pessima. Per i suddetti motivi, la sorveglianza dovrebbe essere piuttosto intensa durante

i primi anni post OLT, trascorsi i quali può essere ridotta se non abbandonata. Come già detto in precedenza, le migliori tecniche di follow up includono l'ecografia, o in casi rari la RM o la TC con mdc; il ruolo del dosaggio dell'AFP è tuttora dibattuto.

Il trattamento della recidiva dipende soprattutto dalla sede in cui questa si presenta. Se tecnicamente fattibile, la resezione chirurgica dovrebbe essere la prima opzione da offrire a questi pazienti; ciò avviene in circa il 30% dei casi. Se non è possibile proporre un trattamento terapeutico, allora si opta per metodiche palliative quali TACE, Sorafenib o radioterapia [52, 53, 54].

## ***CAPITOLO 2***

### **IL TRAPIANTO DI FEGATO**

Il trapianto di fegato costituisce l'unica terapia valida per molte epatopatie terminali, per lesioni focali non resecabili, per l'insufficienza epatica acuta, per molte malattie metaboliche e congenite sia dell'adulto che di interesse pediatrico. In Italia, negli ultimi anni, si ricorre sempre più frequentemente al trapianto di fegato; nel nostro Paese è una procedura consolidata, con più di 20 Centri Trapianti attivi nel Paese. Il numero di trapianti eseguiti ha superato in modo stabile i 1000 per anno, con un trend in continua crescita negli ultimi anni. I risultati ottenuti sono complessivamente eccellenti [55].

#### **2.1 CENNI STORICI**

La storia della trapiantologia è relativamente giovane rispetto a molte altre branche della medicina; sicuramente l'idea della "sostituzione d'organo" ha sempre affascinato i sapienti di tutte le ere e ha lasciato diversi segni nella mitologia e nel folklore. Per fare un esempio, le divinità egizie erano rappresentate con il corpo da umano e la testa da animale. Anche in ambito cristiano questo argomento è stato ampiamente affrontato, in particolare nel Nuovo Testamento, dove viene descritto l'episodio in cui Gesù riattacca un orecchio mozzato al servo di un Sommo Sacerdote.

Passando dalla mitologia alla storia, i primi esperimenti vennero fatti tra il XVII – XIX secolo; vennero trapiantati soprattutto lembi di pelle e ossa.

Il primo trapianto riuscito nella storia della medicina è il trapianto di cornea eseguito nel 1905 dall'oftalmologo austriaco Eduard Zirm. Egli trasferì la cornea di un ragazzo deceduto di 11 anni nell'occhio di un manovale rimasto cieco dopo un incidente con la calce viva; la nuova cornea rimase trasparente e il soggetto recuperò la vista dopo alcune ore, mantenendola poi per tutta la vita.

Nel 1954, a Boston, il chirurgo Joseph Murray eseguì il primo trapianto di rene che ebbe esito positivo; il trapianto fu eseguito tra due gemelli monozigoti, evitando così il problema del rigetto. Nel 1962, sempre a Boston, per la prima volta fu eseguito con successo il primo trapianto di rene eterologo tra soggetti non imparentati.

Il primo trapianto ortotopico di fegato venne effettuato nel 1963 in Colorado da Thomas Starzl; purtroppo i risultati non furono quelli sperati perché il paziente morì durante

l'intervento per complicanze emorragiche. Tre anni dopo, Starzl ottenne il suo primo grande successo, trapiantando una bambina di appena 18 mesi affetta da HCC; la giovane ricevente visse per più di un anno e poi morì per la rapida progressione della malattia. Starzl si occupò anche della ricerca; egli sperimentò una nuova sostanza, chiamata *siero anti-linfocitario*, che sebbene avesse un grande potere nel prevenire il rigetto, esponeva il paziente trapiantato a gravi infezioni virali e numerosi tumori de novo.

Un altro evento cardine nella storia della trapiantologia fu il primo trapianto di cuore, eseguito in Sudafrica il 3 dicembre 1967 dal dottor Barnard.

Mentre il mondo della trapiantologia stava pian piano emergendo, la grande problematica del rigetto rimaneva irrisolta. Bisognerà aspettare il 1970 e la scoperta della Ciclosporina per inaugurare l'avvio dell'arte trapiantologica come è conosciuta oggi [56].

## 2.2 INDICAZIONI AL TRAPIANTO DI FEGATO NELL'ADULTO



Grafico 1: indicazioni al LT nell'adulto in ordine di frequenza

### - Cirrosi epatica

La cirrosi epatica ad eziologia virale (HBV, HCV e HBV+HDV) è l'indicazione più frequente al trapianto di fegato, essendo questi virus responsabili, in alcuni casi, anche di epatite acuta fulminante. La problematica più rilevante riguarda la reinfezione del graft da parte del medesimo microrganismo; il virus, infatti,

presenta anche sedi di replicazione extra-epatiche, per cui l'eradicazione dopo LT non è scontata in alcuni pazienti. Occorre dunque un'adeguata selezione dei pazienti nella fase antecedente al trapianto e un'appropriata profilassi post-intervento.

Per quanto riguarda l'HBV, è di fondamentale importanza valutare lo stato di replicazione virale tramite il dosaggio dell'HBV-DNA e dell'antigene E. La riattivazione virale è definita dalla presenza di livelli sierici di HBV-DNA elevati ( $>1,4 \times 10^6$  copie/ml con metodica PCR). L'assenza di replicazione attiva del virus riduce notevolmente il rischio di recidiva post-trapianto; per questo motivo è di fondamentale importanza iniziare al più presto una terapia a base di analoghi nucleotidici/nucleosidici (Lamivudina, Adefovir, Entecavir, Tenofovir) che va protratta per un periodo di almeno 3 mesi. Dopo il trapianto è prevista una profilassi, che si basa sull'utilizzo in associazione di Ig anti-HBs e Lamivudina; con questo approccio farmacologico è stato ridotto notevolmente il tasso di reinfezione ( $<10\%$  a 1 anno dal trapianto e  $<20\%$  a 3 anni) [57, 58].

Per quanto riguarda HCV, invece, la reinfezione del graft sembra essere un evento pressoché inevitabile. La recidiva di HCV su graft è rapida; fino al 40% dei soggetti tende a sviluppare una cirrosi nell'arco di 5 anni con un deterioramento significativo della funzionalità epatica [59, 60]. I fattori che entrano in gioco sono molteplici e riguardano sia il virus (carica virale e genotipo), sia il ricevente (sistema immunitario e background immunogenetico), sia il donatore (steatosi, età). Per tentare di ovviare a questo problema possono essere applicate diverse strategie:

- Trattare il soggetto nella fase pre-trapianto con PEG-INF e Ribavirina;
- Instaurare una terapia successiva al trapianto;
- Trattare l'epatopatia post-reinfezione del graft avvalendosi di PEG-INF e Ribavirina [61].

Al momento la *cirrosi epatica alcool-relata* rappresenta per frequenza la seconda indicazione al trapianto di fegato nei Paesi Occidentali [62]. La valutazione pre-trapianto di questi pazienti è critica e incentrata soprattutto sull'aspetto psicologico e sociale; è necessario che il paziente pratichi astinenza da alcool per almeno sei mesi prima di essere inserito in lista trapianti e che sia consapevole

che la sua malattia è causata dall'abuso di alcool. È inoltre fondamentale accertarsi che il paziente abbia un adeguato supporto familiare e sociale prima e dopo il trapianto di fegato. Per quanto riguarda la valutazione clinica, invece, bisogna sempre ricercare l'eventuale coesistenza di ulteriori patologie alcool-relate quali:

- Danno organico cerebrale;
- Cardiomiopatia;
- Pancreatite cronica;
- Malnutrizione proteica;
- Polineuropatia periferica;
- Neoplasie maligne;
- Infezioni virali.

Le suddette patologie sono responsabili di un aumentato rischio peri-operatorio e concorrono ad una scadente qualità di vita del paziente nel post-OLT. La maggior parte dei pazienti dopo il trapianto di fegato non torna ad assumere bevande alcoliche; una severa recidiva del potus, tale da danneggiare irreversibilmente il graft e altri organi, si osserva solo in un'esigua percentuale di casi, corrispondente a circa il 10% [63].

La *sindrome di Budd-Chiari* è caratterizzata dall'occlusione (trombotica e non) delle vene sovraepatiche; in alcuni rari casi può essere coinvolta anche la vena cava inferiore. Il decorso clinico è molto variabile a seconda dell'epoca di insorgenza e dell'estensione dell'occlusione venosa; la malattia può manifestarsi con epatite acuta fulminante, acuta, subacuta e cronica, con progressione verso la cirrosi. Alla base del danno epatico c'è la congestione venosa responsabile della necrosi epatocellulare [64].

La *cirrosi criptogenetica* rappresenta circa il 10% delle indicazioni al trapianto di fegato nell'adulto. La maggior parte di queste forme è probabilmente riconducibile a NASH (Non Alcoholic Steato-Hepatitis), malattia autoimmune, o problematiche vascolari misconosciute [65]. La sopravvivenza del paziente e del graft appare sovrapponibile a quella delle altre indicazioni [66].

- Epatocarcinoma

In pazienti altamente selezionati, il trapianto di fegato è il miglior trattamento dell'HCC su cirrosi [16]. Per poter essere candidabili al trapianto di fegato, i pazienti con HCC non resecabile devono rispettare i *Criteri di Milano*, che prevedono:

- Presenza di un singolo nodulo di HCC  $\leq 5$  cm di diametro oppure di neoplasia multifocale, limitata ad un massimo di 3 noduli, ciascuno di diametro non superiore a 3 cm;
- Assenza di localizzazioni tumorali extraepatiche, siano esse linfonodi o altre sedi metastatiche;
- Assenza di invasione vascolare neoplastica dei principali rami venosi intraepatici (rami portali e/o sovraepatici) o extraepatici (vena porta e/o vena cava), confermata o sospettata durante le valutazioni pre-operatorie.

Il rispetto dei criteri di Milano consente di ottenere una sopravvivenza a 5 anni del 70%, con una percentuale di recidiva tumorale inferiore al 25%.

Qualora il paziente abbia una condizione neoplastica per cui non rientra nei criteri di Milano, possono essere effettuate delle procedure che permettono di ottenere una riduzione di volume e quindi un down-staging della neoplasia; principalmente ci si avvale della chemioterapia sistemica e dei trattamenti loco-regionali, come ad esempio la TACE. Attualmente non vi è evidenza che il raggiungimento di un down-staging sia associato ad una sopravvivenza sovrapponibile a quella ottenuta nel caso di tumori originariamente entro i criteri di Milano.

Nel caso in cui l'HCC si presenti su fegato sano, evenienza comunque molto rara, per valutare l'adeguatezza di un trapianto di fegato non possono essere utilizzati i criteri di Milano. Generalmente, i pazienti non cirrotici con un HCC non resecabile e quelli che hanno una recidiva di HCC dopo resezione chirurgica possono essere candidabili al trapianto; anche in questo caso è necessario dimostrare l'assenza di invasione macrovascolare e di diffusione extraepatica [32].

- Malattie colestasiche e autoimmuni

Il trapianto di fegato è indicato nei pazienti con malattia colestasica cronica su base autoimmune in stadio terminale che non è più responsiva alla terapia medica convenzionale. Secondo il *Registro Europeo dei Trapianti di Fegato (ELTR)*, le malattie colestasiche rappresentano un'indicazione al trapianto di fegato nell'11% dei pazienti; la sopravvivenza post-trapianto è del 74% a 5 anni e del 61% a 10 anni.

○ *Cirrosi biliare primitiva – CBP*

È una malattia cronica su base autoimmune che interessa in maniera particolare i piccoli dotti biliari intraepatici. Colpisce prevalentemente le donne di età compresa tra i 40 e i 60 anni. I parametri fondamentali per valutare adeguatamente questa epatopatia e stabilire il giusto timing per il trapianto di fegato sono età, albumina sierica, bilirubina, tempo di protrombina e presenza di edemi. In questa patologia, per stabilire se il paziente è candidabile o meno al LT, devono essere presi in considerazione anche altri parametri, come il prurito insopportabile resistente alla terapia medica, l'osteoporosi con fratture patologiche, l'astenia severa e ingravescente e le colangiti ricorrenti. La recidiva di CBP post-LT è estremamente rara; la positività sierica agli AMA (Anticorpi Anti-Mitocondrio) non sembra avere alcun ruolo nella ricomparsa di malattia, mentre un fattore di rischio è rappresentato dal décalage fino alla sospensione della terapia steroidea [67].

○ *Colangite Sclerosante Primitiva – CSP*

È una patologia autoimmune cronica che colpisce i dotti biliari di grosso calibro, sia intra- che extraepatici; interessa soprattutto i maschi di età compresa tra i 25 e i 45 anni. In questi pazienti il rischio di CCA è aumentato, con un'incidenza superiore al 10-15% dopo 10 anni di malattia. Le principali indicazioni al trapianto di fegato, in corso di questa malattia, sono ittero severo di lunga data, ripetuti episodi di colangite non controllabili mediante terapia antibiotica e cirrosi biliare secondaria con complicanze dovute all'ipertensione portale o insufficienza epatica. La sopravvivenza post-trapianto nei pazienti con CSP si aggira attorno al 70%

a 5 anni, ma si riduce fino al 58% a 10 anni, a causa della recidiva di malattia [68].

○ *Epatite autoimmune – EA*

Questa patologia rappresenta l'indicazione del 2,6% dei trapianti di fegato in Europa e del 5,9% negli Stati Uniti. Il trapianto è indicato in caso di insufficienza epatica acuta, di epatopatia cronica terminale, o quando la terapia con immunosoppressori risulta inefficace e potenzialmente nociva a causa del rischio di sepsi. La diagnosi si basa su parametri clinici, laboratoristici (AST, ALT, ANA, ASMA, ipergammaglobulinemia policlonale) e istologici (epatite portale e/o lobulare con infiltrati linfoplasmatici). In genere la recidiva comporta l'insorgenza di un quadro clinico lieve-moderato (eccezion fatta per l'età pediatrica), con risoluzione dopo adattamento della terapia [69].

- *Insufficienza epatica acuta*

Si parla di insufficienza epatica acuta quando vi è la compresenza di:

- Alterazioni della coagulazione (INR  $\geq 1,5$ );
- Encefalopatia epatica acuta a carattere progressivo;
- Epatopatia nota da meno di 8 settimane senza evidenza di cirrosi.

Il trapianto di fegato in urgenza è indicato ogni qual volta sussistano le condizioni che configurano l'insufficienza epatica acuta e:

- In assenza delle controindicazioni assolute al trapianto di fegato (*neoplasie maligne extraepatiche in atto, infezione da HIV, infezioni batteriche in atto tranne quelle dell'albero biliare, dipendenza o uso corrente di stupefacenti o alcool, malattie psichiatriche gravi, disordini neurologici gravi*);
- Dopo attenta valutazione delle possibili controindicazioni relative (*coesistenti malattie cardiovascolari e polmonari avanzate, livelli di HBV-DNA  $> 1 \times 10^5$  copie/ml, anamnesi positiva per neoplasie maligne pregresse con risposta completa al trattamento e con follow-up  $< 5$  anni*).

Per stabilire con certezza quando ricorrere al trapianto di fegato in caso di insufficienza epatica fulminante sono stati introdotti i criteri del King's College (*tabella 6*).

<b>Paracetamol toxicity</b>	1. pH <7.30 <i>Or</i> 2. All three of: i INR >6.5 (PT >100 seconds) ii Serum creatinine >300 µmol/l iii Grade 3 or 4 hepatic encephalopathy
<b>Non-paracetamol-induced ALF</b>	1. INR >6.5 (PT >100 seconds) <i>Or</i> 2. Any three of the following: i Age <11 or >40 years ii Aetiology non-A, non-B hepatitis, or idiosyncratic drug reaction iii Time from onset of jaundice to encephalopathy >7 days (i.e. not hyperacute) iv INR >3.5 (PT >50 seconds) v Serum bilirubin >300 µmol/l

*Tabella 6: King's College Criteria for Liver Transplantation*

Le principali cause di insufficienza epatica acuta sono:

- *Farmaci e tossine*

Numerosi agenti chimici sono associati all'insufficienza epatica fulminante, sia per tossicità diretta che per reazione idiosincrasica. I principali responsabili sono il Paracetamolo e le tossine dei funghi velenosi.

- *DILI – Drug Induced Liver Injury*

L'epatite alcolica è stata a lungo considerata una controindicazione assoluta al LT per il fatto che i pazienti con questo disturbo hanno consumato alcool recentemente e che un periodo di astinenza permette a molti di loro di recuperare. Sfortunatamente, molti soggetti muoiono durante questo intervallo di tempo.

- *Infezioni*

Rappresenta una delle cause principali; in alcune aree geografiche un'epatite acuta fulminante da causa infettiva costituisce fino al 72% dei casi.

- *Morbo di Wilson*

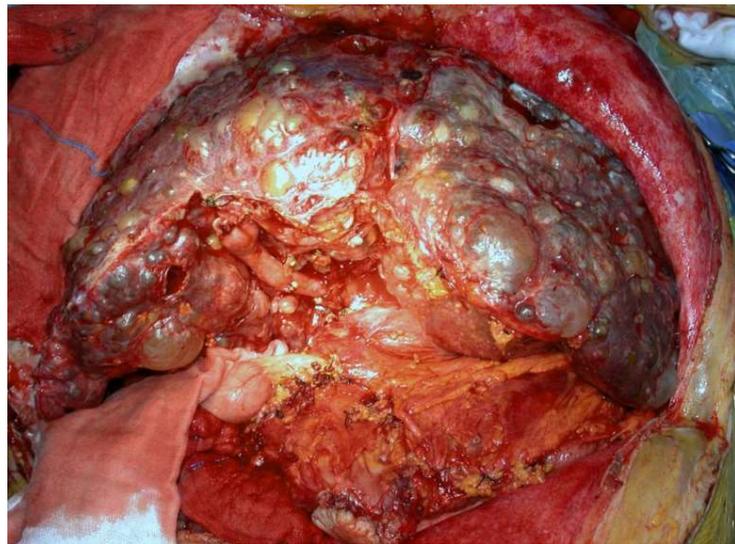
- *Epatite autoimmune*

- *PNF – Primary Non Function*  
Per la trattazione della PNF, fare riferimento alla sezione “complicanze precoci”
- *Vasculopatie*  
Una condizione ischemica a livello epatico determina necrosi centrolobulare e, conseguentemente, insufficienza epatica fulminante [70].
- *Disordini metabolici*
  - *Malattia di Wilson*  
È una patologia ad eredità autosomica recessiva che determina una ridotta escrezione del rame con accumulo di questo a livello epatico, renale, cerebrale ed osseo. Le indicazioni al LT sono rappresentate dalla forma fulminante o da un progressivo danno epatico e/o neurologico in assenza di risposta alla terapia medica [71].
  - *Emocromatosi*  
È una malattia ereditaria a trasmissione autosomica recessiva, a penetranza variabile, causata da una mutazione che determina una ridotta sintesi epatica di epcidina; ciò comporta un eccessivo assorbimento intestinale di ferro, con conseguente aumento del ferro plasmatico e, negli anni, un progressivo accumulo in vari organi, tra cui fegato, cuore e ghiandole endocrine, fino alla disfunzione d'organo. L'indicazione al trapianto viene posta in caso di epatopatia terminale ed il trapianto è considerato curativo.
  - *Deficit di  $\alpha$ 1-antitripsina*  
Patologia ereditaria a trasmissione autosomica recessiva, caratterizzato da bassi livelli circolanti dell'inibitore delle proteasi con conseguente sviluppo di enfisema polmonare in età giovanile. La mutazione non determina un deficit assoluto di proteina, bensì comporta la formazione di una proteina aberrante che rimane all'interno degli epatociti causando epatopatia cronica. Nei neonati e nei bambini il deficit di  $\alpha$ 1-antitripsina, insieme all'atresia delle vie biliari, rappresenta la maggiore indicazione al LT. Il LT permette di correggere il difetto metabolico e stabilizzare la patologia polmonare; una malattia polmonare avanzata costituisce una controindicazione al LT [72].

