Basi scientifiche e tecnologiche per la definizione di ***linee-guida*** di **Terapie Loco-Regionali Integrate (TLRI)** nelle patologie oncologiche

Ottobre 2010

Questo volume è dedicato al dottor ***Maurizio Vaglini****,*
fondatore e primo presidente della
Società Italiana di Terapie Integrate Loco-Regionali
in Oncologia (SITILO)

PREFAZIONE

La Società Italiana di Terapie Integrate Loco-Regionali in Oncologia (SITILO) è stata costituita nel 1995, fortemente voluta dal dott. Maurizio Vaglini dell'Istituto Nazionale Tumori di Milano e da altri colleghi coinvolti ed interessati all'applicazione di terapie loco-regionali nel trattamento dei tumori.
La promozione di questa Società è nata e tuttora vive sulla spinta di una precisa esigenza di multidisciplinarietà, quale momento di riunione di differenti culture oncologiche, che necessariamente debbono convergere al fine di integrare le proprie intrinseche conoscenze sviluppando sinergie di lavoro in ben definiti gruppi di studio interdisciplinari. Ulteriore prioritaria finalità di questa Società è l'identificazione di metodiche speciali, che possano essere riprodotte in strutture periferiche, contribuendo quindi alla formazione professionale oncologica sia medica sia paramedica.
Per terapie loco-regionali tradizionalmente si intende una serie di metodiche che sono in grado di portare o per via chirurgica o per via radiologica interventistica, da sole o combinate fra di loro, uno o più farmaci antiblastici in quantitativi generalmente molto elevati, concentrandoli nel tessuto tumorale ed evitando danni sistemici all'organismo. Attualmente, possono far parte delle terapie loco-regionali anche quelle che consistono nella somministrazione loco-regionale di farmaci biologici (eventualmente in associazione con gli antiblastici) o di sostanze capaci di rilasciare emissioni radioattive.
Sono definite "integrate", perché considerate come facenti parte di un complesso e definitivo trattamento di un tumore (trattamento chirurgico, terapie loco-regionali, chemioterapia sistemica, radiopterapia) che viene attuato per neoplasie quali le metastasi epatiche, i tumori pancreatici avanzati, le carcinosi peritoneali, le recidive di tumori nel piccolo bacino, i tumori avanzati della pleura e del polmone e per quelle neoplasie operabili solo con grossi interventi demolitivi, quali i tumori degli arti, consentendo interventi più conservativi.
In considerazione di quanto esposto, la SITILO si è posta iniziali obiettivi che permangono tuttora validi:

- ricerca integrata di base e clinica multidisciplinare;
- standardizzazione delle tecniche;
- elaborazione di protocolli clinici;

- individuazione dei pazienti che realmente beneficiano dei trattamenti loco-regionali, in termini di controllo locale di malattia e di sopravvivenza.

Le terapie loco-regionali si avvalgono di tecniche complesse come la perfusione ipertermico-antiblastica, lo *stop-flow*, la peritonectomia associata alla perfusione ipertermico-antiblastica intraperitoneale, l'infusione endo-arteriosa, PEI, termoablazione, chemioembolizzazione per lesioni epatiche ed altro.

Negli ultimi cinque anni sono inoltre entrate nella pratica clinica procedure molto innovative come la radioterapia con CyberKnife, la radioterapia loco-regionale con infusione di particelle radioattive e la ipertermia distrettuale esterna, che una Società multidisciplinare come la SITILO ha introdotto nei suoi protocolli.

Queste metodiche richiedono una conoscenza approfondita di tutte le problematiche della circolazione extracorporea, delle interazioni tra farmaci e calore e/o ipossia, degli effetti dell'infusione di particelle radioattive sul tumore e sui tessuti circostanti, del *management* intra e post-operatorio del malato sottoposto a trattamenti molto impegnativi.

La SITILO ha elaborato e condotto studi di fase I-II-III che hanno permesso di standardizzare le tecniche, di stabilire dei rigidi criteri di eleggibilità dei pazienti e di ottimizzare le terapie stabilendo il *timing* e la sequenza dei trattamenti (chemioterapia regionale, chirurgia, radioterapia, chemioterapia sistemica).