- Altro

○ *Malattia Policistica del Fegato*

Patologia che può presentarsi come entità isolata o in associazione alla malattia policistica renale, nella variante autosomica dominante. La prevalenza di cisti epatiche in corso di APKD è del 75-90%. La malattia policistica del fegato, in assenza di complicanze delle cisti, determina sintomi solo in una bassa percentuale di pazienti, ed in genere solo in presenza di massiva epatomegalia. I pazienti sintomatici possono essere trattati con tecniche chirurgiche conservative (fenestrazione delle cisti o resezione epatica) o con trapianto di fegato; in particolare il trapianto è riservato ai soggetti con massivo e diffuso sovvertimento epatico, con minime aree di parenchima indenne. Nei casi in cui c'è anche un'insufficienza renale cronica associata, dovrà essere valutata l'opportunità di trapianto combinato fegato-rene [73].



*Figura 7: malattia policistica del fegato, immagine intraoperatoria*

○ *Amiloidosi*

In questa patologia il difetto genetico risiede a livello epatico ma il danno è a carico di altri organi. Il LT conduce ad una regressione del danno d'organo in molti pazienti, eccezion fatta per la cardiomiopatia. L'amiloidosi da transtiretina è una malattia ereditaria a trasmissione autosomica dominante, ad esordio tardivo, causata da mutazioni amiloidogeniche del gene codificante per la transtiretina; tali mutazioni

conducono alla formazione di una molecola di transtiretina altamente instabile, che tende a dissociarsi in frammenti che precipitano e si aggregano in fibrille di amiloide nei tessuti, causando danno d'organo. Oltre il 95% della transtiretina è prodotta dal fegato e si deposita a livello del sistema nervoso periferico e del cuore, causando neuropatia sensitivo-motoria e autonoma. Attualmente il LT, abolendo la produzione di proteina alterata, rappresenta il solo intervento definitivo per l'amiloidosi da transtiretina [74].

### **2.3 INDICAZIONI MARGINALI AL TRAPIANTO DI FEGATO NELL'ADULTO**

#### **- Epatocarcinoma primitivo "oltre" i Criteri di Milano**

Prima dell'adozione dei Criteri di Milano, la sopravvivenza a 5 anni dei pazienti sottoposti a trapianto per HCC in stadio avanzato era inferiore al 50%. Con il miglioramento delle procedure di trattamento e l'affinamento delle procedure post-trapianto, diversi studi hanno suggerito che una modesta espansione dei criteri di Milano permetterebbe di ottenere risultati apparentemente accettabili in termini di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da malattia. Più precisamente, da questi studi si evidenzia come, espandendo i criteri di inclusione basati sul numero e sulle dimensioni dei noduli, la sopravvivenza del paziente e l'intervallo libero da recidiva tumorale, pur rimanendo entro valori accettabili, diminuiscano progressivamente. I principali limiti delle proposte di estensione dei criteri convenzionali sono rappresentati dalla attuale mancanza di un'adeguata validazione dei risultati e dall'alta probabilità che, in assenza di un sistema che assicuri un'effettiva priorità ai pazienti con HCC, un elevato numero di pazienti venga escluso dall'intervento durante l'attesa in lista (fino ad oltre il 60% di esclusione entro due anni). In Italia, data la disparità tra numero di pazienti potenzialmente trapiantabili e numero di donazioni, si consiglia la massima cautela nell'espandere i criteri convenzionali. Attualmente si può affermare che i criteri proposti dall'Università di San Francisco – *UCSF* – siano gli unici eventualmente utilizzabili e che possano essere impiegati nella selezione dei pazienti all'interno di studi controllati [75]. Diversi anni fa sono stati introdotti anche gli *Up-to-seven Criteria* ma non c'è ancora consenso unanime all'utilizzo.

Considerando che i pazienti candidati al trapianto seguendo gli Up-to-seven Criteria hanno mostrato un notevole tasso di sopravvivenza, ma comunque inferiore rispetto a chi è stato selezionato tramite i Criteri di Milano, questi devono essere utilizzati con estrema attenzione in pazienti selezionati [76]. Le differenze tra i principali criteri di selezione per il trapianto di fegato sono raggruppate nella *tabella 7*.

<b><i>Criteri di Milano</i></b>	Nodulo singolo di dimensioni $\leq 5$ cm o fino a 3 noduli, ognuno dei quali di dimensioni $\leq 3$ cm; assenza di invasione linfo-vascolare.
<b><i>UCSF</i></b>	Nodulo singolo di dimensioni $\leq 6,5$ cm o fino a 3 noduli, ognuno dei quali di dimensioni $\leq 4,5$ cm; somma totale del diametro dei noduli $\leq 8$ cm.
<b><i>Up-to-seven criteria</i></b>	Somma del diametro (cm) e numero di noduli $\leq 7$ ; assenza di invasione linfo-vascolare.

*Tabella 7: differenze tra i principali criteri di selezione per il trapianto di fegato*

- *Downstaging di HCC*

Per downstaging si intende la riduzione volumetrica di un HCC, originariamente considerato al di fuori dei criteri di Milano, al fine di ridurre la progressione e ricondurre la neoplasia all'interno dei criteri di trapiantabilità. Il downstaging può essere ottenuto sia con trattamenti singoli, che con l'integrazione di varie metodiche; tali metodiche possono essere di tipo chirurgico, radiologico interventistico o farmacologico. Nel trattamento farmacologico viene usato il *Sorafenib* in duplice somministrazione giornaliera. Altre tecniche che vengono impiegate nel downstaging sono la *TACE*, la *radioterapia selettiva interna intraepatica* e la *resezione chirurgica* di una parte della lesione. Attualmente non sono stati effettuati studi prospettici a dimostrazione che il downstaging di tumori inizialmente Milano-out consenta di ottenere tassi di sopravvivenza sovrapponibili a quelli ottenuti nei tumori già in principio Milano-in; inoltre, non è nemmeno nota quale sia la migliore metodica di downstaging. I pazienti con HCC già in lista d'attesa tendono ad incorrere nel drop out più frequentemente rispetto a quelli con indicazioni differenti, soprattutto a causa della progressione della malattia. Il razionale dell'utilizzo delle procedure terapeutiche loco-

regionali è spesso proprio quello di scongiurare tale rischio; tuttavia, in letteratura ci sono poche evidenze che dimostrino che essi si associno ad una migliore sopravvivenza dei pazienti o ad una migliore sopravvivenza libera da malattia [75].

- Infezione da HIV

Il trapianto di fegato in pazienti con infezione da HIV è regolamentato da un protocollo sperimentale designato dal *CNT (Centro Nazionale Trapianti)* e dalla *Commissione Nazionale AIDS*.

Per l'inclusione in tale protocollo devono essere rispettati i seguenti criteri:

- Aderenza ai criteri generali per il trapianto di fegato;
- Infezione da HIV documentata;
- Capacità di fornire/acquisire il consenso informato;
- Pazienti HIV+ mai trattati con terapia antiretrovirale con conta dei linfociti CD4+ circolanti stabilmente  $>350/\text{mm}^3$ ;
- Pazienti HIV+ in terapia antiretrovirale con conta dei linfociti CD4+  $>350/\text{mm}^3$  stabile da almeno 12 mesi e con incremento di almeno il 25% dall'inizio della terapia;
- Pazienti con malattia epatica scompensata e, per tale motivo, intolleranti a precedenti terapie antiretrovirali, con conta dei linfociti CD4+  $>200/\text{mm}^3$  e documentata risposta alla terapia nell'ultimo ciclo terapeutico;
- Compliance al trattamento antiretrovirale ed alla profilassi delle infezioni opportunistiche;
- Nelle donne, test di gravidanza negativo, ripetuto mensilmente.

Invece, i criteri di esclusione sono:

- Diagnosi di AIDS negli ultimi 2 anni;
- Diagnosi di Sarcoma di Kaposi viscerale;
- Storia di neoplasia, ad eccezione del carcinoma basocellulare e del carcinoma in situ della cervice con periodo "disease free survival" documentato superiore a 5 anni e guarigione certificata da un oncologo [77].

- Metastasi da tumori neuroendocrini – NET

Le metastasi epatiche da NET intestinale e/o pancreatico rappresentano la prima causa di morte nei soggetti che ne sono affetti. In circa il 90% dei casi sono multiple e bilaterali, motivo per cui la resezione epatica con intento curativo può essere proposta solo in una minoranza di soggetti. A tal proposito, il trapianto di fegato rappresenta l'opzione terapeutica proponibile a tutti quei pazienti che hanno metastasi epatiche bilaterali e non resecabili. A causa della bassa disponibilità di organi e dell'alto tasso di recidiva, l'indicazione al trapianto di fegato viene data solo in caso di fallimento o impossibilità ad attuare tutte le altre strategie terapeutiche. Per la selezione dei pazienti candidabili al trapianto, l'Istituto Nazionale Tumori di Milano ha introdotto i seguenti criteri:

- Pazienti giovani ( $\leq 55$  anni);
- Conferma istologica esclusivamente di carcinoide;
- Coinvolgimento del parenchima epatico  $< 50\%$ ;
- Sede anatomica del tumore primitivo a drenaggio esclusivamente portale;
- Buona risposta e/o stabilità della malattia durante il periodo pre-trapianto (per almeno 6 mesi);
- Assenza di malattia extraepatica al momento del trapianto [78].

- Emangioendotelioma epitelioido - EEE

È un raro tumore, di origine vascolare e ad eziologia sconosciuta, con una storia naturale di malattia variabile. Nella maggior parte di pazienti è multifocale e interessa entrambi i lobi epatici. Il trattamento di cui ci si avvale maggiormente è il trapianto di fegato (44.8% dei casi), seguito da nessuna azione terapeutica (24.8%), da chemioterapia e radioterapia (21%) e da resezione epatica (9,4%). Il trapianto di fegato è stato proposto come trattamento di scelta e come unica alternativa per tumore non resecabile e multifocale. Rimane ancora da chiarire la possibile utilità del Sirolimus nella terapia immunosoppressiva nei pazienti trapiantati per EEE, mentre è stata evidenziata una discreta risposta clinica al trattamento delle recidive di malattia dopo trapianto con l'impiego dell'Interferone [79].

## 2.4 CONTROINDICAZIONI AL TRAPIANTO DI FEGATO NELL'ADULTO

Possiamo distinguere le controindicazioni al trapianto di fegato nell'adulto in assolute e relative.

Per quanto riguarda quelle assolute, esse sono:

- Neoplasie maligne extraepatiche in atto;
- Neoplasie maligne pregresse con risposta completa al trattamento ma con follow-up <5 anni (salvo valutazione oncologica collegiale indicativa di basso rischio di recidiva neoplastica e/o metastasi);
- Trombosi portale neoplastica;
- HCC primitivo, al di fuori delle indicazioni Mayo clinic;
- Insufficienza multiorgano;
- Grave ipertensione polmonare, con PAM (Pressione Arteriosa Media)  $\geq 45$  mmHg, non correggibile con terapia medica;
- Sindrome epato-polmonare con saturazione di O<sub>2</sub> <50% in aria ambiente;
- Infezione da HIV, al di fuori del Programma Nazionale di trapianto di fegato da cadavere in HIV, per i centri che ne fanno parte;
- Malattie cardiovascolari e polmonari avanzate, definite in seguito a valutazione collegiale specialistica;
- Grave osteoporosi con fratture spontanee vertebrali e con impotenza funzionale;
- Livelli di HBV-DNA >20.000 UI/ml al momento del trapianto;
- Infezioni batteriche in atto, sostenute da germi non identificati (eccezion fatta per le infezioni dell'albero biliare in trattamento), per le quali è necessaria un'esclusione temporanea dalla lista attiva;
- Dipendenza attiva da stupefacenti o da alcool;
- Malattie psichiatriche gravi, quali schizofrenia, psicosi maggiori, severi disturbi della personalità;
- Mancata compliance del paziente;
- Disordine neurologico grave e progressivo, quale malattia di Alzheimer, danni neurologici irreversibili etc.

Invece, tra le controindicazioni relative, troviamo:

- Trombosi portale parziale non neoplastica;
- Pregressi interventi chirurgici estesi su organi addominali;

- Obesità (BMI >30);
- Pregressa chirurgia dei quadranti superiori dell'addome;
- Pazienti in terapia sostitutiva con metadone e/o analoghi.

L'abuso di oppioidi rappresenta un problema clinico di frequente riscontro in pazienti coinfecti con virus HIV, epatotropi o in soggetti con concomitante abuso di alcolici. Per queste motivi, è piuttosto frequente incontrare pazienti con malattia epatica terminale legata ad una delle cause sopra descritte che contemporaneamente presentano un abuso di oppioidi. Questa categoria di pazienti viene considerata non candidabile al trapianto di fegato [80].

## 2.5 INSERIMENTO IN LISTA D'ATTESA

Nel nostro Paese, per stabilire la priorità in lista d'attesa vengono impiegati:

- *Classificazione di Child-Pugh-Turcotte*;
- *MELD*, dal 2002.

Nel trapianto di fegato per insufficienza epatica in stadio avanzato il timing è cruciale, in quanto i pazienti dovrebbero essere sottoposti all'intervento chirurgico prima che si verificano complicanze potenzialmente fatali; tuttavia, essi non dovrebbero andare incontro al trapianto nemmeno troppo presto, perché il beneficio del trapianto stesso potrebbe essere inficiato dai rischi legati alla chirurgia e all'immunosoppressione.

Inizialmente fu introdotto lo *score di Child-Turcotte*, che si basava su due parametri laboratoristici (albumina e bilirubina sieriche) e tre variabili cliniche (ascite, encefalopatia, stato nutrizionale del paziente), definendo 3 distinti gruppi di gravità dell'epatopatia (A, B, C) in ordine crescente. Dopo circa dieci anni, questo score fu trasformato nello *score di Child-Pugh* (tabella 1), in cui lo stato nutrizionale del paziente è stato sostituito dal tempo di protrombina (PT), in modo da poter valutare adeguatamente sia l'attività di sintesi epatica (albumina e protrombina), che quella secretoria (bilirubina). I limiti di questo score derivano dal fatto che i valori delle variabili considerate non dipendono solo dalla funzionalità epatica; inoltre, i parametri clinici vengono valutati in maniera soggettiva [81, 82]. In aggiunta, mancano le evidenze di una diretta correlazione tra il punteggio ottenuto con tale score e la mortalità dovuta all'epatopatia. Infine, lo score non tiene conto né di alcuni importanti fattori prognostici, come la creatinemia, né di

dati estremamente rilevanti, come l'eziologia della cirrosi e la persistenza di danno epatico causato dalla replicazione virale o dall'attività infiammatoria in caso di epatiti autoimmuni [82, 83].

Il MELD score – Model for End-stage Liver Disease ha progressivamente sostituito il precedente score nel valutare la gravità dell'epatopatia, nello stimare la sopravvivenza del paziente e nell'inserimento in lista d'attesa per LT. Questo score, basandosi su parametri laboratoristici oggettivi (creatininemia, bilirubinemia, INR), rappresenta uno strumento decisamente più affidabile. Il MELD score, adottato dall'UNOS (United Network for Organ Sharing, l'associazione statunitense che controlla l'allocazione degli organi) a partire dal febbraio 2002, rappresenta lo strumento evidence-based per l'allocazione degli organi a tutti i potenziali candidati al trapianto, fatta eccezione per le epatiti fulminanti. L'equazione mediante la quale viene calcolato il MELD è la seguente:

$$9,57*\log(\text{creatinina mg/dl}) + 11,2*\log(\text{INR}) + 3,78*\log(\text{bilirubina mg/dl}) + 6,43$$

Il punteggio MELD può variare da 6 a 40, valori a cui corrisponde una gravità clinica crescente. Inoltre, se il paziente è stato sottoposto ad almeno due procedure di emodialisi nella settimana precedente al calcolo MELD, la creatinina viene automaticamente impostata ad un valore di 4 per aumentare il punteggio finale e renderlo il più veritiero possibile. Ulteriori studi retrospettivi condotti sui dati dell'UNOS hanno correlato il punteggio MELD dei candidati al LT con la sopravvivenza, introducendo il concetto di *survival benefit*: l'aumento di sopravvivenza ad un anno, derivato dal trapianto, aumenta al crescere del MELD score e, inoltre, il paziente trapiantato con valori MELD <15 può presentare una ridotta aspettativa di vita rispetto a quello che non è stato sottoposto a tale intervento chirurgico a causa delle numerose complicanze insite nel trapianto stesso [84]. Una delle maggiori criticità del punteggio MELD risulta l'applicazione in soggetti affetti da epatocarcinoma: nel 2006 è stato quindi proposto un ulteriore metodo di calcolo, definito HCC-MELD, che tiene conto sia del MELD score, ma anche di parametri aggiuntivi quali l' $\alpha$ -fetoproteina e le dimensioni della massa tumorale [85].

Un'ulteriore evoluzione nel calcolo del MELD è l'introduzione del MELD-Na; questo tiene conto anche della natriemia ed è utile nella valutazione prognostica del cirrotico avanzato, nel quale gli squilibri elettrolitici sono un importante fattore da tenere in considerazione [86].

In Italia è presente un sistema di punteggio unico, definito *ISO score*, che dal 2015 permette un'allocazione d'organo omogenea all'interno dell'intero territorio nazionale.

L'ISO score considera i seguenti parametri:

- Bilirubina;
- Creatinina;
- INR;
- Necessità di dialisi (2 sedute a settimana);
- AFP;
- Tempo trascorso in lista di attesa (espresso in mesi);
- Presenza di eccezioni al MELD score;
- Presenza di HCC.

Nel caso in cui ci siano eccezioni al MELD score o HCC, è possibile attribuire delle priorità, che fanno sì che il punteggio ISO score finale sia superiore a quello che sarebbe senza l'aggiunta di questi punti extra. È proprio questo il rationale dell'utilizzo del nuovo score: riconoscere la priorità al trapianto di alcuni pazienti, il cui MELD score non riflette del tutto il rischio del paziente stesso.

A seguire sono descritti i requisiti minimi per l'immissione in lista.

- Cirrosi epatica di qualunque eziologia

I requisiti minimi per valutare se inserire un paziente cirrotico in lista d'attesa per trapianto epatico sono:

- Cirrosi con CTP  $\geq 7$ ;
- Cirrosi con CTP  $< 7$  solo se associata a recente episodio di scompenso (ascite severa, sanguinamento da varici, encefalopatia, polmonite batterica spontanea) non causato da fattori precipitanti removibili;
- Coesistenza di cirrosi e HCC entro i Criteri di Milano anche con CTP  $< 7$ .

Il CNT, in Italia, ha indicato come unico criterio minimo per l'immissione in lista di LT del paziente cirrotico un punteggio MELD  $> 15$ .

- Malattie colestasiche croniche

Tra le malattie colestasiche croniche rientrano la CBP e la CSP. In entrambe le patologie, il criterio minimo di immissione in lista è legato alla presenza di un rischio di mortalità del paziente senza trapianto, ad un anno dall'osservazione,  $> 10\%$ .

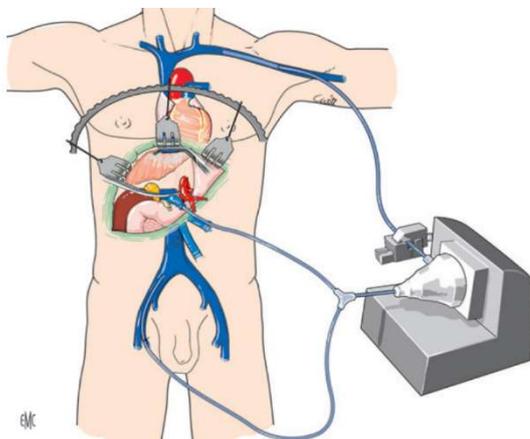
- Nel caso della CBP, il modello predittivo di mortalità da utilizzare è il *Mayo Risk Model*; il punteggio minimo ritenuto adeguato a iscrivere il paziente in lista è  $>6,5$ .
- Nel caso della CSP, il modello predittivo di mortalità da utilizzare è il *New PSC model* sviluppato dalla Mayo Clinic; il punteggio minimo ritenuto adeguato a iscrivere il paziente in lista è  $>1,9$  [85, 87].

Per quanto riguarda l'età del candidato al trapianto di fegato, si ha una significativa riduzione della sopravvivenza a 5 e a 10 anni nei pazienti con età  $>60$  anni rispetto a quelli più giovani. La ridotta sopravvivenza è perlopiù legata al progressivo deterioramento legato all'invecchiamento e alla maggior durata dell'ospedalizzazione, sia nei reparti di terapia intensiva che nei reparti di degenza ordinaria. Inoltre, recentemente, è stato evidenziato come riceventi di età più avanzata presentino un rischio maggiore di mortalità post-trapianto indipendentemente dal funzionamento del graft. Nonostante non vi sia un valore assoluto di età per candidare o meno un paziente al trapianto di fegato, i dati scientifici, considerando principalmente la scarsità di organi disponibili in relazione alle richieste, indicano come età massima per candidare un soggetto al trapianto di fegato 65 anni [88, 89].

## 2.6 TECNICA CHIRURGICA

La tecnica chirurgica del trapianto di fegato è stata da tempo standardizzata e prevede generalmente due varianti principali:

- Tecnica convenzionale, nella quale viene asportato il tratto intra-epatico della vena cava inferiore del ricevente ed impiegato un bypass per la circolazione extracorporea;



*Figura 8: bypass extracorporeo utilizzato nel trapianto di fegato con tecnica convenzionale*

- Tecnica Piggy-Back, nella quale il fegato nativo viene separato dalla vena cava inferiore durante l'epatectomia e l'anastomosi cavale viene confezionata sulla cuffia delle vene sovra-epatiche o mediante un'anastomosi L-L tra la vena cava del donatore e del ricevente.

La tecnica convenzionale è stata per lungo tempo l'approccio standard nell'esecuzione del trapianto e deve essere tuttora ritenuta come metodica di riferimento, soprattutto nei centri con minore esperienza.

La tecnica Piggy-Back permette di accorciare i tempi operatori, di diminuire la morbilità operatoria e di risparmiare sul costo dei materiali (circuiti della circolazione extracorporea); le principali difficoltà nell'eseguire questa tecnica possono incontrarsi in caso di fegati voluminosi, di lobo caudato che abbraccia circolarmente la VCI o di paziente portatore di TIPS (Shunt Portosistemico Intraepatico Trans-giugulare).

### 2.6.1 Preparazione ex vivo dell'innesto

Questa fase consiste nel preparare le sedi delle anastomosi vascolari e biliari del graft; viene eseguito contemporaneamente all'inizio dell'intervento sul ricevente, su un banco specificatamente destinato a questo scopo, denominato *back table*, posto nella stessa sala in cui si trova il ricevente. Il fegato, dopo essere estratto dal contenitore refrigerato di trasporto, utilizzando tutte le misure di asepsi, viene immerso in un grande recipiente di soluzione isotonica fredda (temperatura mantenuta tra i 4°C e gli 8°C con l'ausilio di soluzione fisiologica congelata); successivamente vengono preparati in sequenza la VCI e tutti gli elementi del peduncolo. L'innesto, una volta pronto, viene conservato nella soluzione di lavaggio a 4°C in attesa di essere portato all'interno della cavità addominale del ricevente (*figura 9*).



*Figura 9: preparazione dell'innesto*

## 2.6.2 Tecnica chirurgica del trapianto di fegato

La tecnica chirurgica del trapianto di fegato che viene maggiormente utilizzata presso gli *Ospedali Riuniti di Ancona* e in tutti gli altri centri ad alto volume è, come detto in precedenza, la *Piggy-Back*. Con questo termine, di derivazione anglosassone, si indica il “portare qualcuno a cavalcioni sulla schiena”. Questa locuzione illustra perfettamente questa tecnica trapiantologica, che consiste nel conservare la continuità della vena cava nel ricevente per impiantarvi un segmento di vena cava del graft. L’importanza di questa tecnica sta nell’aggirare la difficoltà rappresentata dal confezionamento delle due anastomosi cavali (sovra- e sottoepatica) della tecnica standard e nell’evitare di utilizzare il bypass extracorporeo.

### - Via d’accesso

Si esegue dapprima un’incisione bi-sottocostale che, a destra, scende in basso fino al fianco. Per esporre ancora di più il campo operatorio si può completare con un’incisione supplementare mediana, verticale, fino all’apofisi xifoidea; in tal caso si parla di *incisione a Mercedes (figura 10)*.

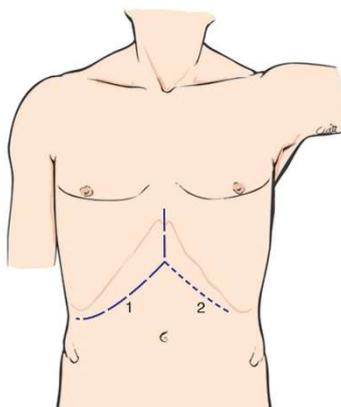


Figura 10: incisione a Mercedes

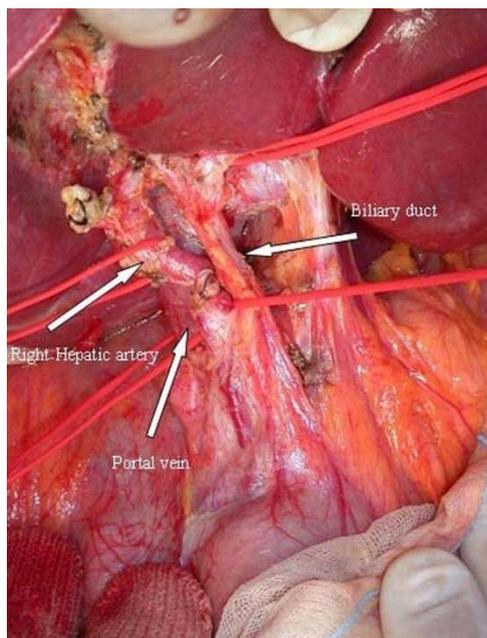
### - Exeresi del fegato nativo

In prima istanza viene sezionato il legamento rotondo del fegato che, in caso di severa ipertensione portale, risulta ricanalizzato. In seguito viene sezionato il legamento falciforme ed il suo prolungamento fino alla vena cava. Si procede poi sezionando i legamenti triangolari di sinistra e di destra per mobilizzare i rispettivi lobi epatici. Successivamente, si isolano gli elementi del peduncolo epatico (*figura 11*), considerando che devono essere lasciati lunghi il più possibile onde evitare, al momento dell’impianto, di avere poco tessuto su cui fare le anastomosi vasali.

Come prima cosa si va ad individuare il coledoco; questo si deve sezionare il più distalmente possibile in modo da non ledere i grossi *vasa vasorum* che lo circondano. La sezione del coledoco espone la porzione destra della vena porta ed indica il livello del decorso dell'arteria epatica.

L'arteria epatica propria viene preparata a ridosso dell'origine dell'arteria gastroduodenale.

Infine, viene esposta la vena porta; il suo tronco viene liberato fino all'origine dei suoi rami destro e sinistro, i quali vengono sezionati. Durante questo momento chirurgico non è raro trovare una trombosi della vena porta. Inoltre, per preservare la circolazione portale, molto spesso viene effettuata un'anastomosi T-L porto-cavale temporanea; questa evita la stasi venosa splancnica e la congestione del tubo digerente e assicura il mantenimento di una buona emodinamica durante il tempo necessario per l'epatectomia totale.



*Figura 11: isolamento degli elementi del peduncolo epatico, immagine intraoperatoria*

A questo punto il fegato si presenta completamente devascularizzato; l'importante riduzione di volume causata dalla cirrosi facilita la sua mobilizzazione. La trazione esercitata sul fegato permette di tendere la porzione sovraepatica della vena cava e di esporre il margine destro della vena sovraepatica di destra. Si prosegue legando progressivamente dal basso verso l'alto le vene sovraepatiche accessorie man mano che si presentano. Dunque, vengono sezionati la vena

sovraepatica di destra e il tronco comune delle vene sovraepatiche mediana e di sinistra. A questo punto, il fegato viene espantato ed inviato nella sua totalità al Dipartimento di Anatomia Patologica, che effettuerà un dettagliato esame micro- e macroscopico. La regola d'oro di questa fase è minimizzare le perdite di sangue, dato che in corso di cirrosi i legamenti di ancoraggio del fegato sono ricanalizzati e il fegato è sede di molteplici delicate varici.

- Fase anepatica (figura 12)

Questa fase ha come scopo principale il perfezionamento dell'emostasi del letto del fegato e la preparazione delle anastomosi venose. L'emostasi è realizzata con il bisturi elettrico; l'uso di un coagulatore a getto di argon, quando disponibile, rende la manovra molto più semplice. Perfezionare l'emostasi è un imperativo che può richiedere molto tempo; sta in questo l'interesse di aver preparato un'anastomosi porto-cavale temporanea. Durante la preparazione delle anastomosi venose l'innesto è estratto dal suo contenitore sterile e, per tutta la durata, sarà ricoperto con un telo umido e freddo, regolarmente irrigato con fisiologica ghiacciata.

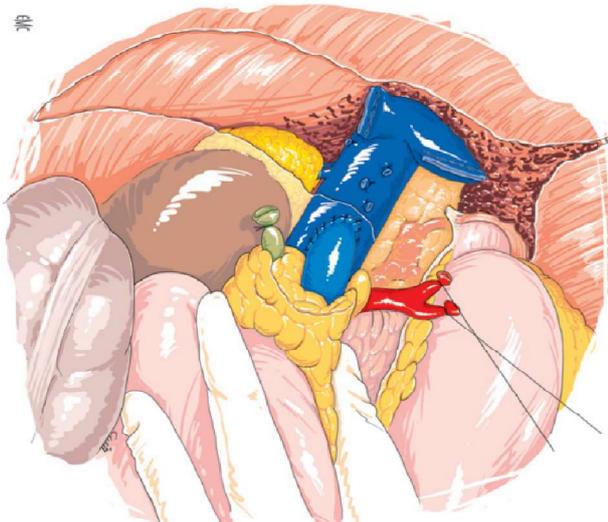


Figura 12:  
*fase anepatica*

- Anastomosi cavale

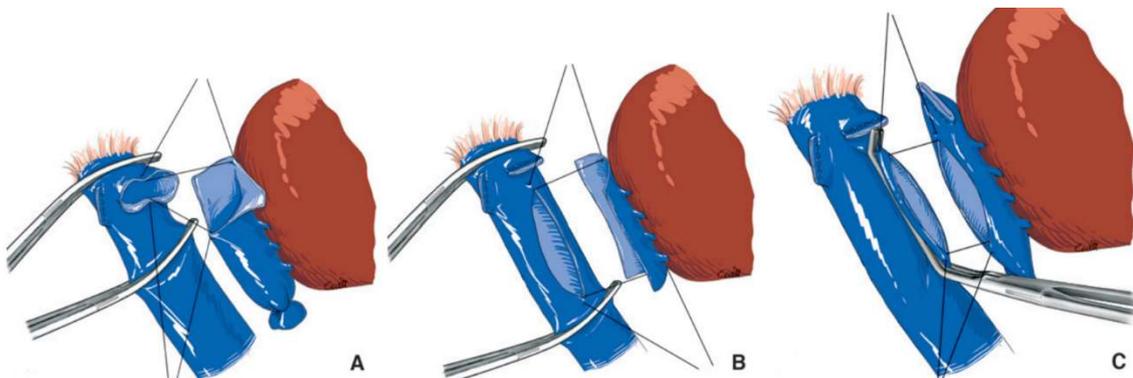
L'anastomosi cavale può essere confezionata secondo tre diverse modalità di impianto Piggy-Back (figura 13).

Secondo la *prima tecnica*, l'estremità prossimale della vena cava inferiore retroepatica del graft viene impiantata in T-L sulla faccia anteriore della vena cava

inferiore del ricevente a livello della confluenza delle vene sovraepatiche, dove è stato precedentemente creato un ostio comune. L'estremità distale della vena cava inferiore del graft viene legata.

In base alla *seconda tecnica*, la vena cava del graft viene prelevata in un ampio patch che comprende gli osti di tutte le vene sovraepatiche, principali ed accessorie. Questo patch di vena cava viene impiantato sulla faccia anteriore della vena cava del ricevente, lungo un'incisione verticale.

Nella *terza tecnica*, la vena cava inferiore del graft viene mantenuta; in particolare la faccia posteriore viene incisa verticalmente e viene anastomizzata alla vena cava inferiore del ricevente in L-L. Le due estremità della vena cava del graft vengono legate.



Le tre modalità di impianto piggyback dell'innesto.  
**A.** Terminolaterale sugli osti riuniti delle vene epatiche media e sinistra.  
**B.** Faccia a faccia. La vena cava dell'innesto è scissa longitudinalmente e applicata a patch sulla vena cava inferiore del ricevente.  
**C.** Laterolaterale.

*Figura 13: modalità di impianto Piggy Back dell'innesto*

#### - Anastomosi portale

L'anastomosi portale va confezionata in termino-terminale tra la vena porta del ricevente e quella del graft (*figura 14*). Le lunghezze dei vasi devono essere valutate scrupolosamente per non rischiare plicature al momento della rimozione dei divaricatori. Per prima cosa viene liberata la cava; successivamente si declampa la vena porta. La ripresa del colorito dell'organo trapiantato è lenta ma graduale. Il parenchima epatico deve essere massaggiato con delicatezza, in modo da non traumatizzare i sinusoidi, e riscaldato bagnandolo con soluzione fisiologica tiepida.



*Figura 14: anastomosi portale*

- *Ricostruzione arteriosa*

Il confezionamento di una buona anastomosi arteriosa è fondamentale per un'adeguata vascolarizzazione della via biliare dell'innesto.

Se l'arteria epatica del ricevente è utilizzabile, l'impianto viene realizzato a cavallo tra arteria epatica comune e propria, a livello dell'ostio dell'arteria gastroduodenale; la sutura può essere continua o a punti staccati, in monofilamento 6/0 o 7/0.

Se l'arteria epatica del ricevente non è utilizzabile (perché trombizzata o con pareti dissecate da un ematoma intramurale) si può fare un'anastomosi con l'arteria splenica, che rappresenta il sostituto più vicino. Altra possibilità è l'interposizione tra l'arteria epatica del donatore e l'aorta del ricevente di un segmento di arteria iliaca, detto "*jump graft*", prelevato dal donatore; l'arteria iliaca viene anastomizzata termino-lateralmente sull'aorta sotto-renale del ricevente e termino-terminalmente al suo capo distale con l'arteria epatica del graft.

Dopo aver confezionato l'anastomosi arteriosa, qualsiasi essa sia, è bene eseguire uno studio ecografico con Color Doppler intraoperatorio a pancia aperta, per valutare la presenza e la qualità del flusso arterioso diretto al fegato.

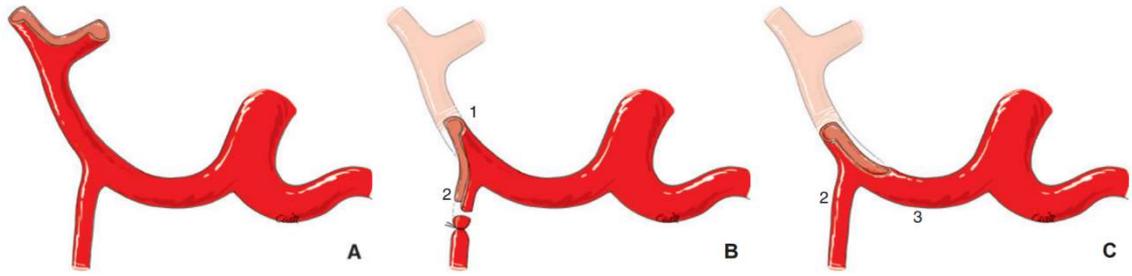


Figura 15: anastomosi arteriosa (1 arteria epatica propria e 2 arteria gastroduodenale)

- Ricostruzione biliare

La scelta della tecnica di ricostruzione biliare dipende dalle condizioni anatomiche. Quando le estremità del coledoco sono sane, ampie, ben vascolarizzate e lunghe a sufficienza da permettere un'anastomosi senza tensioni è possibile effettuare un'anastomosi coledoco-coledocica termino-terminale con punti staccati PDS 6/0 e con eventuale posizionamento di tubo di Kehr. Quest'ultimo è un drenaggio a T che viene utilizzato soprattutto quando c'è discrepanza di diametro tra il coledoco del donatore e quello del ricevente; è utile per proteggere l'anastomosi biliare nelle prime giornate post-operatorie, per controllare l'esistenza di un flusso biliare e per opacizzare con mdc la via biliare intraepatica in caso di complicanze (colangiografia trans-Kehr). Quando le condizioni del coledoco di donatore e ricevente non sono ottimali, si può procedere eseguendo un'anastomosi bilio-digestiva, realizzata su un'ansa digiunale montata a Y secondo la tecnica di Roux. A prescindere dalla tecnica utilizzata, il primo tempo della ricostruzione biliare prevede la colecistectomia, qualora il donatore non si fosse sottoposto precedentemente a tale intervento chirurgico [90].