Tutto ciò rappresenta un enorme patrimonio che la SITILO mette a disposizione della Comunità clinico-scientifica e di tutti coloro che vogliono cimentarsi con tecniche innovative, anche attraverso l'iniziativa "Basi Scientifiche per la definizione di Linee Guida (BSLG) per le diverse patologie oncologiche".

Considerata la frequente e crescente consultazione sia della forma cartacea sia *on-line* delle BSLG delle Terapie Loco-Regionali pubblicate nel 2005 sotto l'egida del CNR nell'ambito dei Progetti di Ricerca Finalizzati e Strategici, abbiamo sentito la necessità di un aggiornamento di quanto è stato fatto in questi ultimi anni.

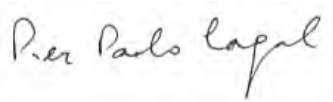
Essendo i Progetti di Ricerca Finalizzati e Strategici del Consiglio Nazionale delle Ricerche giunti oramai a conclusione, l'iniziativa "Basi Scientifiche per la definizione di Linee Guida per le diverse patologie oncologiche" è stata raccolta ed è tuttora sostenuta da Alleanza Contro il Cancro che, a partire dal 2007, ha sponsorizzato la pubblicazione di nuovi volumi dedicati a patologie oncologiche finora non trattate, quali i tumori del rene, i tumori neuroendocrini del tratto

gastro-entero-pancreatico e del pancreas e di volumi dedicati all'aggiornamento di precedenti pubblicazioni, quali i tumori dell'età pediatrica, del colon-retto ed ano ed anche l'opera che presentiamo.
Questa costituisce un'importante sintesi degli sviluppi raggiunti in questi ultimi anni in ambito tecnologico e clinico in questo campo, che risponde soprattutto al duplice scopo di:

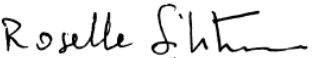
- ridurre al minimo le complicanze in pazienti che vengono sottoposti a trattamenti integrati complessi;
- garantire la massima efficacia dei trattamenti loco-regionali, attraverso la corretta attuazione degli stessi e selezione dei pazienti che possono realmente beneficiare dei trattamenti loco-regionali integrati.

L'estensione del testo è stata affidata ad un Gruppo di Studio, composto dai più noti Esperti nazionali, oncologi di estrazione medica, chirurgica, radiologica, immunologica e biologica, operanti in diverse Istituzioni cliniche, Ospedali, Università ed IRCCS, la cui attività principale consiste nello studio e nella ricerca ed applicazione di terapie integrate loco-regionali.
A tutti i componenti del Gruppo di Studio ed a tutti i Collaboratori che hanno contribuito a questa opera esprimiamo sincera gratitudine.

I Coordinatori



Prof. Pier Paolo Cagol



Prof.ssa Rosella Silvestrini

Basi scientifiche e tecnologiche per la definizione di ***linee-guida***

di **Terapie Loco-Regionali Integrate (TLRI)**

nelle patologie oncologiche

Coordinatori	**Pier Paolo**	**CAGOL**, Udine
	Rosella	**SILVESTRINI**, Milano
Gruppo di Studio	**Dario**	**BARATTI**, Milano
	Pietro	**BOVOLATO**, Brescia
	Franco	**CASAMASSIMA**, Firenze
	Francesco	**CAVALIERE**, Roma
	Maurizio	**COSIMELLI**, Roma
	Michele	**DE SIMONE**, Torino
	Marcello	**DERACO**, Milano
	Franco	**DI FILIPPO**, Roma
	Cosmo Damiano	**GADALETA**, Bari
	Alfredo	**GAROFALO**, Roma
	Rita	**GOLFIERI**, Bologna
	Stefano	**GUADAGNI**, L'Aquila
	Francesco	**IZZO**, Napoli
	Shigeki	**KUSAMURA**, Milano
	Marcella	**MOTTOLESE**, Roma
	Pierluigi	**PILATI**, Padova
	Carlo R.	**ROSSI**, Padova
	Giovanni	**SCAMBIA**, Roma
	Nadia	**ZAFFARONI**, Milano
	Wainer	**ZOLI**, Forlì

Hanno inoltre collaborato all'elaborazione del documento i dottori:
Alberta **Cappelli**, Annamaria **Catino**, Tommaso **Cioppa**, Barbara **Costantini**, Anna **Fagotti**, Francesco **Fanfani**, Francesco **Farelli**, Emanuela **Giampalma**, Enzo **Mammano**, Cristina **Moruzzi**, Cristina **Mosconi**, Angelica **Naldini**, Gianluca **Pariscenti**, Sandro **Pasquali**, Mauro **Piccirillo**, Matteo **Renzulli**, Emanuela **Tessari**.

Si ringraziano le dott.sse Paola **Persici** e Francesca **Mazzetti** e la sig.ra Luciana **Rainaldi** della Segreteria Scientifica per l'importante contributo scientifico, editoriale ed organizzativo.

Questo testo sarà accessibile nel sito **www.alleanzacontroilcancro.it**, sezione "Formazione".

INDICE

1.0 ASPETTI DI BASE **13**
1.1 Interazione tra agenti terapeutici chimici e fisici **13**
1.2 Principi biologici del trattamento con farmaci anti-EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*) **21**

2.0 ASPETTI TECNOLOGICI **31**
2.1 Tecnologie complesse **31**
Perfusione isolata dell'arto 31
Stop-flow 38
Citoriduzione chirurgica più Chemio Ipertermia Intra-Toracica (CIIT) 48
Citoriduzione chirurgica e Chemio Ipertermia Intra-Peritoneale (CIIP) 56
Perfusione ipertermico-antiblastica isolata di fegato 70
2.2 Altre Tecnologie **78**
Terapie mini-invasive delle lesioni epatiche 78
CyberKnife 120

3.0 APPLICAZIONI CLINICHE NELLE DIVERSE PATOLOGIE ONCOLOGICHE **132**
3.1 Neoplasie parti molli **132**
Sarcomi delle parti molli 132
Melanomi dell'arto 139
3.2 Neoplasie peritoneali **145**
Mesoteliomi 145
Pseudomixomi e neoplasie dell'appendice 153
Carcinosi dell'ovaio 160
Carcinosi peritoneali da neoplasie dello stomaco 171
Carcinosi del colon-retto 182

3.3 Neoplasie epatiche **190**
Lesioni primitive 190
Lesioni secondarie 198

3.4 Altre neoplasie **205**
Utilizzo clinico della procedura di Chemio Ipertermia Intra-Toracica (CIIT) nei mesoteliomi pleurici 205
Neoplasie polmonari 216
Masse distrettuali 227

1.0 ASPETTI DI BASE

1.1 Interazione tra agenti terapeutici chimici e fisici

Studi sperimentali hanno aiutato i clinici a trasformare caratteristiche fisiologiche avverse del tumore in un vantaggio terapeutico.
Prendendo in considerazione l'ipossia tumorale, la conoscenza dei meccanismi molecolari e biochimici legati a questa condizione ha permesso di definire ed utilizzare con successo nella pratica clinica una categoria di farmaci che necessitano, per espletare la loro attività citotossica, di selettiva attivazione in condizioni ipossiche. Tali farmaci pertanto possono essere utilizzati in terapie loco-regionali per tumori naturalmente ipossici od in condizioni di ipossia artificialmente ottenuta, con appropriate tecniche.
In oncologia, il termine ipertermia si riferisce al trattamento di patologie neoplastiche con calore somministrato con modalità diverse. L'ipertermia è generalmente applicata al paziente in combinazione con altre modalità terapeutiche. Studi clinici hanno dimostrato un aumento nel controllo locale e nella sopravvivenza in seguito al trattamento loco-regionale con ipertermia associata a radioterapia in pazienti con tumori superficiali localmente avanzati o ricorrenti o con tumori pelvici. Inoltre, la perfusione ipertermico-antiblastica è correntemente utilizzata nella pratica clinica, dove ha fornito significativi risultati nel trattamento loco-regionale di specifiche patologie. Studi preclinici hanno permesso la comprensione degli effetti molecolari dell'ipertermia e delle basi meccanicistiche del potenziamento degli effetti della chemioterapia contribuendo così al disegno razionale di nuove strategie terapeutiche di combinazione.