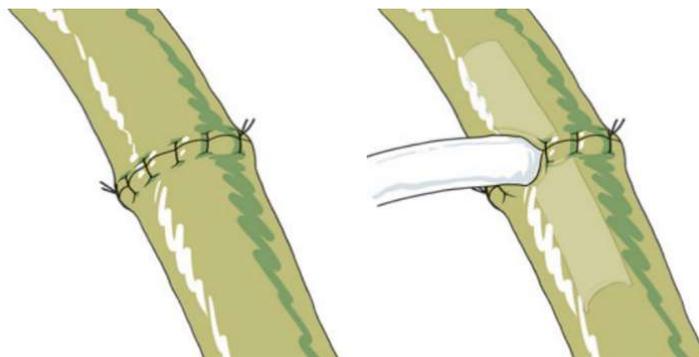


Figura 16:  
anastomosi biliare  
coledoco-coledocica  
con e senza Kehr

### **2.6.3 Decorso post-operatorio**

Il decorso post-operatorio si svolge inizialmente in terapia intensiva, dove solitamente il paziente resta intubato e ventilato meccanicamente il tempo strettamente necessario. Non appena le condizioni generali lo permettono si procede ad estubazione e ritorno in respiro spontaneo; il paziente riprende gradualmente a bere e mangiare, stimolando così una rapida ripresa della canalizzazione. Naturalmente questo avviene in condizioni ideali; infatti, alcune volte la ripresa non è così rapida e varia a seconda della risposta del paziente. La permanenza in terapia intensiva si protrae per un tempo variabile da alcuni giorni a poche settimane, essendoci molti fattori non prevedibili che ne influenzano la durata. Quando le condizioni generali lo consentono, il paziente viene trasferito nel reparto di degenza ordinaria; qui viene monitorato e controllato con esami ematochimici due volte al giorno per valutare la ripresa funzionale dell'organo trapiantato, che a volte può essere anche molto lenta. Durante il periodo di degenza il paziente viene anche sottoposto a controllo ecografico quotidiano del fegato per valutarne la vascolarizzazione; in particolare si valuta la presenza di flusso nell'arteria epatica, la velocità di flusso nella vena porta e la presenza delle sovraepatiche trifasiche. Da subito dopo l'intervento chirurgico deve anche essere impostata la terapia immunosoppressiva, per contrastare la fisiologica reazione di rigetto da parte del sistema immunitario del ricevente; si utilizzano farmaci che bloccano in maniera importante la risposta immunitaria, i quali devono essere dosati nel sangue periodicamente. Tale condizione di immunodepressione necessita di alcune precauzioni igieniche, quali la mascherina per il ricevente e dei camici sterili monouso coprivestiti per i visitatori, in modo da evitare il propagarsi di eventuali fonti infettive, che potrebbero essere molto dannose in un soggetto fortemente immunocompromesso. Il paziente, con l'aiuto di fisiatra e fisioterapista, viene mobilizzato quanto prima; inoltre, deve alimentarsi in maniera completa ed equilibrata, senza particolari restrizioni. Non appena gli esami ematochimici e le condizioni cliniche lo permettono, il soggetto trapiantato viene dimesso con una serie di raccomandazioni igienico-comportamentali da seguire. Queste precauzioni, associate ad una rigorosa attenzione alla terapia e alle regolari visite di controllo rappresentano la priorità assoluta nella vita del paziente, che ha il dovere di rispettare sia l'organo, ricevuto in dono gratuito, che il grande impegno di tutto il sistema trapiantologico nel consentirgli di ritornare alla vita e/o ad una vita normale [91].

## 2.7 TERAPIA IMMUNOSOPPRESSIVA

Lo scopo della terapia immunosoppressiva è quello di evitare che il sistema immunitario del ricevente danneggi o distrugga il graft. Dal momento che i farmaci ad oggi disponibili non sono specifici per gli alloantigeni del trapianto, i medici devono mantenere un equilibrio tra un livello di immunosoppressione troppo scarsa, che esporrebbe il paziente al rischio di rigetto, e un eccesso di immunosoppressione, con tutte le problematiche associate al rischio settico e neoplastico.

Per quanto riguarda il trapianto epatico, è stato osservato come nel lungo termine i riceventi possano sviluppare tolleranza nei confronti del graft, cosa che invece non succede mai in caso di trapianto di rene. A tal proposito, bisogna tener presente che le strategie immunosoppressive volte ad evitare il rigetto acuto potrebbero inibire lo sviluppo di tale tolleranza.

In generale, l'immunosoppressione può essere ottenuta con metodi fisici (trasfusioni di sangue, rimozione dei linfociti, plasmferesi etc.) oppure per mezzo di farmaci. Per quanto riguarda i primi, questi sono raramente utilizzati nel controllo immunitario post trapianto di fegato.

### 2.7.1 Principi di immunosoppressione

La gestione della terapia immunosoppressiva può essere distinta in cinque fasi principali:

- Induzione

Non c'è consenso riguardo il metodo ottimale di immunosoppressione. La Clinica di Chirurgia Epato-Bilio-Pancreatica e dei Trapianti, in accordo con la SOD Anestesia e Rianimazione dei Trapianti e Chirurgia Maggiore del presidio *Ospedali Riuniti di Ancona*, hanno stabilito il seguente schema di trattamento:

- 1 dose di Basiliximab (*Simulect*) ev al giorno 0 e una seconda dose in IV giornata;
- Steroidi ad alto dosaggio a partire dal giorno del trapianto e con progressivo décalage.

- Mantenimento

In molti centri si utilizza una combinazione di corticosteroidi, Azatioprina ed un inibitore della Calcineurina; in altri centri si attua una monoterapia con un inibitore della Calcineurina ma ci sono ancora pochi dati per poter definire il regime ottimale.

- Trattamento del rigetto acuto

La terapia di prima linea per il rigetto acuto precoce è la somministrazione di boli di corticosteroidi ad alte dosi. Le successive linee terapeutiche prevedono Timoglobuline e Immunoglobuline umane.

- Trattamento del rigetto cronico

In questo caso il trattamento prevede esclusivamente un incremento dell'immunosoppressione.

- Sospensione

È possibile, nel lungo termine, sospendere l'immunosoppressione in circa il 20% dei pazienti, a patto che siano attentamente selezionati. I pazienti candidabili alla sospensione delle terapie immunosoppressive sono:

- Pazienti trapiantati per un disordine di tipo autoimmune;
- Pazienti senza precedenti episodi di rigetto acuto;
- Pazienti con un buon match HLA.

### **2.7.2 Farmaci immunosoppressivi**

Le prime terapie antirigetto per il trapianto di fegato erano basate sull'utilizzo di Azatioprina, Corticosteroidi e Globuline anti-timociti, anche dette Timoglobuline. Tuttavia, i risultati ottenuti furono deludenti, con un'elevata incidenza di rigetti d'organo. Quando nel 1980 fu introdotta la Ciclosporina, si verificò una netta riduzione di questi ultimi, che passarono dal 15% al 2-5%.

- Ciclosporina e Tacrolimus (FK-506)

Sono stati introdotti nella pratica clinica all'inizio degli anni '90. Questi farmaci sono degli inibitori della Calcineurina, una *serin-treonin-fosfatasi* coinvolta nell'attivazione di vari fattori di trascrizione. Nei Linfociti T attivati, l'inibizione della Calcineurina provoca l'arresto della trascrizione di alcune citochine, tra le

quali IL-2, il cui compito è fondamentale nell'attivazione dei processi di risposta immunitaria. Il Tacrolimus è 10-100 volte più potente della Ciclosporina nell'inibire la risposta immunitaria. Le dosi dei farmaci da somministrare vengono stabilite ed eventualmente modificate sulla base delle loro concentrazioni ematiche, che vanno valutate ad intervalli di tempo regolari. Per quanto riguarda la farmacocinetica, entrambi i farmaci vengono metabolizzati a livello epatico dal sistema del citocromo P450-3A; è possibile, quindi, che si generino interazioni con altri farmaci che ne aumentano (Eritromicina, Fluconazolo, Verapamil, Cimetidina) o ne riducono (Fenobarbital, Fenitoina, Carbamazepina) le concentrazioni epatiche. Gli effetti collaterali di questi farmaci sono molteplici:

- *Nefrotossicità*, dovuta ad un danno dose-dipendente del tubulo renale;
- *Iperensione arteriosa*;
- *Intolleranza glucidica*;
- *Danni neurologici*, quali tremore e parestesie;
- *Iperplasia gengivale e irsutismo*, solo per la Ciclosporina.

- *Rapamicina*

È una molecola strutturalmente simile al Tacrolimus e presenta i medesimi bersagli, agendo però in una fase più tardiva dell'attivazione linfocitaria. Può determinare mielosoppressione, motivo per cui la sua azione va monitorata nel tempo, valutando la conta dei globuli bianchi. Inoltre, questo farmaco interferisce con il metabolismo lipidico, determinando comunemente la comparsa di un quadro dislipidemico.

- *Everolimus*

Questo farmaco agisce bloccando l'attività di *mTOR complex-1*; si ricorda che mTOR è una *serin-treonin-chinasi* che è implicata nella regolazione della crescita, della proliferazione e della sopravvivenza delle cellule. Viene somministrato per via orale ed è metabolizzato dal CYP-3A4, presente sia a livello epatico che intestinale; anche in questo caso possono verificarsi fenomeni di farmaco-induzione e/o di farmaco-inibizione. Questo farmaco ha una finestra terapeutica ristretta, per cui necessita di un attento e periodico monitoraggio delle concentrazioni ematiche. L'effetto anti-proliferativo proprio di questo farmaco è

utile per ridurre l'incidenza di vasculopatia, di infezioni da Citomegalovirus e di tumori nei soggetti trapiantati. Tra gli effetti collaterali e tossici più comuni abbiamo:

- *Ipercolesterolemia;*
- *Ipertrigliceridemia;*
- *Trombocitopenia transitoria.*

In genere l'Everolimus viene iniziato attorno alla XIV giornata post-LT.

- *Micofenolato Mofetile*

Questo farmaco agisce inibendo la proliferazione dei linfociti T attivati tramite l'inibizione del metabolismo purinico. I principali effetti collaterali si esplicano a livello gastrointestinale (diarrea).

- *Azatioprina*

È un derivato della Mercaptopurina e funziona come analogo strutturale ed antimetabolita. Poiché tale farmaco viene metabolizzato dall'enzima xantina-ossidasi, bersaglio molecolare dell'Allopurinolo (farmaco utilizzato nella gotta), la combinazione di tali farmaci può portare ad una importante tossicità da Azatioprina, che comporta l'insorgenza di una severa mielodepressione.

- *Immunoglobuline*

Ce ne sono di diverso tipo:

- *ALG, ossia Ig anti-linfociti;*
- *ATG, ossia Ig anti-timociti o Timoglobuline;*
- *OKT3, Basiliximab (Simulect), Daclizumab (Zenapax), ossia anticorpi monoclonali anti-recettore dell'IL-2.*

Questi farmaci sono utilizzati in vari centri con diversi scopi, quali l'induzione dell'immunosoppressione, il mantenimento dell'immunosoppressione in combinazione con altri farmaci e il trattamento dei rigetti acuti post-trapianto resistenti ai boli di steroidi. Il meccanismo d'azione di questi farmaci va ad interagire con i sistemi immunologici a vari livelli; essi determinano una riduzione del numero e delle dimensioni delle cellule linfoidi, inibiscono la produzione di PAF, leucotrieni e prostaglandine e la chemiotassi di monociti e neutrofili. Al

netto questi farmaci causano linfopenia e neutropenia, non per azione citotossica diretta, quanto per alterazione della diffusione di queste popolazioni cellulari.

- Glucocorticoidi

Sono la prima classe di agenti ormonali di cui è stata descritta l'azione linfocitolitica. Sono responsabili della comparsa di numerosi effetti collaterali, soprattutto se impiegati in una terapia a lungo termine; tra di essi ricordiamo intolleranza glucidica, ipertensione arteriosa, osteoporosi, riduzione della massa muscolare, aumento ponderale con obesità centrale, facies lunaris, strie rubre, psicosi, cataratta, glaucoma, fino all'insorgenza di una Sindrome di Cushing iatrogena [92].

## 2.8 COMPLICANZE

- Precoci

○ *PNF (Primary Non Function o mancata ripresa funzionale del fegato)*

È una evenienza poco frequente (10%) ma possibile. In alcuni casi il fegato trapiantato, nonostante le scrupolose valutazioni fatte sul donatore, non riprende a funzionare adeguatamente; si inizia a sospettare quando il paziente non recupera la sua autonomia e necessita di cure intensive prolungate e sostitutive delle funzioni che l'organo trapiantato dovrebbe svolgere. In questo caso sarà necessario reinserire il soggetto in lista d'attesa e reperire un altro organo per un re-trapianto in urgenza.

○ *Trombosi dell'arteria o delle vene del fegato*

Una delle fasi più delicate dell'intervento chirurgico di trapianto di fegato è il confezionamento delle anastomosi venose e arteriose tra le strutture del graft e del ricevente. Una delle principali criticità delle anastomosi è che si possono occludere, privando l'organo trapiantato dell'afflusso di sangue necessario al suo funzionamento; tale condizione, anche se infrequente (7-10%), non è compatibile con la sopravvivenza dell'organo, per cui si deve re-intervenire cercando di ricanalizzare le anastomosi occluse. L'intervento può essere eseguito per via radiologica o eventualmente chirurgica. Se questi interventi non riescono a ripristinare

un adeguato flusso sanguigno si rende necessario un re-trapianto in urgenza.

○ *Emorragie addominali e perforazioni intestinali*

Solitamente si verificano nell'immediato postoperatorio e necessitano entrambe di un ulteriore intervento chirurgico.

○ *Complicanze legate alla ricostruzione della via biliare: fistole e stenosi*

Il ripristino della continuità della via biliare può essere complicato da perdite (fistole) o restringimenti (stenosi) della stessa. Tali complicanze hanno una frequenza variabile, manifestandosi in circa il 4-60% dei pazienti. Possono essere facilmente corrette con procedure endoscopiche, mediante il posizionamento di endoprotesi, con tecniche di radiologia interventistica, mediante il posizionamento di drenaggi biliari percutanei, o con interventi chirurgici.

○ *Rigetto*

Il sistema immunitario, il cui ruolo fisiologico è difenderci dalle infezioni, aggredisce gli organi trapiantati come agenti *non-self* e cerca di distruggerli. Nonostante l'utilizzo precoce di farmaci che deprimono la funzione del sistema immunitario, più della metà dei pazienti presenta almeno un episodio di rigetto; questo viene solitamente diagnosticato sulla base degli esami del sangue e confermato con l'esecuzione di un'agobiopsia del fegato. Il rigetto può essere *acuto* o *cronico*. Quello acuto è il più frequente, può presentarsi più volte, e, solitamente, può essere trattato mediante l'aumento del dosaggio dei farmaci antirigetto. In alcuni casi possono rendersi necessarie terapie aggiuntive con steroidi o anticorpi monoclonali.

○ *Infezioni*

La necessità di somministrare farmaci che, per prevenire il rigetto, riducono le difese immunitarie, apre la porta a vari tipi di infezioni, alcune delle quali possono essere anche molto gravi e portare ad exitus del paziente; nonostante ciò, nella maggior parte dei casi sono ben note e curabili con i farmaci a disposizione.

- Tardive

A distanza di tempo dal trapianto possono presentarsi diverse problematiche che necessitano di cure specifiche e tempestive per una pronta guarigione. È importante ricordare e saper prontamente riconoscere le più frequenti, che saranno elencate di seguito.

○ *Infezioni*

Già evidenziate tra le complicanze precoci, possono manifestarsi anche a distanza dal trapianto, seppure con minor impatto sia in termini di gravità che di mortalità.

○ *Rigetto*

Si può presentare in forma acuta anche a distanza di decenni. Frequentemente è correlato ad una riduzione dell'aderenza alla terapia immunosoppressiva. Solitamente risulta essere più subdolo e meno evidente per quanto riguarda le manifestazioni cliniche, per cui il paziente non se ne accorge se non tardivamente nella sua evoluzione in rigetto cronico. Il rigetto cronico risponde poco ai farmaci antirigetto, e frequentemente porta al re-trapianto.

○ *Recidiva di malattia*

Quando il trapianto viene eseguito per epatite ad eziologia virale, poiché il virus rimane nell'organismo anche dopo il trapianto, è possibile che anche il fegato trapiantato venga infettato. Tale evenienza, rara in caso di HBV e quasi la regola in caso di HCV, può portare alla recidiva della malattia per cui è stato necessario eseguire il trapianto. La recidiva virale può essere trattata con terapie sempre più efficaci che garantiscono il controllo della reinfezione nella maggior parte dei pazienti.

Quando il trapianto viene eseguito per tumori del fegato, è possibile che si verifichi una recidiva sul fegato trapiantato o in altre sedi extraepatiche. Non sono molti gli strumenti a disposizione per ovviare a tale evenienza, ma la ricerca sta mettendo a punto trattamenti sempre più efficaci anche per questi casi.

- *Sviluppo di nuovi tumori*

La costante somministrazione di farmaci antirigetto espone tutti i pazienti, dopo qualunque trapianto, ad un aumentato rischio di sviluppo di tumori. Questo rischio cresce in maniera direttamente proporzionale ai mesi o agli anni trascorsi dal trapianto di fegato. L'EBV (Virus di Epstein-Barr), che spesso è già presente nell'organismo oppure vi può penetrare dopo il trapianto, in alcuni casi stimola la crescita di tumori del sistema linfatico. Altri tumori, il cui sviluppo è particolarmente favorito dai farmaci antirigetto, sono i tumori della pelle. Seppure i linfomi e i tumori cutanei rappresentino la maggior parte delle neoplasie che insorgono post-trapianto, anche tutte le altre neoplasie si presentano con una frequenza aumentata, per cui è fortemente consigliato limitare l'esposizione ai fattori di rischio conosciuti (esposizione non protetta ai raggi solari nelle ore più calde, fumo di sigaretta, etc.).

- *Altre complicanze*

Esistono molte altre complicanze, correlate in parte al grave stato di salute causato dalla malattia epatica ed in parte ai farmaci somministrati. Le più frequenti sono l'ipertensione arteriosa, l'insufficienza renale ed il diabete. Solitamente sono curabili con farmaci appositi o modificando la terapia antirigetto [93, 94].