Ipossia
Effetti molecolari
A causa dello scarso ed anormale sviluppo vascolare, la maggior parte dei tumori solidi presenta livelli mediani di pO_2 inferiori a quelli del tessuto d'origine; inoltre, le aree ipossiche sono caratterizzate da bassi livelli di pH e glucosio. Il microambiente ipossico presente nei tumori solidi influenza non solo le cellule tumorali, ma anche le cellule stromali non-neoplastiche, quali macrofagi e fibroblasti e conferisce al tumore una maggior aggressività ed un aumentato potenziale

metastatico (1). Tale effetto sembra essere dovuto alla sovraespressione, in ambiente ipossico, di prodotti genici che possono promuovere la progressione tumorale permettendo alle cellule di adattarsi alla privazione di nutrimento e di sfuggire ad un ambiente ostile. L'ambiente ipossico è in grado di selezionare l'espressione di cellule che hanno acquisito mutazioni nel gene p53, perdendo in tal modo il loro potenziale apoptotico ed acquisendo un vantaggio di crescita. Inoltre, attraverso la stabilizzazione del fattore di trascrizione HIF1α (*Hypoxia Inducible Factor 1α*), l'ipossia determina un aumento nell'espressione di proteine legate all'angiogenesi, quali VEGF (*Vascular Endotelial Growth Factor*) ed il suo recettore VEGFR, al metabolismo glicolitico ed all'adattamento allo stress ossidativo (2).
L'ipossia fornisce alle cellule tumorali un microambiente che facilita la radio- e la chemio-resistenza. Infatti, da oltre 50 anni è noto che le cellule tumorali ipossiche sono nettamente più resistenti delle cellule normo-ossigenate alle radiazioni ionizzanti. La base molecolare di tale resistenza risiede nel fatto che, mentre in condizioni di normossia l'ossigeno reagisce con i radicali prodotti nel DNA dalle radiazioni ionizzanti fissando il danno in maniera permanente, in assenza di ossigeno la maggior parte di tali radicali viene riconvertita in una forma non danneggiata, in seguito alla donazione di idrogeno da parte di gruppi sulfidrilici non proteici presenti nella cellula. Numerosi studi condotti in pazienti con sarcomi delle parti molli e carcinomi della cervice uterina hanno, infatti, dimostrato che la presenza di regioni ipossiche nella massa tumorale influenza in maniera avversa il controllo loco-regionale della malattia e l'intervallo libero dopo radioterapia primaria.
La carenza di ossigeno influenza significativamente anche la risposta delle cellule tumorali al trattamento chemioterapico ipertemico. Lo sviluppo della farmaco-resistenza può essere parzialmente spiegata da effetti indotti sul ciclo cellulare, arresto delle cellule nella fase G1, così come dalla sovraespressione di particolari geni, quali la deidrofolato reduttasi, che conferisce resistenza agli antimetaboliti, o all'induzione di proteine da stress (GRP78 e GRP94) responsabili della resistenza a farmaci inibitori delle DNA topoisomerasi, quali etoposide e camptotecina (3).

Farmaci bioriducenti

La conoscenza dei meccanismi molecolari e biochimici legati alla condizione tumorale ipossica ha permesso di definire ed utilizzare

nella pratica clinica strategie terapeutiche in tumori naturalmente ipossici o dove venga artificialmente ottenuta con appropriate tecniche una condizione di ipossia. Le strategie finora adottate per superare la resistenza delle cellule ipossiche ai trattamenti si sono basate: *i)* sul miglioramento dell'ossigenazione a livello tumorale, utilizzando ossigeno iperbarico o farmaci ossigeno-mimetici; *ii)* sull'utilizzo di farmaci bioriducenti con selettività specifica per le cellule ipossiche. Il presupposto per l'utilizzo dei farmaci-ossigeno mimetici si basa sul fatto che essi possono diffondere al di fuori dei vasi sanguigni e, non essendo metabolizzati durante la respirazione cellulare, raggiungere le aree ipossiche del tumore e produrre un effetto di radiosensibilizzazione, mimando l'effetto dell'ossigeno (4). In particolare, il 5-nitroimidazolo, Nimorazolo, ha dimostrato la capacità di migliorare l'effetto terapeutico delle radiazioni ionizzanti in alcuni tumori del cavo orale, a fronte di una modesta tossicità. E' stata inoltre utilizzata la combinazione di Carbogen (una miscela costituita da 95% O_2 e 5% CO_2) con il derivato della vitamina B, nicotinamide, nell'ambito di trattamenti radioterapici. Studi clinici hanno dimostrato la fattibilità e la parziale efficacia di tale trattamento in pazienti con carcinomi della vescica e del cavo orale, anche se limitazioni nell'utilizzo clinico di questa strategia erano associate alla tossicità gastrointestinale della nicotinamide.

L'ipossia tumorale rappresenta una condizione unica, che può essere sfruttata per trattamenti selettivi basati sull'uso di farmaci bioriducenti. Tali pro-farmaci necessitano di attivazione metabolica per generare specie tossiche dotate di attività antitumorale. Gli enzimi coinvolti sono NADPH: citocromo P-450 reduttasi, xantina ossidasi e NADH: citocromo b5 reduttasi, DT-diaforasi e xantina deidrogenasi. L'attivazione avviene preferenzialmente nella cellula tumorale ipossica in cui è prodotto il *set* appropriato di reduttasi. L'antibiotico antitumorale chinonico Mitomicina C è considerato il prototipo dei farmaci bioriducenti. In particolare, tale farmaco risulta essere più attivo, a parità di dose, in cellule ipossiche rispetto a cellule normo-ossigenate, con un potenziamento da 3 a 10 volte, in funzione del tipo di cellula tumorale e del livello di ipossia. Studi sperimentali e clinici hanno dimostrato l'efficacia di tale farmaco sia in condizioni di ipossia spontanea sia in seguito alla generazione artificiale di condizioni ipossiche in trattamenti loco-regionali di chemio-embolizzazione, perfusione ipossica e perfusione con la tecnica dello *stop-flow*. Sulla base delle conoscenze del processo di bioriduzione di

Mitomicina C sono stati generati una serie di analoghi chinonici, quale l'indolochinone EO9, che si è però rivelato clinicamente poco efficace a dispetto dei brillanti risultati ottenuti con tale composto in modelli preclinici *in vitro* e *in vivo*. Un'altra classe di agenti bioriducenti è rappresentata dai composti nitroaromatici (RB6145 ed altri composti aromatici in grado di danneggiare il DNA). Più recentemente sono state proposte nuove citotossine bioriducenti, quali Tirapazamina e AQ4N. In particolare, Tirapazamina presenta una tossicità 100-300 volte superiore per le cellule ipossiche rispetto a quelle normo-ossigenate. Il meccanismo alla base di tale tossicità preferenziale per le cellule ipossiche è il risultato di una riduzione enzimatica che aggiunge un elettrone alla molecola di Tirapazamina, generando un radicale altamente reattivo. Tale radicale è il responsabile dell'effetto citotossico del farmaco attraverso la produzione di danni al DNA e conseguenti aberrazioni cromosomiche.
Inoltre, è stato dimostrato che la Tirapazamina produce un potenziamento specifico dell'effetto delle radiazioni ionizzanti e di farmaci danneggianti il DNA come il Cisplatino. Clinicamente, la combinazione di Tirapazamina, Cisplatino e radioterapia ha dimostrato un livello accettabile di tossicità e ha prodotto risposte cliniche durevoli in pazienti con carcinomi avanzati della testa e collo (5).