## *CAPITOLO 3*

### **SCORES PROGNOSTICI DI SOPRAVVIVENZA POST-LT E** **FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA DI HCC**

#### **3.1 SCORES PROGNOSTICI DI SOPRAVVIVENZA POST TRAPIANTO**

##### **3.1.1 Score prognostici relativi alle caratteristiche del donatore**

- *Donor Risk Index (DRI)*

Questo score prognostico fu introdotto nel 2006 da Feng.

Prende in considerazione 7 parametri relativi al donatore, associati a malfunzionamento dell'organo; questi sono:

- Età;
- Etnia;
- Altezza del donatore;
- Causa di morte;
- Trapianto split/parziale;
- Prelievo regionale/nazionale;
- Tempo di ischemia fredda.

L'età superiore a 40 anni, la morte cardiaca e il trapianto split/parziale sono parametri fortemente associati al fallimento del graft. In particolare, un'età superiore a 60 anni è il fattore di rischio più importante per il fallimento dell'organo. Per quanto riguarda l'etnia, i donatori afroamericani hanno il 19% di rischio in più di fallimento dell'organo rispetto ai donatori caucasici. Il trapianto split/parziale è associato a un rischio di fallimento dell'organo aumentato di più del 50% rispetto a quello del trapianto intero o dopo morte cerebrale. Anche due fattori inerenti al trapianto, come il tempo di ischemia fredda e il prelievo fuori area, sono associati ad un aumentato rischio di perdita dell'organo.

Il DRI si è rivelato uno strumento utile per stratificare il rischio legato a ciascun organo e, di conseguenza, per guidare i chirurghi nella scelta di accettare o meno un organo ad alto rischio.

Il DRI ha tuttavia importanti limiti:

- Inclusione di parametri non prevedibili prima del trapianto (tempo di ischemia fredda);
- Concordanza statistica bassa (0,50 – 0,65);
- Esclusione di alcune variabili potenzialmente rilevanti, come la macrosteatosi all'esame istologico, donatore con DM in anamnesi, tempo di ischemia calda [95, 96].

### **3.1.2 Score prognostici relativi alle caratteristiche del ricevente**

- *Model for End-Stage Liver Disease (MELD)*

Per quanto riguarda la trattazione di questo score, fare riferimento a quanto detto nel paragrafo 2.5.

### **3.1.3 Score prognostici relativi alle caratteristiche del donatore e del ricevente**

- *SOFT score (The Survival Outcome Following Liver Transplantation)*

Lo score fu introdotto nel 2008 da Rana e predice la sopravvivenza a 3 mesi dopo trapianto di fegato. Questo score valuta 18 parametri (*figura 17*), di cui 13 riguardanti il ricevente, 4 il donatore e 1 il trapianto stesso. Dalle valutazioni emerge che, in pazienti con un SOFT >40, il trapianto è di dubbia utilità, in quanto la mortalità prevista post-trapianto è maggiore della mortalità in lista d'attesa, predetta dal MELD. Ciò è valido in tutti i casi, eccezion fatta per l'insufficienza epatica acuta, dove il MELD da solo non è uno score predittivo affidabile. Negli anni a venire, il SOFT è stato applicato anche a coorti di pazienti candidati al trapianto che versavano in condizioni molto scadenti e agli organi di dubbia qualità, e si è dimostrato comunque uno strumento valido. Il *P-SOFT score* differisce dal SOFT score in quanto utilizza solo 14 dei 18 parametri disponibili. Tuttavia, né il SOFT né il P-SOFT si sono rivelati strumenti particolarmente accurati nel predire l'outcome del paziente e dell'organo [97, 98, 99].

Risk factor	Points allotted
<b>Preallocation score to predict survival outcomes following liver transplantation (P-SOFT)</b>	
• Age > 60	4
• BMI > 35	2
• One previous transplant	9
• Two previous transplants	14
• Previous abdominal surgery	2
• Albumin < 2.0 g/dL	2
• Dialysis prior to transplantation	3
• Intensive care unit pretransplant	6
• Admitted to hospital pretransplant	3
• MELD score >30	4
• Life support pretransplant	9
• Encephalopathy	2
• Portal vein thrombosis	5
• Ascites pretransplant	3
<b>Score to predict survival outcomes following liver transplantation (SOFT)</b>	
• P-SOFT score	Total from above
• Portal bleed 48 h pretransplant	6
• Donor age 10–20 years	-2
• Donor age > 60 years	3
• Donor cause of death from cerebral vascular accident	2
• Donor creatinine > 1.5 mg/dL	2
• National allocation	2
• Cold ischemia time 0–6 h	-3

BMI = body mass index; MELD = model for end-stage liver disease.

*Figura 17: SOFT e P – SOFT*

- *D-MELD (Donor Model for End-stage Liver Disease)*

È uno score che deriva dal prodotto dell'età del donatore per il MELD pre-operatorio del ricevente, calcolato su parametri di laboratorio; infatti, nonostante numerosi altri fattori inerenti al donatore e al ricevente interagiscano nel determinare l'outcome post-trapianto, questi due elementi sembrano essere quelli più influenti. Il D-MELD è uno strumento facile da utilizzare e predittivo della sopravvivenza del paziente nel caso in cui gli venga allocato un determinato organo. L'applicazione del D-MELD nell'allocazione degli organi aiuta ad

eliminare molti matches donatore-ricevente (D/R) ad alta probabilità di prognosi negativa. Nello studio del 2009 che ha validato questo score si è fissato un cut-off di 1600 per il D-MELD, oltre il quale il match D/R ha una prognosi scadente a breve e a lungo termine; si è evidenziato che, mantenere il D-MELD sotto 1600 migliora l'outcome dei pazienti ad alto rischio con donatore di età >60 anni e di quelli con MELD preoperatorio >30 [100, 101].

- BAR (Balance of Risk Score)

È uno score predittivo di sopravvivenza a 3 mesi del paziente post-trapianto e valuta i seguenti parametri:

- MELD del ricevente (0-14 punti);
- Tempo di ischemia fredda (0-2 punti);
- Età del ricevente (0-3 punti);
- Età del donatore (0-1 punto);
- Precedente OLT (0-4) punti;
- Necessità di supporto vitale prima del trapianto (0-3 punti).

Al massimo possono essere totalizzati 27 punti. Il cut-off oltre il quale è sconsigliato quel determinato match D/R è fissato a 18. Questo score è nato con l'intento di identificare in maniera più precisa, rispetto al D-MELD, i fattori che hanno un impatto importante sulla sopravvivenza del paziente, evitando di essere immotivatamente troppo selettivi nella scelta del match D/R. Infatti, il cut-off di 1600 di D-MELD implica che molti donatori vengano esclusi solo perché troppo anziani, ma questo è del tutto irrealistico, soprattutto in Europa dove l'età media dei donatori è molto più alta di quella americana (53 vs 48 anni).

Varie analisi retrospettive hanno contribuito alla validazione di tale score, non solo nella sopravvivenza a 3 mesi ma anche a lungo termine. Studi successivi hanno integrato il BAR con altri parametri, quali la steatosi. La macrosteatosi di basso grado ( $\leq 30\%$ ) determina una sopravvivenza a 5 anni del graft  $>60\%$  fino a un BAR di 18, paragonabile a quella di organi non steatosici; invece, un graft con macrosteatosi severa ( $>30\%$ ) determina un outcome soddisfacente solo se il BAR è  $<9$  [102-105].

## 3.2 FATTORI PREDITTIVI DI RECIDIVA HCC DOPO LT

### 3.2.1 Fattori legati al donatore

Nel corso degli anni, diversi studi hanno evidenziato associazioni tra donatori di età superiore ai 60 anni e la recidiva di HCC, così come il tempo di ischemia fredda, il danno da ischemia-riperfusion e un grado borderline di steatosi. Altri studi dimostrano come tempi prolungati di ischemia fredda e/o calda del graft siano fattori di rischio indipendenti sia per la recidiva globale di HCC che per la recidiva precoce (entro 1 anno); ciò è a supporto dell'ipotesi che il danno da ischemia-riperfusion sul graft acceleri la crescita e l'impianto di micrometastasi di HCC, già presenti al momento del LT [106-111].

### 3.2.2 Fattori legati al ricevente e alle caratteristiche del tumore pre-trapianto

Le caratteristiche del tumore sono i fattori più importanti nel predire il rischio di recidiva dopo LT. Si è visto come dimensioni e numero dei noduli tumorali, rilevati dall'imaging pre-operatorio, correli piuttosto bene con la recidiva [112, 113]. Inoltre, ci sono altri elementi da tenere in considerazione, tra cui *α-fetoproteina (AFP)*, *des-γ-carbossiprotrombina (DCP)*, *neutrophile-to-lymphocyte ratio (NLR)*.

- *α-feto-proteina (AFP)*

È una glicoproteina fetale specifica, la cui importanza nella diagnosi dell'HCC è ben comprovata [114]; inoltre maggiori evidenze suggeriscono che essa abbia un ruolo anche nel predire l'outcome dopo il trapianto. Poiché numerosi studi hanno evidenziato una correlazione tra i valori sierici di AFP pre-LT e la sopravvivenza globale post-LT nei pazienti con HCC, l'AFP è considerata un predittore indipendente della sopravvivenza dopo LT [115]. Pazienti con HCC sottoposti a trapianto, con livelli sierici di AFP  $\leq 15$  ng/ml al momento del trapianto, non avevano un aumento della mortalità post-LT rispetto ai pazienti trapiantati senza HCC; pazienti con livelli sierici di AFP compresi tra 16 e 65 ng/ml, tra 65 e 320 ng/ml e  $\geq 320$  ng/ml, avevano tassi di mortalità post-trapianto progressivamente maggiori rispetto ai pazienti senza HCC [116]. Gli stessi autori hanno anche riportato che i pazienti al di fuori dei Milano Criteria avevano un outcome eccellente se i valori di AFP erano inferiori a 15 ng/ml, mentre quelli che soddisfacevano i criteri di Milano ma con alti livelli sierici di AFP avevano tassi

di sopravvivenza bassi. Successivamente, sono stati identificati 2 ulteriori predittori di recidiva indipendenti pre-LT, ossia il numero dei noduli tumorali e la dimensione del tumore. Questi parametri sono stati integrati con i valori di AFP per sviluppare un modello di stratificazione del rischio di recidiva; tale modello ha dimostrato di avere un impatto sulla recidiva e sulla sopravvivenza [114]. Quest'ultimo viene attualmente utilizzato in Francia e nel Regno Unito e recentemente è stato introdotto anche in Spagna e in Italia. Occorre ricordare che una singola valutazione dei livelli sierici di AFP non è capace di esprimere i cambiamenti dinamici correlati alle caratteristiche biologiche del tumore; poiché l'aggressività del tumore mostra una tendenza alla progressione, sono necessarie almeno due misurazioni dilazionate nel tempo per stabilire se l'andamento biologico della neoplasia è stabile o in progressione. Inoltre, è stato dimostrato che anche un decremento dei valori di AFP sembra avere un significato clinico. Dunque, alla fine, è stato dimostrato che sia l'incremento che il decremento dei livelli di AFP sono rilevanti ai fini della valutazione del comportamento oncologico dell'HCC e dell'identificazione dei tumori che tendono ad avere una progressione o una regressione [117].

- *Des- $\gamma$ -carbossiprotrombina (DCP)*

È conosciuta anche come proteina indotta dall'assenza di vitamina K o antagonista II (PIVKA-II); è stata descritta più di 20 anni dopo la descrizione dell'AFP. Attualmente è stato confermato il ruolo cruciale del dosaggio della DCP per la diagnosi di HCC, anche in stadio molto precoce [118]. Inoltre, DCP è anche in grado di predire la recidiva dopo la resezione chirurgica di un HCC di piccole dimensioni [119]. Alcuni studi inoltre hanno confermato che la DCP ha un significato predittivo anche riguardo il risultato del trapianto e che è un forte marcatore sierico predittivo [120].

- *Marcatori infiammatori sistemici*

L'infiammazione sistemica dell'ospite è un altro fattore predittivo molto importante, che è stato valutato come parametro per stimare l'aggressività del tumore.

Macrofagi, citochine e chemochine pro-infiammatorie, prodotte dal microambiente tumorale, sembrano essere fattori responsabili della progressione neoplastica; un background pro-infiammatorio, infatti:

- Permette la metastatizzazione;
- Inibisce l'apoptosi;
- Facilita l'angiogenesi;
- Permette un ulteriore danneggiamento del genoma.

Alti livelli di neutrofili sono in grado di aumentare la propensione all'invasione vascolare e alla metastatizzazione aumentando la produzione di VEGF; al contrario un basso livello di linfociti sembra essere responsabile di una compromessa immunosorveglianza contro lo sviluppo e la progressione della malattia [121].

- *Istologia: la biopsia epatica pre-trapianto*

L'invasione microvascolare è un assodato fattore prognostico indipendente di recidiva di HCC dopo il LT. Molteplici autori hanno evidenziato una forte correlazione tra l'invasione microvascolare e il grado istologico dell'HCC; inoltre, un alto grado istologico del tumore è un predittore indipendente di invasione microvascolare [122]. In uno studio sono stati reclutati 294 pazienti con HCC, seguiti per 8 anni; lo scopo di questo studio era sviluppare un adeguato protocollo di selezione per il LT. I risultati sono molto interessanti, poiché è stato osservato un graduale discostamento dai MC, per andare verso un sistema basato sulla biopsia; inoltre è stato dimostrato che l'esclusione dei tumori scarsamente differenziati, indipendentemente dalle caratteristiche macro-morfologiche (su cui si basano i Criteri di Milano), permetteva di raggiungere tassi di sopravvivenza eccellenti. Biopsie multiple con agoaspirato (*fine needle aspiration biopsies – FNABs*) non sono tuttavia raccomandate per i tassi di complicanze che variano dallo 0,75 al 13,6%; in particolare sono stati descritti casi di sanguinamento in 1/500 biopsie e, in molti casi, è stato necessario il ricovero urgente ed il ricorso a trasfusioni di sangue [123].

La biopsia sotto guida ecografica (*core needle biopsy, CNB*) permette di esaminare direttamente l'area che deve essere campionata; essa si è dimostrata essere una procedura sicura e uno strumento estremamente promettente in ambito

trapiantologico. Tramite questa metodica possono essere ottenuti campioni di tessuto con elevata accuratezza diagnostica. Anche se attualmente le linee guida non includono la biopsia epatica nella diagnosi dell'HCC tipico, poiché vi è la tendenza a caratterizzare le lesioni neoplastiche in relazione alle loro caratteristiche molecolari, essa presumibilmente giocherà un ruolo chiave nel prossimo futuro [124, 125].

- Risposta alla terapia loco-regionale

È stato un aspetto attentamente studiato negli ultimi 10-15 anni nei pazienti candidati a LT con HCC. Nonostante la scarsità di trial clinici randomizzati riguardanti il downstaging e le terapie ponte (*bridging*), la maggior parte dei centri mondiali adotta trattamenti loco-regionali (LRT) prima o dopo l'inserimento del paziente in lista d'attesa. Le varie tecniche, già ampiamente trattate in precedenza, hanno lo scopo di ridurre il tasso di esclusione mentre il paziente è in lista d'attesa e/o il tasso di recida dopo LT. Sebbene le strategie di downstaging siano mirate alla riduzione della massa tumorale fin quando il paziente rientra nei MC, è largamente accettato che una risposta prolungata alle terapie di downstaging può essere essa stessa considerata un criterio di selezione, che rispecchia il comportamento biologico del tumore e predice un basso rischio di recidiva dopo LT. Per quanto riguarda il downstaging, alcuni studi hanno dimostrato che l'outcome dei pazienti con HCC sottoposti a retro stadiazione era simile a quello dei pazienti che soddisfacevano in prima istanza i MC [126, 127]. Questi risultati forniscono un'ulteriore evidenza che la non-responsività dell'HCC potrebbe nascondere una biologia aggressiva, mentre la presenza di una risposta radiologica a LRT<sub>s</sub> potrebbe rispecchiare un comportamento meno aggressivo. Allo stesso tempo, viene enfatizzata l'importanza della risposta alla terapia come un indice dell'aggressività biologica del tumore e la necessità di sviluppare delle linee guida standardizzate per valutarla. Numerosi studi suggeriscono l'utilizzo dei criteri mRECIST, che rappresentano la versione modificata dei criteri RECIST per la valutazione della risposta alla terapia nei tumori solidi [128]. Rispetto ai criteri convenzionali, quelli modificati includono una valutazione oncologica della sopravvivenza del tumore e si focalizzano sulla riduzione del volume tumorale vitale, definito da aree più intense all'imaging; inoltre criteri standardizzati

potrebbero aiutare a migliorare l'omogeneità nella valutazione della risposta alla terapia. Ci sono ancora, tuttavia, delle limitazioni che riguardano l'affidabilità e la riproducibilità dei criteri mRECIST. Poiché la valutazione del tumore è soggettiva, l'accuratezza di questi criteri dipende sia dall'abilità del tecnico di radiologia sia dalla qualità dell'immagine. Inoltre, i suoi criteri sono applicabili soltanto ad HCC con determinate caratteristiche comunemente presenti; in caso di aspetti radiologici atipici, presenti soprattutto nelle forme infiltranti, può verificarsi un'alterazione dell'enhancement, conducendo ad errori di interpretazione. Un potenziale inconveniente delle terapie ponte e di downstaging è la de-differenziazione del tumore [129, 130].

### 3.2.3 Fattori evidenziabili post trapianto

- Caratteristiche del tumore all'istologia del fegato nativo

Molti studi hanno analizzato gli effetti delle caratteristiche tumorali evidenziate dopo l'espanto del fegato per quanto riguarda la recidiva tumorale; questi elementi però non possono essere utilizzati come fattore dirimente la scelta pre-LT. I fattori più rilevanti sono l'invasione macro- e micro-vascolare, le lesioni satellite e la differenziazione tumorale. Una meta-analisi mostra come fattori quali invasione vascolare, scarsa differenziazione tumorale, dimensioni >5cm e Milano-out sono collegati a recidiva neoplastica [131].

- Terapia antivirale e terapia immunomodulante

La presenza di nuovi farmaci ad azione antivirale diretta, di seconda generazione (DAAs), ha messo a disposizione trattamenti sicuri per pazienti con HCV. Questo ha consentito di modificare l'approccio ai pazienti con epatite C sia prima che dopo il trapianto. In mancanza di terapie di questo tipo, infatti, l'infezione virale del graft era quasi certa ed era associata anche ad una ridotta sopravvivenza [132].

## ***CAPITOLO 4***

### **STUDIO CLINICO**

#### **4.1 OBIETTIVI DELLO STUDIO**

Nel recente passato è stato evidenziato come, in ambito pre-operatorio, *lo stato immunologico e lo stato nutrizionale* siano determinanti fondamentali dell'outcome chirurgico [133, 134].

Il *CO.NUT. score – Controlling Nutritional Status* è un nuovo score, calcolato a partire da dati di laboratorio, che correla con entrambi questi aspetti [133, 134, 140].