Prospettive future

Come precedentemente menzionato, l'ipossia è in grado di stabilizzare e conseguentemente aumentare il livello di espressione intracellulare del fattore di trascrizione HIF-1α. E' ora noto che per promuovere la trascrizione di specifici geni, HIF-1α si lega ad una sequenza *enhancer* chiamata HRE (*Hypoxia Regulatory Element*) presente nel promotore di specifici geni. La conoscenza di tali meccanismi molecolari ha portato al disegno di approcci di terapia genica ipossia-regolati (6). Nel primo di tali tentativi, la sequenza murina HRE è stata inserita nel promotore umano 9-27 per regolare l'espressione del gene della Citosina Deaminasi (CD), un enzima in grado di convertire il pro-farmaco 5-Fuorocitosina (5-FC) nel suo metabolita citotossico. Cellule di fibrosarcoma umano HT1080 transfettate con il costrutto HRE-CD risultavano circa 6 volte più sensibili al 5-FC in condizioni ipossiche che in normossia. Tale esempio costituisce il primo tentativo di GDEPT (*Gene-Directed Enzyme/Prodrug Therapy*) regolata dall'ipossia e quindi mirata alla selettiva eliminazione delle cellule tumorali ipossiche, risparmiando le cellule normali normo-ossigenate (7).

Negli ultimi anni, una serie di differenti costrutti sono stati ingegnerizzati al fine di ottimizzare l'espressione ipossia-mediata del transgene in approcci di terapia genica. Inoltre, con il fine ultimo di migliorare il trasferimento dei geni al tessuto tumorale d'interesse, i ricercatori si stanno attivamente dedicando all'ottimizzazione dei vettori per terapia genica utilizzando non solo retro- ed adenovirus, ma anche differenti modalità terapeutiche basate sull'impiego di batteri e macrofagi che potrebbero superare limitazioni legate allo scarso trasferimento genico ed alla tossicità nel paziente (8).

Ipertermia

Effetti molecolari

A partire dagli anni '60, numerosi studi hanno dimostrato che l'esposizione alle elevate temperature (da 41°C a 47°C) è in grado di determinare la morte delle cellule tumorali in maniera temperatura-dipendente. La curva di sopravvivenza cellulare al trattamento ipertermico in funzione del tempo di esposizione mostra una tipica "spalla", che riflette un processo di morte cellulare bifasico. Tale processo è caratterizzato da un arresto lineare della crescita all'inizio dell'esposizione al calore (indicativo di un effetto sub-letale e reversibile), seguito da una fase esponenziale di morte cellulare. Studi condotti su cellule tumorali sincronizzate hanno dimostrato che le fasi più sensibili al trattamento ipertermico sono la mitosi e la fase di sintesi del DNA.

Numerosi studi hanno dimostrato che il trattamento ipertermico determina modificazioni nella membrana cellulare consistenti in alterazioni nella fluidità e stabilità, alterazioni nel potenziale elettrico e nel trasporto trans-membrana, accompagnato da una modulazione dell'attività delle pompe trans-membrana (MDR1, ecc.). Il trattamento ipertermico esercita, inoltre, una diretta interferenza con il metabolismo degli acidi nucleici, inducendo inibizione nella sintesi di DNA ed RNA, alterazioni nella conformazione del DNA ed inibizione dell'attività di enzimi di riparazione del DNA. Alterazioni nella sintesi proteica sono state inoltre osservate in cellule sottoposte a trattamento ipertermico, accompagnate a denaturazione proteica, aggregazione di proteine alla matrice nucleare ed induzione della sintesi di HSP (*Heat Shock Protein*).

Ipertermia e chemioterapia

Numerosi studi sperimentali hanno chiaramente dimostrato che l'ipertermia è in grado di potenziare l'attività citotossica di farmaci antitumorali a diverso meccanismo d'azione. L'entità di questa chemiosensibilizzazione termica viene valutata come rapporto tra l'effetto citotossico di un determinato farmaco ad una determinata concentrazione in condizioni ipertermiche e normali di temperatura. Il tipo d'interazione tra il calore ed i farmaci è stato classificato in termini di: *i*) effetto "additivo/sopra-additivo", quando si osserva un incremento lineare dell'attività citotossica del farmaco all'aumentare della temperatura (da 40.5°C a 43°C). Tale effetto si osserva con agenti alchilanti bifunzionali (Melphalan, Ciclofosfamide ed Ifosfamide) e composti del platino (Cisplatino ed Oxaliplatino); *ii*) effetto "soglia", quando non si osserva potenziamento dell'attività citotossica del farmaco al di sotto di una determinata temperatura (> 42°-43°C). Tale effetto si osserva con antibiotici antitumorali come l'Adriamicina; *iii*) "indipendenza", quando l'attività citotossica del farmaco non risulta significativamente influenzata dal variare della temperatura. Tale effetto si osserva per alcuni antimetaboliti (5-Fluorouracile), alcaloidi della Vinca e Taxani (9). I dati attualmente disponibili indicano che i migliori effetti di chemosensibilizzazione termica per la maggior parte degli antitumorali studiati si ottengono quando il calore ed il farmaco vengono somministrati simultaneamente o con un breve intervallo intercorrente, anche se sono presenti delle eccezioni legate fondamentalmente al meccanismo d'attivazione del farmaco.

Il potenziamento termico dell'attività di farmaci antiblastici si basa su modificazioni indotte dal calore nella farmacodinamica e farmacocinetica del composto, rilevanti per il suo effetto antitumorale. Ad esempio, per il Melphalan, uno dei farmaci più largamente utilizzati in studi di termo-chemioterapia sperimentale e clinica, sono stati proposti diversi meccanismi putativi di potenziamento ipertermico includenti l'aumento della concentrazione intracellulare di farmaco, l'alterazione della struttura quaternaria del DNA in modo da favorire il processo di alchilazione, l'interferenza con il metabolismo degli addotti farmaco-DNA e l'inibizione del loro riparo e la stabilizzazione da parte del calore delle perturbazioni indotte dal farmaco nella progressione delle cellule nel ciclo cellulare. Per quanto riguarda il Cisplatino, è stato dimostrato che l'aumento dell'effetto citotossico di questo composto e del suo analogo Oxaliplatino in

condizioni ipertermiche è conseguente ad un'aumentata formazione di addotti letali platino-DNA (10). Poiché è stato osservato che l'ipertermia moderata (< 42°C) *in vivo* è in grado di aumentare il flusso sanguigno tumorale, tale effetto potrebbe contribuire ad incrementare il trasferimento dei farmaci al tessuto tumorale e quindi a migliorarne l'effetto terapeutico.

Prospettive future

Nonostante gli studi sperimentali abbiano contribuito a chiarire i meccanismi molecolari dell'ipertermia e le basi meccanicistiche del potenziamento termico di alcuni farmaci convenzionali, nuovi studi biologici sono ora necessari per determinare l'attività di composti antitumorali di recente proposizione in condizioni ipertermiche e fornire le basi razionali per il disegno di nuovi protocolli di termo-chemioterapia.

Applicazioni dell'ipertermia attualmente in fase di valutazione preclinica riguardano: *i*) approcci di terapia genica (11), con particolare riferimento alla generazione di vettori di espressione, in cui il gene terapeutico viene posto sotto il controllo del promotore delle HSP, *ii*) approcci farmacologici innovativi basati, ad esempio, sull'impiego di liposomi, in grado di rilasciare il farmaco in maniera temperatura-dipendente (12).

Liposomi termosensibili (LTS)

Il principio generale sul quale si basa il successo di una terapia farmacologica è che il farmaco giunga nella sede di azione e cioè alle cellule *target* ad una determinata concentrazione e vi permanga per il periodo strettamente necessario a svolgere la sua azione terapeutica. I trattamenti chemioterapici sistemici non sfuggono a questa regola e ad essa è riconducibile proprio una delle principali limitazioni associata all'efficacia di questi approcci terapeutici. Infatti, solo una piccola frazione della dose totale del farmaco somministrato endovena riesce a raggiungere il tumore e, generalmente, incrementare la dose somministrata non è possibile a causa della tossicità sistemica avversa che ne deriva (13).