Viene calcolato sulla base dei livelli albumina sierica, di colesterolo totale e sulla conta dei linfociti totali su prelievo di sangue venoso periferico. Come si apprende dalla *tabella 8*, a ciascun valore dei tre parametri presi in considerazione viene assegnato un punteggio; la somma dei tre punteggi ottenuti determina il valore del CO.NUT. score, che viene quindi a sua volta diviso in 4 classi di gravità [140].

È stato dimostrato che il CO.NUT. score è un marker prognostico in pazienti *trattati chirurgicamente* per cancro del colon-retto, dell'esofago, del polmone, dello stomaco, per carcinoma epatocellulare (HCC), ed epatopatie croniche terminali. Non è stata ancora investigata la validità del CO.NUT. score in pazienti *sottoposti a trapianto ortotopico di fegato* per HCC [133, 134, 135, 136, 137, 138, 139].

<b>Parameter</b>	<b>Degree Of Malnutrition</b>			
	<b>Normal</b>	<b>Light</b>	<b>Moderate</b>	<b>Severe</b>
Serum albumin (mg/dL)	> 35	30–34.9	25–29	< 25
Albumin score	0	2	4	6
Total Lymphocyte (/mL)	>1600	1200–1599	800–1199	< 800
Lymphocyte Score	0	1	2	3
Total Cholesterol (mg/dL)	> 180	140–180	100–139	< 100
Cholesterol Score	0	1	2	3
Total Score	0-1	2-4	5-8	9-12

*Tabella 8 – calcolo del CO.NUT. score*

Il fine di questo studio è condurre un'analisi retrospettiva per indagare il ruolo del CO.NUT. score come parametro prognostico di sopravvivenza e predittivo di recidiva dopo OLT, comparandolo con markers nutrizionali già noti, quali il *prognostic nutrition index (PNI-O)* e con markers immunologici, come il *neutrophil to lymphocyte ratio (NLR)*, *platelet to lymphocyte ratio (PLR)* e la *proteina C reattiva*.

Le caratteristiche di questo setting clinico, che includono l'alta prevalenza di malnutrizione e sarcopenia nei pazienti con epatopatie croniche terminali, l'uso di terapie immunosoppressive, gli effetti metabolici del trapianto, il rischio di emotrasfusioni LT-correlate e l'alta invasività chirurgica rendono lo studio pertinente.

#### **4.2 MATERIALI E METODI**

Questo studio retrospettivo è basato su una coorte monocentrica di 237 pazienti con diagnosi di HCC, sottoposti a trapianto ortotopico di fegato (OLT) nel reparto di *Chirurgia Epatobiliare, Pancreatica e dei Trapianti degli Ospedali Riuniti di Ancona* nel periodo tra il 6 agosto 2005 e il 3 maggio 2022.

I dati clinici e demografici dei pazienti, i parametri intraoperatori e gli outcome postoperatori sono stati raccolti dal locale database elettronico o consultando direttamente le cartelle cliniche.

I dati demografici e clinici dei donatori sono stati raccolti dal database elettronico del NIT-P.

La diagnosi di cirrosi epatica è stata posta in base a criteri clinici e radiologici, mentre la gravità della patologia è stata classificata tramite gli score di MELD, Child-Pugh e attraverso i segni clinici di ipertensione portale.

È stato indagato lo status virologico per eventuali coinfezioni da HBV, HCV, HIV.

L'epatocarcinoma è stato diagnosticato attraverso l'imaging preoperatorio (TC, RM), valutando i livelli sierici di  $\alpha$ -fetoproteina o tramite biopsia quando necessaria. L'indicazione al trapianto di fegato è stata limitata ai criteri di Milano e/o UCSF, in accordo ai reperti radiologici preoperatori. Il numero, il diametro massimo e il diametro totale delle lesioni, la presenza di invasione microvascolare, il grado di necrosi e il grado di differenziazione considerate nell'analisi sono state desunte dall'esame istologico definitivo del fegato espantato/nativo.

Oltre al CO.NUT. score, è stato calcolato anche il PNI-O attraverso la seguente formula  $[10 \times \text{albumina sierica (g/dL)} + 0.005 \times \text{linfociti totali (n/mm}^2\text{)}]$ .

Per il calcolo del CO.NUT., MELD, PNI-O, PLR, NLR sono stati usati esami di laboratorio al momento del ricovero per OLT.

Il management postoperatorio per la sorveglianza clinica e la gestione delle complicanze si è basato su test di laboratorio quotidiani che includono emocromo, test di funzionalità epatica e renale per i primi 10 giorni postoperatori e successivamente al bisogno, seguendo il decorso clinico.

Il controllo della flussimetria epatica con ecocolordoppler (ECD) è stato eseguito quotidianamente per i primi 7 giorni postoperatori e successivamente quando clinicamente necessario.

Esami di secondo livello quali TC, angiografie, colangiografie, biopsie epatiche sono state eseguite nei casi clinicamente sospetti per complicanze.

Dopo la dimissione ospedaliera tutti i pazienti sono stati seguiti clinicamente per monitorare eventuali recidive con controlli mensili dei livelli di  $\alpha$ -fetoproteina e tramite TC e/o RM ogni 3/6 mesi.

In ogni caso, la recidiva HCC è stata diagnosticata tramite TC o RM, in accordo con le linee guida europee.

La sopravvivenza è stata definita come il tempo (*mesi*) intercorso tra il trapianto e la morte del soggetto o l'ultima osservazione registrata.

### **4.3 ANALISI STATISTICA**

Le variabili categoriche e di frequenza sono state espresse in percentuale; le variabili continue, invece, tramite mediana, alla quale è stato associato l'intervallo interquartile.

La sopravvivenza è stata definita, secondo il metodo di *Kaplan-Meier*, come i mesi trascorsi tra il trapianto di fegato e la morte o l'ultima osservazione.

Lo studio delle variabili prognostiche associate con la sopravvivenza è stato effettuato mediante analisi di regressione univariata di Cox; le variabili con un *p-value*  $<0.05$ , studiate durante l'analisi univariata, sono state incluse nell'analisi di regressione multivariata di Cox per confermare la loro significatività statistica.

Lo stesso tipo di studio è stata effettuato anche per stabilire quali variabili cliniche fossero associate con la recidiva di HCC. In questo caso lo studio è risultato più complesso, dovendo fare in prima istanza un'analisi dei rischi competitivi, in modo tale da escludere dall'indagine i pazienti morti nei primi giorni post-OLT; infatti, il precoce decesso di questi pazienti preclude la possibilità di recidiva HCC. Anche in questo contesto è stata effettuata l'analisi di regressione multivariata a partire dalle variabili statisticamente significative all'analisi univariata.

#### 4.4 RISULTATI

I dati demografici e clinici dei pazienti, le caratteristiche cliniche e istopatologiche dell'epatocarcinoma, i dettagli chirurgici e le caratteristiche del donatore e del graft sono state sintetizzate nella *tabella 9*.

L'età media dei pazienti è risultata essere di 58 anni (53-63), il MELD medio di 12 (9-16), e il BMI di 24,98 (22,86-27,85). Nei mesi precedenti al trapianto il 14,77% dei pazienti è stato sottoposto a resezione epatica.

All'esame istopatologico del fegato nativo, inviato al dipartimento di Anatomia Patologica durante il trapianto, il numero medio di noduli di HCC è stato 2 (1-3), con una distribuzione bilobare nel 32,91% di casi e un diametro tumorale massimo di 2,2 cm (1,5-3).

***Il CO.NUT. score medio nel periodo pre-operatorio era di 5 (3-7).***

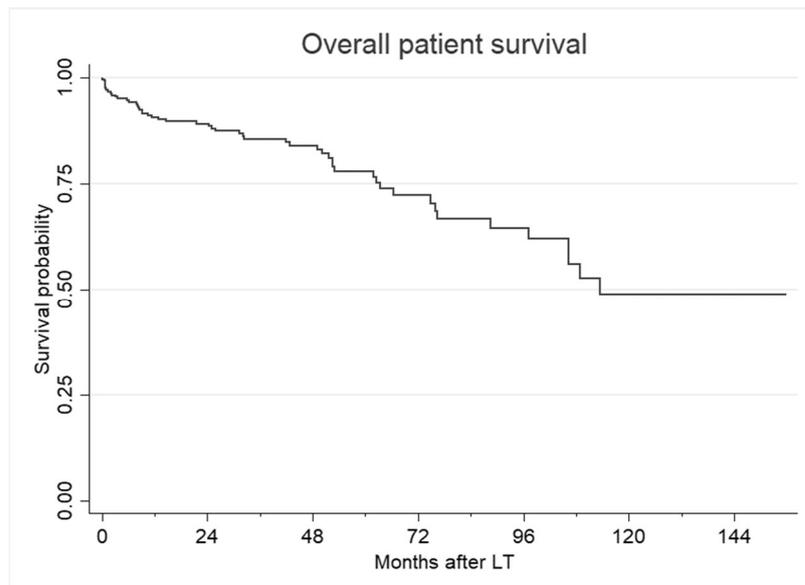
Come indicato nel *grafico 2*, in accordo con la *CO.NUT. severity scale*, l'11,4% dei pazienti risultava normale, il 33,9% soffriva di lieve malnutrizione, il 45,7% di moderata malnutrizione e il 9% di severa malnutrizione.



*Grafico 1: stato nutrizionale del campione in analisi nel periodo pre-operatorio*

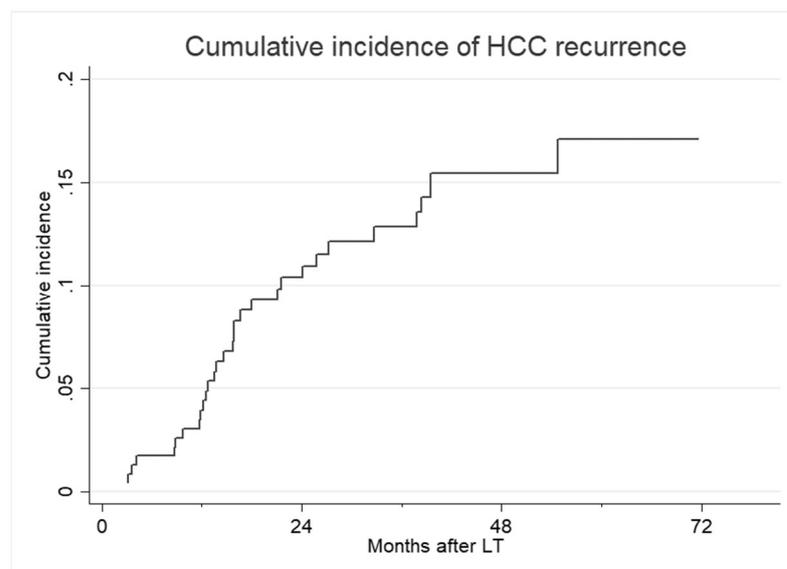
L’NLR e il PLR medi nel pre-operatorio erano rispettivamente 2,77 (1,86-4,16) e 72 (53,19-101,30).

Come successivamente illustrato nella *figura 18*, la sopravvivenza globale a 1, 3 e 5 anni (12, 36 e 60 mesi post-OLT) corrisponde rispettivamente a 90,6%, 85,5% e 77,8%.



*Figura 18: sopravvivenza globale post OLT per HCC*

Come successivamente illustrato nella *figura 19*, la recidiva di HCC a 1, 3 e 5 anni (12, 36 e 60 mesi post-OLT) corrisponde rispettivamente a 3,9%, 12,8% e 15,4%.



*Figura 19: recidiva di HCC*

Tabella 9: dati demografici e clinici, caratteristiche del graft e dettagli chirurgici

<b>Sesso (M:F)</b>	212:25
<b>Età (anni)</b>	58 [53-63]
<b>BMI</b>	24,98 [22,86-27,85]
<b>Diabete pre-OLT</b>	62 (26,16%)
<b>HIV+</b>	12 (5,06%)
<b>HCV+</b>	128 (54,01%)
<b>HCV-RNA+</b>	88 (37,13%)
<b>HBV+</b>	46 (19,41%)
<b>Abuso di alcol</b>	71 (29,96%)
<b>MELD score</b>	12 [9-16]
<b>CTP score</b>	
- A	103 (43,46%)
- B	89 (37,55%)
- C	45 (18,99%)
<b>Albumina plasmatica pre-OLT (g/dL)</b>	3,4 [3,1-3,9]
<b>Colesterolo totale sierico (mg/dL)</b>	125 [97-157]
<b>Linfociti pre-OLT (cellule/uL)</b>	0,96 [0,65-1,43]
<b>Neutrofili pre-OLT (cellule/uL)</b>	2,88 [2,13-3,75]
<b>Piastrine pre-OLT (cellule/UI)</b>	74 [49-105]
<b>CO.NUT. pre-OLT</b>	5 [3-7]
<b>NLR pre-OLT</b>	2,77 [1,86-4,16]
<b>PLR pre-OLT</b>	72 [53,19-101,30]
<b>Proteina C reattiva pre-OLT (mg/L)</b>	0,7 [0,3-1,4]
<b>Alfa-fetoproteina (ng/L)</b>	8,6 [4,2-34]
<b>Resezione epatica per HCC pre-OLT</b>	35 (14,77%)
<b>Età del donatore (anni)</b>	65,91 [53-75,45]
<b>BMI del donatore</b>	25,95 [23,99-28,10]
<b>Tempo di ischemia totale (minuti)</b>	426 [378-495]
<b>Trasfusione di sangue (UI)</b>	4 [1-8]

<b>Trasfusione di plasma fresco congelato (mL)</b>	4 [0-8]
<b>Numero di noduli tumorali</b>	2 [1-3]
<b>Diametro tumorale massimo (cm)</b>	2,2 [1,5-3]
<b>Diametro tumorale totale (cm)</b>	3,9 [2,2-5,7]
<b>Tumore a distribuzione bilobare</b>	78 (32,91%)
<b>Grading</b>	
- <b>G1</b>	54 (25,59%)
- <b>G2</b>	125 (59,24%)
- <b>G3</b>	32 (15,17%)
<b>Necrosi</b>	
- <b>0%</b>	1 (0,42%)
- <b>&lt;50%</b>	133 (56,12%)
- <b>50% - 99%</b>	79 (33,33%)
- <b>Completa</b>	24 (10,13%)
<b>Invasione microvascolare</b>	33 (13,92%)
<b>Invasione microvascolare</b>	7 (2,95%)

Studiando i fattori prognostici di sopravvivenza, all'analisi univariata sono risultate statisticamente significative le seguenti variabili:

- BMI (HR=0.990, p=0.014);
- HIV (HR=5.064, p<0.001);
- NLR pre-OLT (HR=1.128, p<0.001);
- Trasfusioni di sangue (HR=1.083, p<0.001);
- Recidiva HCC (HR=4.274, p<0.001).

Da questi valori si evince come la positività al virus dell'HIV, l'NLR pre-OLT, le trasfusioni di sangue (indice di sanguinamento intraoperatorio) e la recidiva HCC siano fattori prognostici negativi di sopravvivenza.

Al contrario, il BMI mostra un potere predittivo positivo statisticamente significativo.

**Il CO.NUT. score pre-OLT, invece, non ha alcun significato prognostico.**

All'analisi multivariata, la positività al virus dell'HIV, l'NLR pre-OLT, le trasfusioni di sangue e la recidiva HCC hanno mantenuto la loro significatività statistica.

Quanto appena detto è riassunto nella *tabella 10*.

Tabella 10: analisi univariata e multivariata secondo COX dei fattori prognostici di sopravvivenza

	ANALISI UNIVARIATA			ANALISI MULTIVARIATA		
	HR	95% Confidence Interval	p-value	HR	95% Confidence Interval	p-value
<b>Sesso</b>						
- Femmina	1	.384-2.441	0.946			
- Maschio	.748					
<b>Età</b>	.990	.952-1.030	0.632			
<b>BMI</b>	.902	.832-.979	0.014			
<b>Diabete pre-OLT</b>	.798	.399-1.595	0.524			
<b>HIV+</b>	5.064	2.357-10.875	<0.001	5.493	2.509-12.025	<0.001
<b>HCV+</b>	1.682	.949-2.981	0.075			
<b>HCV-RNA+</b>	1.379	.799-2.381	0.249			
<b>HBV+</b>	.768	.390-1.511	0.444			
<b>Abuso di alcol</b>	1.159	.643-2.090	0.624			
<b>MELD score</b>	1.029	.992-1.068	0.119			
<b>CTP score</b>	1.479	1.015-2.155	0.042			
<b>CO.NUT. pre-OLT</b>	1.105	.989-1.234	0.079			
<b>NLR pre-OLT</b>	1.128	1.050-1.212	0.001	1.159	1.079-1.246	<0.001
<b>PLR pre-OLT</b>	1.005	1.000-1.009	0.029			
<b>Proteina C reattiva pre-OLT</b>	1.054	.897-1.239	0.522			
<b>Alfa-fetoproteina pre-OLT</b>	1.000	.999-1.001	0.396			
<b>Resezione epatica per HCC pre-OLT</b>	1.070	.479-2.392	0.869			
<b>Età del donatore</b>	1.002	.986-1.019	0.763			
<b>BMI del donatore</b>	.990	.922-1.063	0.782			
<b>Tempo di ischemia totale</b>	1.001	.998-1.003	0.544			
<b>Trasfusione di sangue</b>	1.083	1.049-1.117	<0.001	1.002	1.001-1.003	0.003
<b>Trasfusione di plasma fresco congelato</b>	1.003	.996-1.009	0.390			
<b>Recidiva HCC</b>	4.274	2.395-7.626	<0.001	4.445	2.432-8.126	<0.001

La recidiva di HCC è stata osservata nel 12,25% dei pazienti sottoposti a trapianto di fegato, dopo un tempo medio di 20,4 mesi.

Come mostrato nella *tabella 11*, all'analisi univariata, il numero di noduli tumorali (HR=1.148, p=0.015), il diametro tumorale massimo (HR=1.607, p<0.001), il grading (HR=2.060, p=0.011) e l'invasione micro- e macrovascolare (HR=5.694, p<0.001; HR=4.009, p=0.030) sono risultati essere fattori predittivi negativi per recidiva tumorale; invece, il CTP score (HR=0.468, p=0.010) è risultato essere un fattore predittivo positivo.

Tutte le variabili statisticamente significative all'analisi univariata hanno mantenuto la loro significatività statistica anche all'analisi multivariata.

**Anche questa volta, il CO.NUT. score non ha mostrato alcuna correlazione con la recidiva di HCC post-OLT.**

Tabella 11: analisi univariata secondo COX dei fattori predittivi di recidiva.

	ANALISI UNIVARIATA			ANALISI MULTIVARIATA		
	HR	95% Confidence Interval	p-value	HR	95% Confidence Interval	p-value
<b>Sesso</b>						
- Femmina	1	.660-4.346	0.272			
- Maschio	1.694					
<b>Età</b>	.969	.918-1.024	0.270			
<b>BMI</b>	.918	.815-1.033	0.156			
<b>Diabete pre-OLT</b>	.748	.306-1.828	0.524			
<b>HIV+</b>	1.248	.288-5.402	0.767			
<b>HCV+</b>	1.656	.778-3.525	0.190			
<b>HCV-RNA+</b>	1.827	.885-3.773	0.103			
<b>HBV+</b>	1.659	.769-3.581	0.197			
<b>Abuso di alcol</b>	.573	.237-1.391	0.219			
<b>MELD score</b>	.884	.772-1.013	0.075			
<b>CTP score</b>	.468	.263-.833	0.010			
<b>Resezione epatica per HCC pre-OLT</b>	2.145	.982-4.685	0.055			
<b>CO.NUT. pre-OLT</b>	.895	.777-1.031	0.124			
<b>NLR pre-OLT</b>	.965	.837-1.112	0.626			
<b>PLR pre-OLT</b>	1.005	.999-1.011	0.058			
<b>Proteina C reattiva pre-OLT</b>	.932	.613-1.416	0.741			
<b>Tempo in lista d'attesa</b>	1.002	.999-1.003	0.108			
<b>Alfa-fetoproteina pre-OLT</b>	1.000	.999-1.001	0.288			
<b>Resezione epatica per HCC pre-OLT</b>	2.145	.982-4.685	0.055			
<b>Età del donatore</b>	.998	.975-1.022	0.892			
<b>BMI del donatore</b>	.953	.869-1.045	0.311			
<b>Tempo di ischemia totale</b>	1.003	.999-1.006	0.107			
<b>Trasfusione di sangue</b>	1.000	.999-1.001	0.690			
<b>Trasfusione di plasma fresco congelato</b>	.971	.919-1.026	0.303			
<b>Numero di noduli tumorali</b>	1.148	1.027-1.281	0.015	1.132	1.009-2.927	0.013
<b>Diametro tumorale massimo</b>	1.607	1.342-1.924	<0.001	1.601	1.279-2.005	<0.001
<b>Tumore a distribuzione bilobare</b>	1.160	.556-2.418	0.691			
<b>Grading</b>	2.060	1.178-3.603	0.011	2.029	1.077-3.101	0.049

<i>Invasione microvascolare</i>	5.694	2.766-11.723	<0.001	3.820	1.848-7.896	<0.001
<i>Invasione macrovascolare</i>	4.009	1.139-14.102	0.030	3.999	1.098-13.762	0.011

#### 4.5 DISCUSSIONE

Come già dimostrato da numerosi studi passati, l'infiammazione cronica e la malnutrizione sono strettamente e intrinsecamente correlate con le varie epatopatie croniche [133].

La patogenesi della *malnutrizione* correlata alla patologia epatica è multifattoriale; i principali determinanti sono:

- Deficit di zinco e magnesio che, se duraturi, concorrono allo sviluppo di anoressia;
- Gastro-enteropatia da ipertensione portale, che porta a malassorbimento;
- Stato ipercatabolico persistente;
- Disfunzione del sistema ormonale correlato all'assorbimento dei nutrienti.

Invece, lo *stato infiammatorio* conseguente all'epatopatia deriva da:

- Eventuale presenza di virus epatotropi in stato replicativo;
- Traslocazione batterica dovuta alla gastro-enteropatia da ipertensione portale;
- Sanguinamento di varici [141, 142].

A dimostrazione di quanto appena detto, nei pazienti epatopatici in stadio terminale sono abitualmente rilevati alti livelli ematici di citochine pro-infiammatorie, come TNF- $\alpha$ , IL-6, leptina e miostatina [143].

Precedentemente a questo studio, il CO.NUT. score era stato già validato come fattore prognostico di sopravvivenza e di recidiva tumorale in diversi ambiti oncologici, compreso l'HCC dopo resezione epatica [133, 134]. In particolare, facendo riferimento all'epatocarcinoma, uno studio multicentrico con una coorte di 2461 pazienti ha osservato come un CO.NUT. score pre-operatorio  $\geq 4$ , unito ad altre variabili (CTP score B vs. A, cirrosi epatica, emorragie, trasfusioni e complicanze post-operatorie) si associ ad una prognosi peggiore e ad un aumentato tasso di recidive. Si può ipotizzare che questi risultati siano frutto della persistenza o addirittura del peggioramento dello stato malnutritivo e/o infiammatorio post-operatorio [134].

Per quanto a nostra conoscenza, i primi studi ed i relativi aggiornamenti riguardanti la valutazione del CO.NUT. score come fattore prognostico di sopravvivenza e predittivo di recidiva in pazienti sottoposti a OLT per HCC sono stati condotti recentemente. Ad oggi però, il *CO.NUT. score in ambito pre-operatorio non ha mostrato alcuna correlazione né con la sopravvivenza, né col tasso di recidive post-trapianto.*

L'impatto del trapianto di fegato sull'infiammazione cronica e sulla malnutrizione è ancora oggi oggetto di studio.

I risultati non statisticamente significativi che sono stati ottenuti possono essere ricondotti presumibilmente al fatto che il CO.NUT. score non tiene in considerazione un importante fattore indicativo di malnutrizione nel paziente trapiantato, ossia la *sarcopenia*. La sarcopenia si definisce come una *riduzione patologica della massa e conseguentemente della forza muscolare*. È una delle caratteristiche cliniche principali nella malnutrizione e solitamente non regredisce dopo OLT, ma tende a persistere se non addirittura a peggiorare; perciò, si associa ad una scarsa sopravvivenza.

Tutto ciò sembrerebbe essere una contraddizione se si guarda un altro dato, ossia il BMI. Infatti, solitamente, nei pazienti trapiantati si assiste ad un aumento di peso e del BMI, clinicamente correlato ad un maggior apporto dietetico. Tuttavia, questo recupero di solito si traduce in un marcato aumento del tessuto adiposo piuttosto che della massa magra, con persistenza della sarcopenia e frequente sviluppo della Sindrome Metabolica. Essendo il CO.NUT. score calcolato sui livelli sierici di colesterolo, albumina e conta dei linfociti totali, ci si potrebbe aspettare che nel decorso post-operatorio dopo trapianto di fegato non complicato questo score tenda a normalizzarsi se comparato con i valori pre-operatori. Questo potenzialmente spiegherebbe la mancanza di valore prognostico dopo OLT [141, 143, 144].

Una metanalisi condotta da Takagi valida questo score in ambito epato-bilio-pancreatico e gastro-intestinale, tuttavia, pone dei dubbi sui valori di cut-off utilizzati nei vari studi per dividere i pazienti ad alto e basso rischio; in questo contesto si propone di spostare il cut-off da 3-4 a 4-5. Ad ogni modo, dovranno essere condotti ulteriori studi in tal senso per determinare il valore più appropriato da utilizzare [145].

Tale indagine ha anche identificato i marcatori immunologici PLR e NLR come predittori significativi di sopravvivenza e recidiva HCC dopo trapianto, in linea con i precedenti studi e metanalisi [146, 147].

L'inflammation cronica persistente indotta da complicanze chirurgiche post-operatorie, infezioni, insufficienza renale o recidiva delle precedenti patologie epatiche di base, in combinazione con l'effetto delle terapie immunosoppressive, può indurre alcune disfunzioni immunitarie e creare un microambiente favorevole alla migrazione, adesione, invasione e crescita di cellule tumorali circolanti; tutto ciò favorisce la recidiva dell'HCC. Clinicamente, PLR e NLR sembrano ben correlare con tale meccanismo patogenico post-trapianto, anche se sono necessari ulteriori studi per investigare il loro potere prognostico come markers post-operatori [144, 145, 148, 149].

#### **4.6 CONCLUSIONI**

I più recenti studi hanno dimostrato la notevole importanza del CO.NUT. score come fattore prognostico in ambito oncologico nella chirurgia gastrointestinale ed epato-bilio-pancreatica; tuttavia, indagando la malnutrizione tramite lo score immuno-nutrizionale CO.NUT. non è emerso avere alcun potere prognostico di sopravvivenza né predittivo di recidiva in pazienti sottoposti a trapianto ortotopico di fegato per HCC.

Invece, un altro marker immunologico, ossia NLR, si è dimostrato valido fattore prognostico di sopravvivenza; altri fattori prognostici di sopravvivenza statisticamente significativi sono la positività al virus dell'HIV, le trasfusioni di sangue (indicative di considerevole sanguinamento intraoperatorio) e la recidiva HCC.

Per quanto riguarda le variabili predittive di recidiva HCC, le uniche che sono risultate statisticamente significative sono state quelle correlate all'istopatologia della neoplasia, ossia il numero di noduli tumorali, il grading e l'invasione vascolare, già ampiamente validate da studi passati.

Per poter trarre le conclusioni definitive è necessario effettuare ulteriori studi, ampliando il pool di pazienti e inserendo il parametro "sarcopenia".

## ***BIBLIOGRAFIA***

1. El-Serag, H. B. (2011). Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 365(12), 1118–1127. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1001683>.
2. Kumar, Abbas, Fausto: Robbins e Cotran - Le basi patologiche delle malattie 7° edizione – cap. 18 “Fegato e tratto biliare”.
3. Bianco, De Placido, Tortora: Core Curriculum - Oncologia clinica cap. 12 “epatocarcinoma”.
4. Koike K, Tsutsumi T et al: Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis *Oncology* 2002 62 Suppl 1: 29-37.
5. Pinzani M et al.: Liver Cirrhosis Best Practice and Research Clinical. *Gastroenterology* 2011;25:281-290.
6. Lin C.B, Lindenbach B, Pragai D. W, et al.: Processing of the hepatitis C virus E2-NS2 region: identification of p7 and two distinct E2-specific products with different C termini. *J. Virol.* 1994;68:5063-5073.
7. Feitelson MA, Sun B et al.: Genetic mechanisms of hepatocarcinogenesis. *Oncogene* 21: 2593-2604, 2002.
8. Snorri S Thorgeirsson et al.: Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nature Genetics* 2002;31:339-346.
9. HE van Gijssel et al.: p53 protein expression by hepatocarcinogenesis in the rat liver and its potential role in mitoinhibition of normal hepatocytes as a mechanism of hepatic tumor promotion. *Carcinogenesis* 1997;18:1027-1033.
10. Chang MH, Chen CJ, Lai MS, et al. Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. *N Engl J Med* 1997;336:1855-1859.
11. Nishiguchi S, Shiomi S, Nakatami S, et al. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 2001;357:196-197.
12. Collier J, Sherman M. Screening for Hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998;27:273-278 70.
13. Oka H, Tamori A, Kuroki T, Kabayashi K, Yamamoto S. Prospective study of alphafetoprotein in cirrhotic patients monitored for development of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1994;19:61-66.

14. Lee HS, Chung YH, Kim CY. Specificities of serum alpha-fetoprotein in HBsAg+ e ABsAg- patients in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1991;14:68-72.
15. C. Verslype, E. Van Cutsem, M. Dicato: The management of hepatocellular carcinoma. Current expert opinion and recommendations derived from the 10th World Congress on Gastrointestinal Cancer, Barcelona, 2008. *Annals of Oncology* 20 (Supplement 7) 2009.
16. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma, *Journal of Hepatology* 2018 vol. 69 182–236.
17. EASL–EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012 vol. 56: 908–943.
18. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases *Hepatology*, VOL. 68, NO. 2, 2018.
19. Stigliano R, Marelli L, Yu D, Davies N, Patch D, Burroughs AK: Seeding risk following percutaneous approaches to hepatocellular carcinoma. What is the risk and the outcome? *Cancer treatment review*: 1603-1607, 2007.
20. Levy I, Sherman M, Liver Cancer Study Group of the University of Toronto. Staging of hepatocellular carcinoma: assessment of the CLIP, Okuda and Child-Pugh staging systems in a cohort of 257 patients in Toronto. *Gut* 2002;50(6):881-5.
21. Alejandro Forner, Josep M Llovet, Jordi Bruix: Hepatocellular carcinoma; *Lancet* 2012; 379: 1245.
22. Barbara L, Benzi G, Gaiani S, et al. Natural History of small untreated hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a multivariate analysis of prognostic factors of tumor growth rate and patient survival. *Hepatology* 1992;16:132-37.
23. Aii S, Yamaoka Y, Futagawa S, et al. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinoma: a retrospective and nationwide survey in Japan. *Hepatology* 2000;32:1224-29.
24. Bruix J, Llovet JM. Prognostic assessment and evaluation of the benefits of treatment. *J Clin Gastroenterol* 2002;35 (Suppl.2):S138-S142.
25. Carlos Rodriguez de Lope, Silvia Tremosini, Management of HCC, *Journal of Hepatology* 2012 | S75–S87.

26. Villanueva, A., Hernandez-Gea, V. & Llovet, J. M. Medical therapies for hepatocellular carcinoma: a critical view of the evidence. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10, 34–42 (2012).
27. Yamashita, T. & Kaneko, S. Treatment strategies for hepatocellular carcinoma in Japan. *Hepatol. Res.* (2012).doi:10.1111/j.1872-034X.2012.01029.
28. Vilgrain, V. Advancement in HCC imaging: diagnosis, staging and treatment efficacy assessments: hepatocellular carcinoma: imaging in assessing treatment efficacy. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 17, 374–379 (2010).
29. Maluccio, M. & Covey, A. Recent progress in understanding, diagnosing, and treating hepatocellular carcinoma. *CA Cancer J Clin* 62, 394–399 (2012).
30. Cholankeril G, Patel R, Khurana S, Satapathy SK, Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic steatohepatitis: Current knowledge and implications for management. *World J Hepatol.* 2017 Apr 18;9(11):533-543. doi: 10.4254/wjh.v9.i11.533.
31. Franssen B, Jibara G, Tabrizian P, Schwartz ME, Roayaie S. Actual 10-year survival following hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *HPB (Oxford).* 2014 Sep;16(9):830-5. doi: 10.1111/hpb.12206.
32. Mazzaferro, V. et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* 334, 693–699 (1996).
33. Hyun D, Cho SK, Shin SW, Park KB, Lee SY, Park HS, Do YS. Combined transarterial chemoembolization and radiofrequency ablation for small treatment-naïve hepatocellular carcinoma infeasible for ultrasound-guided radiofrequency ablation: long-term outcomes. *Acta Radiol.* 2018 Jul;59(7):773-781. doi: 10.1177/0284185117735349.
34. Khan, K. N. et al. Prospective analysis of risk factors for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following ethanol injection. *J. Hepatol.* 32, 269– 278 (2000).
35. Casaccia M, Santori G, Bottino G, Diviaco P, Negri A, Moraglia E, Adorno E. The procedure outcome of laparoscopic resection for 'small' hepatocellular carcinoma is comparable to laparoscopic radiofrequency ablation. *J Minim Access Surg.* 2015 Oct-Dec;11(4):231-5. doi: 10.4103/0972-9941.144093.72.
36. Casaccia M, Santori G, Bottino G, Diviaco P, Andorno E. Laparoscopic resection vs laparoscopic radiofrequency ablation for the treatment of small hepatocellular

- carcinomas: A single-center analysis. *World J Gastroenterol.* 2017 Jan 28;23(4):653-660. doi: 10.3748/wjg.v23.i4.653.
37. Linee guida AIOM epatocarcinoma (edizione 2018) [https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/11/2018\\_LG\\_AIOM\\_Epatocarcinoma.pdf](https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2018/11/2018_LG_AIOM_Epatocarcinoma.pdf)
  38. Hashimoto M, Sasaki K, Moriyama J, et al: Resection of peritoneal metastases in patients with hepatocellular carcinoma. *Surgery.* 2013 May;153(5):727-31.
  39. Allemann P, Demartines N, Bouzourene H, et al: Long-term outcome after liver resection for hepatocellular carcinoma larger than 10 cm. *World J Surg.* 2013 Feb;37(2):452-8.
  40. Mells G, Neuberger J. Long-term care of the liver allograft recipient. *Semin Liver Dis.* 2009 Feb;29(1):102-20.
  41. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2005;42:1020–1022.
  42. Verslype C, Rosmorduc O, Rougier P; ESMO Guidelines Working Group. Hepatocellular carcinoma: ESMO- ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012 Oct;23 Suppl 7: vii41-8.
  43. Benson AB, et al. Hepatobiliary cancers. *NCCN Guidelines Version 2.2016.*
  44. Hyder O, Dodson RM, Weiss M, et al: Trends and patterns of utilization in post-treatment surveillance imaging among patients treated for hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Surg.* 2013 Oct;17(10):1774-83.
  45. Yao FY: Expanded criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 37 Suppl 2:S267-274, 2007.
  46. Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, et al: Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol* 10:35-43, 2009.
  47. Sapisochin G, Goldaracena N, Laurence JM, et al: The extended Toronto criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: A prospective validation study. *Hepatology* 64:2077-2088, 2016. 76.
  48. Sapisochin G, Goldaracena N, Astete S, et al: Benefit of Treating Hepatocellular Carcinoma Recurrence after Liver Transplantation and Analysis of Prognostic Factors for Survival in a Large Euro-American Series. *Ann Surg Oncol* 22:2286-2294, 2015.

49. Sotiropoulos GC, Molmenti EP, Losch C, et al: Meta-analysis of tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma based on 1,198 cases. *Eur J Med Res* 12:527-534, 2007.
50. Toso C, Mentha G, Majno P: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: five steps to prevent recurrence. *Am J Transplant* 11:2031-2035, 2011.
51. Sapisochin G, Bruix J: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14:203-217, 2017.
52. Welker MW, Bechstein WO, Zeuzem S, et al: Recurrent hepatocellular carcinoma after liver transplantation - an emerging clinical challenge. *Transpl Int* 26:109-118, 2013.
53. Sapisochin G, Goldaracena N, Astete S, et al: Benefit of Treating Hepatocellular Carcinoma Recurrence after Liver Transplantation and Analysis of Prognostic Factors for Survival in a Large Euro-American Series. *Ann Surg Oncol* 22:2286-2294, 2015.
54. Bodzin AS: Hepatocellular carcinoma (HCC) recurrence and what to do when it happens. *Hepatobiliary Surg Nutr* 5:503-505, 2016.
55. Centro nazionale trapianti, istituto superiore di sanità.  
<http://www.trapianti.salute.gov.it/trapianti/homeCnt.jsp>
56. AIDO TORINO (Associazione Italiana per la Donazione di Organi, Tessuti e Cellule)  
<http://www.aidotorino.it/>
57. Marzano, A. et al. Viral load at the time of liver transplantation and risk of hepatitis B virus recurrence. *Liver Transplant.* 11, 402–409 (2005).
58. Cholongitas, E. & Papatheodoridis, G. V. Review of the pharmacological management of hepatitis B viral infection before and after liver transplantation. *World J. Gastroenterol.* 19, 9189–97 (2013).
59. Saab, S. & Wang, V. Recurrent hepatitis C following liver transplant: diagnosis, natural history, and therapeutic options. *J. Clin. Gastroenterol.* 37, 155–63 (2003).
60. Berenguer, M. et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J. Hepatol.* 32, 673–84 (2000).
61. Everson, G. T. et al. Treatment of advanced hepatitis C with a low accelerating dosage regimen of antiviral therapy. *Hepatology* 42, 255–262 (2005).
62. O'Grady JG: Liver transplantation alcohol related liver disease: (deliberately) stirring a hornet's nest! *Gut* 55:1529-1531, 2006.

63. Burra P, Mioni D, Cillo U, et al: Long-term medical and psycho-social evaluation of patients undergoing orthotopic liver transplantation for alcoholic liver disease. *Transpl Int* 13 Suppl 1:S174-178, 2000.
64. Menon, K. V. N. et al. The Budd–Chiari Syndrome. *N. Engl. J. Med.* (2004). doi:10.1056/NEJMra020282.
65. Duclos-Vallée, J. C. et al. Could post-liver transplantation course be helpful for the diagnosis of so called cryptogenic cirrhosis? *Clinical Transplantation* (2005).
66. Heneghan, M. A. et al. An evaluation of long-term outcomes after liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. *Liver Transpl.* (2003). doi:10.1053/jlts.2003.50165.
67. Wiesner, R. H. Liver transplantation for primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: predicting outcomes with natural history models. *Mayo Clin. Proc.* (1998). doi:10.4065/73.6.575.
68. Boberg, K. M. & Lind, G. E. Primary sclerosing cholangitis and malignancy. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 25, 753–764 (2011).
69. Ichai, P. et al. Usefulness of corticosteroids for the treatment of severe and fulminant forms of autoimmune hepatitis. *Liver Transplant.* 13, 996–1003 (2007).
70. Lee, W. M. Acute liver failure. *N. Engl. J. Med.* 329, 1862–1872 (1993).
71. Ala, A. et al. Wilson’s disease. *Lancet* (London, England) (2007). doi:10.1016/S0140-6736(07)60196-2.
72. P, Birrer et al. Alpha 1-antitrypsin deficiency and liver disease. *J Inherit Metab Dis* 14, 512–525 (1991).
73. Arnold, H. L. & Harrison, S. a. New advances in evaluation and management of patients with polycystic liver disease. *Am. J. Gastroenterol.* (2005). doi:10.1111/j.1572-0241.2005.00263.
74. Carvalho A, Rocha A, Lobato L. Liver transplantation in transthyretin amyloidosis: issues and challenges. *Liver Transpl.* 2015 Mar;21(3):282-92. doi: 10.1002/lt.24058. Epub 2015 Feb 2. PMID: 25482846.
75. Yao, F. Y. et al. A follow-up analysis of the pattern and predictors of dropout from the waiting list for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: Implications for the current organ allocation policy. *Liver Transplant.* (2003).

76. Lei JY, Wang WT, Yan LN. Up-to-seven criteria for hepatocellular carcinoma liver transplantation: a single center analysis. *World J Gastroenterol.* 2013 Sep 28;19(36):6077-83. doi: 10.3748/wjg.v19.i36.6077. PMID: 24106409; PMCID: PMC3785630.
77. Miro, J. M. et al. Liver transplantation in HIV/hepatitis co-infection. *J HIV Ther* (2007).
78. Kim J, Zimmerman MA, Hong JC. Liver transplantation in the treatment of unresectable hepatic metastasis from neuroendocrine tumors. *J Gastrointest Oncol.* 2020 Jun;11(3):601-608. doi: 10.21037/jgo.2019.11.03. PMID: 32655939; PMCID: PMC7340808.
79. Mehrabi, A. et al. Primary malignant hepatic epithelioid hemangioendothelioma: A comprehensive review of the literature with emphasis on the surgical therapy. *Cancer* (2006). doi:10.1002/cncr.22225.
80. Farkas S, Hackl C, Schlitt HJ. Overview of the indications and contraindications for liver transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2014 May 1;4(5):a015602. doi: 10.1101/cshperspect.a015602. PMID: 24789874; PMCID: PMC3996378.
81. Henriksen, J. H., Parving, H. H., Christiansen, L., Winkler, K. & Lassen, N. A. Increased transvascular escape rate of albumin during experimental portal and hepatic venous hypertension in the pig. Relation to findings in patients with cirrhosis of the liver. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 41, 289–299 (1981).
82. Fernández-Esparrach, G. et al. A prognostic model for predicting survival in cirrhosis with ascites. *J. Hepatol.* 34, 46–52 (2001).
83. Malinchoc, M. et al. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology* 31, 864–871 (2000).
84. Merion, R. M. et al. The survival benefit of liver transplantation. *Am. J. Transplant.* (2005). doi:10.1111/j.1600-6143.2004.00703.
85. Freeman, R. B., Edwards, E. B. & Harper, A. M. Waiting List Removal Rates Among Patients with Chronic and Malignant Liver Diseases. *Am. J. Transplant.* 6, 1416–1421 (2006).
86. Marroni, C. P. et al. MELD scores with incorporation of serum sodium and death prediction in cirrhotic patients on the waiting list for liver transplantation: A single

- center experience in southern brazil. *Clin. Transplant.* (2012). doi:10.1111/j.1399-0012.2012.01688.
87. Cillo, U. et al. A multistep, consensus-based approach to organ allocation in liver transplantation: Toward a ‘blended principle model’. *Am. J. Transplant.* 15, 2552–2561 (2015).
88. Zetterman, R. K. et al. Age and liver transplantation: A report of the liver transplantation database. *Transplantation* (1998). doi:10.1097/00007890-199808270-00015
89. Gaynor, J. J. et al. A cause-specific hazard rate analysis of prognostic factors among 877 adults who received primary orthotopic liver transplantation. *Transplantation* (2007). doi:10.1097/01.tp.0000269090.90068.
90. Tecniche di trapianto epatico nell'adulto, *Enciclopedia medico-chirurgicale*, Boudjema, Compagnon, Meinier, Camplon.
91. Amaral B, Vicente M, Pereira CSM, Araújo T, Ribeiro A, Pereira R, Perdigoto R, Marcelino P. Approach to the liver transplant early postoperative period: an institutional standpoint. *Rev Bras Ter Intensiva.* 2019 Oct-Dec;31(4):561-570. doi: 10.5935/0103-507X.20190076. PMID: 31967233; PMCID: PMC7009000.
92. Di Maira T, Little EC, Berenguer M. Immunosuppression in liver transplant. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2020 Jun-Aug;46-47:101681. doi: 10.1016/j.bpg.2020.101681. Epub 2020 Sep 11. PMID: 33158467.
93. Urbani L., Catalano G., Biancofiore G., Bindi L., Consani G., Bisà M., Boldrini A., Campatelli A., Signori S., Morelli L., Coletti L., Perrone V., Vignali C., Cioni R., Petruzzi P., Boraschi P., Campani D., Mosca F., Filipponi F. Complicanze chirurgiche dopo trapianto di fegato, *Minerva Chirurgica* 2003 October;58(5):675-92
94. [http://www.ospedaliriuniti.marche.it/portale/moduli/downloadFile.php?file=oggetto\\_guide\\_monografie/1311820180400\\_\\_OComplicanze%20post%20trapianto%20di%20fegato.pdf](http://www.ospedaliriuniti.marche.it/portale/moduli/downloadFile.php?file=oggetto_guide_monografie/1311820180400__OComplicanze%20post%20trapianto%20di%20fegato.pdf)
95. Feng, S. et al. Characteristics associated with liver graft failure: The concept of a donor risk index. *Am. J. Transplant.* 6, 783–790 (2006).
96. Flores A, A. S. A. The Donor Risk Index: A Decade of experience. *Liver Transplant.* 23, 1216–1225 (2017).

97. Rana, A. et al. Survival Outcomes Following Liver Transplantation (SOFT) score: A novel method to predict patient survival following liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 8, 2537–2546 (2008).
98. Freeman, R. B. SOFT endpoints in liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 8, 2483–2484 (2008).
99. Reichert, B. et al. Value of the preoperative SOFT-score, P-SOFT-score, SALTscore and labMELD-score for the prediction of short-term patient and graft survival of high-risk liver transplant recipients with a pre-transplant labMELD-score  $\geq 30$ . *Ann. Transplant.* 17, 11–17 (2012).
100. Halldorson, J. B., Bakthavatsalam, R., Fix, O., Reyes, J. D. & Perkins, J. D. DMELD, a simple predictor of post liver transplant mortality for optimization of donor/recipient matching. *Am. J. Transplant.* 9, 318–326 (2009).
101. Tanemura, A. et al. D-MELD, the product of donor age and preoperative MELD, predicts surgical outcomes after living donor liver transplantation, especially in the recipients with HCV-positive and smaller grafts. *Transplant. Proc.* 48, 1025–1031 (2016).
102. Dutkowski, P. et al. Are there better guidelines for allocation in liver transplantation? A novel score targeting justice and utility in the model for end-stage liver disease era. *Ann. Surg.* 254, 745–753 (2011). 77.
103. De Campos Junior, I. D., Stucchi, R. S. B., Udo, E. Y. & Boin, I. de F. S. F. Application of the BAR score as a predictor of short- and long-term survival in liver transplantation patients. *Hepatol. Int.* 9, 113–119 (2015).
104. Ma, Y., Wang, Q., Yang, J. & Yan, L. Comparison of different scoring systems based on both donor and recipient characteristics for predicting outcome after living donor liver transplantation. *PLoS One* 10, 1–11 (2015).
105. Schrem, H. et al. Value and limitations of the BAR-score for donor allocation in liver transplantation. *Langenbeck's Arch. Surg.* 399, 1011–1019 (2014).
106. Orci LA, Berney T, Majno PE, et al: Donor characteristics and risk of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Br J Surg* 102:1250-1257, 2015.
107. Vagefi PA, Dodge JL, Yao FY, et al: Potential role of the donor in hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 21:187-194, 2015.

108. Nagai S, Yoshida A, Facciuto M, et al: Ischemia time impacts recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Hepatology* 61:895-904, 2015.
109. Man K, Ng KT, Lo CM, et al: Ischemia-reperfusion of small liver remnant promotes liver tumor growth and metastases--activation of cell invasion and migration pathways. *Liver Transpl* 13:1669-1677, 2007.
110. Harris AL: Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer* 2:38-47, 2002.
111. Orci LA, Lacotte S, Oldani G, et al: Effect of ischaemic preconditioning on recurrence of hepatocellular carcinoma in an experimental model of liver steatosis. *Br J Surg* 103:417-426, 2016.
112. Yao FY, Ferrell L, Bass NM, et al: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 33:1394-1403, 2001.
113. Sapisochin G, Goldaracena N, Laurence JM, et al: The extended Toronto criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: A prospective validation study. *Hepatology* 64:2077-2088, 2016.
114. Duvoux C, Roudot-Thoraval F, Decaens T, et al: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a model including alpha-fetoprotein improves the 78 performance of Milan criteria. *Gastroenterology* 143:986-994 e983; quiz e914-985, 2012.
115. Lai Q, Nicolini D, Inostroza Nunez M, et al: A Novel Prognostic Index in Patients With Hepatocellular Cancer Waiting for Liver Transplantation: TimeRadiological-response-Alpha-fetoprotein-INflammation (TRAIN) Score. *Ann Surg* 264:787-796, 2016.
116. Berry K, Ioannou GN: Serum alpha-fetoprotein level independently predicts posttransplant survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 19:634- 645, 2013.
117. Merani S, Majno P, Kneteman NM, et al: The impact of waiting list alphafetoprotein changes on the outcome of liver transplant for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 55:814-819, 2011.

118. Miltiadous O, Sia D, Hoshida Y, et al: Progenitor cell markers predict outcome of patients with hepatocellular carcinoma beyond Milan criteria undergoing liver transplantation. *J Hepatol* 63:1368-1377, 2015.
119. Imamura H, Matsuyama Y, Miyagawa Y, et al: Prognostic significance of anatomical resection and des-gamma-carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 86:1032-1038, 1999.
120. Fujiki M, Takada Y, Ogura Y, et al: Significance of des-gamma-carboxy prothrombin in selection criteria for living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Am J Transplant* 9:2362-2371, 2009.
121. Caram LJ, Calderon F, Masino E, Ardiles V, Mauro E, Haddad L, Pekolj J, Vicens J, Gadano A, de Santibañes E, de Santibañes M. Do changes in inflammatory markers predict hepatocellular carcinoma recurrence and survival after liver transplantation? *Ann Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2022 Feb 28;26(1):40-46. doi: 10.14701/ahbps.21-094. PMID: 34980682; PMCID: PMC8901987.
122. Zhang X, Li J, Shen F, et al: Significance of presence of microvascular invasion in specimens obtained after surgical treatment of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017.
123. DuBay D, Sandroussi C, Sandhu L, et al: Liver transplantation for advanced hepatocellular carcinoma using poor tumor differentiation on biopsy as an exclusion criterion. *Ann Surg* 253:166-172, 2011.
124. Pawlik TM, Gleisner AL, Anders RA, et al: Preoperative assessment of hepatocellular carcinoma tumor grade using needle biopsy: implications for transplant eligibility. *Ann Surg* 245:435-442, 2007.
125. Cillo U, Giuliani T, Polacco M, et al: Prediction of hepatocellular carcinoma biological behavior in patient selection for liver transplantation. *World J Gastroenterol* 22:232-252, 2016.
126. Yao FY, Mehta N, Flemming J, et al: Downstaging of hepatocellular cancer before liver transplant: long-term outcome compared to tumors within Milan criteria. *Hepatology* 61:1968-1977, 2015.
127. Ravaioli M, Grazi GL, Piscaglia F, et al: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: results of down-staging in patients initially outside the Milan selection criteria. *Am J Transplant* 8:2547-2557, 2008.

128. Tamandl D, Waneck F, Sieghart W, et al: Early response evaluation using CTperfusion one day after transarterial chemoembolization for HCC predicts treatment response and long-term disease control. *Eur J Radiol* 90:73-80, 2017.
129. Kojiro M: Pathological evolution of early hepatocellular carcinoma. *Oncology* 62 Suppl 1:43-47, 2002.
130. Zen C, Zen Y, Mitry RR, et al: Mixed phenotype hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization and liver transplantation. *Liver Transpl* 17:943-954, 2011.
131. Toso C, Mentha G, Majno P: Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: five steps to prevent recurrence. *Am J Transplant* 11:2031-2035, 2011.
132. Reddy KR, Bourliere M, Sulkowski M, et al: Ledipasvir and sofosbuvir in patients with genotype 1 hepatitis C virus infection and compensated cirrhosis: An integrated safety and efficacy analysis. *Hepatology* 62:79-86, 2015.
133. Takagi K, Yagi T, Umeda Y, et al. Prognostic Significance of Preoperative Controlling Nutritional Status (CONUT) Score in Patients Undergoing Hepatic Resection for Hepatocellular Carcinoma: A Multi-institutional Study. *Ann Surg Oncol*. 2018 Oct;25(11):3316-3323. doi: 10.1245/s10434-018-6672-6. Epub 2018 Jul 26.
134. Harimoto N, Yoshizumi T, Sakata K, et al. Prognostic Significance of Preoperative Controlling Nutritional Status (CONUT) Score in Patients Undergoing Hepatic Resection for Hepatocellular Carcinoma. *World J Surg*. 2017 Nov;41(11):2805-2812.
135. Fukushima K, Ueno Y, Kawagishi N, et al. The nutritional index 'CONUT' is useful for predicting long-term prognosis of patients with end-stage liver diseases. *Tohoku J Exp Med*. 2011 Jul;224(3):215-9
136. Iseki Y, Shibutani M, Maeda K, et al. Impact of the Preoperative Controlling Nutritional Status (CONUT) Score on the Survival after Curative Surgery for Colorectal Cancer. *PLoS One*. 2015 Jul 6;10(7):e0132488.
137. Toyokawa T, Kubo N, Tamura T, et al. The pretreatment Controlling Nutritional Status (CONUT) score is an independent prognostic factor in patients with resectable thoracic esophageal squamous cell carcinoma: results from a retrospective study. *BMC Cancer*. 2016 Sep 6;16:722.

138. Toyokawa G, Kozuma Y, Matsubara T, et al. Prognostic impact of controlling nutritional status score in resected lung squamous cell carcinoma. *J Thorac Dis.* 2017 Sep;9(9):2942- 2951
139. Kuroda H, Sawayama H, Kurashige et al. Controlling Nutritional Status (CONUT) score is a prognostic marker for gastric cancer patients after curative resection. *Gastric Cancer.* 2018 Mar;21(2):204-212.
140. Ignacio de Ulíbarri J, Gonzalez-Madrono A, de Villar NG et al (2005) CONUT: a tool for controlling nutritional status. First validation in a hospital population. *Nutr Hosp* 20:38–45
141. Sinclair M, Gow PJ, Grossmann M, Angus PW. Review article: sarcopenia in cirrhosis--aetiology, implications and potential therapeutic interventions. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016 Apr;43(7):765-77.
142. Tandon P, Raman M, Mourtzakis M, Merli M. A practical approach to nutritional screening and assessment in cirrhosis. *Hepatology* 2017;65:1044-1057.
143. Nishikawa H, Shiraki M, Hiramatsu A, Moriya K, Hino K, Nishiguchi S. Japan Society of Hepatology guidelines for sarcopenia in liver disease (1st edition): Recommendation from the working group for creation of sarcopenia assessment criteria. *Hepatol Res.* 2016 Sep;46(10):951-63
144. Jeon JY, Wang HJ, Ock SY, et al. Newly Developed Sarcopenia as a Prognostic Factor for Survival in Patients who Underwent Liver Transplantation. *PLoS One.* 2015 Nov 30;10:e0143966.
145. Kosei Takagi, Piotr Domagala, Wojciech G. Polak. The Controlling Nutritional Status Score and Postoperative Complication Risk in Gastrointestinal and Hepatopancreatobiliary Surgical Oncology: A Systematic Review and Meta-Analysis
146. Jun Zheng, Jianye Cai, Hui Li, Kaining Zeng, Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio as Prognostic Predictors for Hepatocellular Carcinoma Patients with Various Treatments: a MetaAnalysis and Systematic Review. *Cell Physiol Biochem.* 2017;44(3):967-981. doi: 10.1159/000485396. Epub 2017 Nov 27.
147. Fu H, Zheng J, Cai J, Zeng K, Systemic Immune-Inflammation Index (SII) is Useful to Predict Survival Outcomes in Patients After Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma within Hangzhou Criteria. *Cell Physiol Biochem.* 2018;47(1):293-301. doi: 10.1159/000489807. Epub 2018 May 11.

148. Lee EC, Kim SH, Shim JR, Park SJ. Small-for-size grafts increase recurrence of hepatocellular carcinoma in liver transplantation beyond milan criteria. *Liver Transpl.* 2018 Jan;24(1):35-43
149. Kallwitz ER. Sarcopenia and liver transplant: The relevance of too little muscle mass. *World J Gastroenterol.* 2015 Oct 21;21(39):10982-93.