Un importante tentativo per il superamento delle problematiche relative allo stretto indice terapeutico, spesso associato alla somministrazione per via sistemica dei chemioterapici, è stato avviato attraverso l'utilizzo della tecnologia liposomica. I liposomi rappresentano un'ampia e malleabile classe di trasportatori di farmaci,

costituiti da vescicole chiuse, di dimensioni variabili fra 25 nm e 1 μm di diametro, generalmente formate da uno o più doppi strati fosfolipidici che racchiudono uno spazio acquoso. Costituiscono quindi un sistema di nanoparticelle, lungo circolanti, capace di ridurre la tossicità avversa dei chemioterapici e di aumentare, rispetto alla somministrazione del farmaco libero, l'accumulo del chemioterapico stesso all'interno del tumore. Va comunque ricordato che se il sistema liposomico può raggiungere l'obiettivo di un prolungato tempo in circolo del farmaco e di un suo ottimale trasporto in quantità appropriate nella sede tumorale, esso può anche presentare problematiche funzionali relative al lento e passivo rilascio del farmaco stesso nella sede tumorale.
Notevoli sforzi sono stati compiuti e si stanno compiendo nel tentativo di superare le problematiche relative al rilascio liposomiale del farmaco e soprattutto sull'ottimizzazione della biodisponibilità del farmaco a livello del tessuto tumorale mantenendo, contestualmente, un'elevata stabilità dei liposomi in circolo. Il tentativo di risolvere queste problematiche si sta focalizzando in due direzioni principali: *i)* sito-specificità di *delivery* attraverso la costruzione di specifici ligandi od anticorpi posti sulla superficie esterna dei liposomi che riconoscano recettori iper-espressi dal tumore; *ii)* attivatori sito-specifici attraverso l'incorporazione, nei liposomi, di un meccanismo di rilascio sito-specifico che consenta di aumentare il rilascio dei farmaci veicolati, aumentandone notevolmente l'efficacia terapeutica (14,15).
Alcuni dati di letteratura illustrano strategie promettenti finalizzate al raggiungimento dell'obiettivo della sito-specificità di *delivery*, utilizzando come bersagli specifici anticorpi, integrine e recettori per i folati. Per quanto riguarda gli studi che si prefiggono di aumentare il *delivery* attraverso specifici attivatori di rilascio, vanno segnalati i tentativi di utilizzo della luce, di pH, di specifici enzimi presenti nella matrice extracellulare rilasciati dal tumore e dell'ipertermia (16).
I liposomi termosensibili (LTS) sono vescicole a base fosfolipidica con un'ampia capacità di incapsulare farmaci e rilasciarli in condizioni ipertermiche. Il rilascio dipende sia dalla temperatura (temperatura di transizione) sia dalla composizione chimica della componente lipidica degli LTS. Al di sotto della temperatura di transizione (fase gel), le catene aciliche degli acidi grassi dei fosfolipidi sono ordinate e scarsamente mobili, mentre a temperature superiori (fase liquido-cristallina) sono mobili, disordinate e la membrana liposomiale diviene più permeabile all'acqua ed ai soluti (15,17). In un recente

lavoro, è stata valutata in sistemi sperimentali *in vitro* ed *in vivo* (18) su modelli animali l'attività, in termini di efficienza di rilascio, di varie concentrazioni di 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-PEG(2000) (DSPE-PEG(2000)) caricate su LTS sottoposti a moderata ipertermia. Lo studio conclude che l'incorporazione di DSPE-PEG(2000) (5 mol%) negli LTS stabilizza il contenuto a 37°C, mentre a 42°C consente il rilascio (60% in 1 minuto e 100% in 1 ora). Utilizzando il medesimo modello sperimentale di LTS caricati però con Doxorubicina è stata dimostrata l'efficacia e la non tossicità di un trattamento combinato con radiofrequenza ablativa, in pazienti con tumori epatici medio/grandi, documentando il rilascio specifico di Doxorubicina nella sede epatica (12).

Terapia *target* nei tumori solidi

Tra le caratteristiche biologiche distintive delle cellule tumorali, la perdita dei meccanismi di controllo della proliferazione e l'acquisizione del potenziale metastatico rappresentano elementi distintivi di cruciale importanza. Numerose vie metaboliche condizionano fortemente queste caratteristiche biologiche ed utilizzarle come bersaglio per contrastarne la funzionalità costituisce un efficace strumento terapeutico per un ampio spettro di tumori (colon, mammella, polmone, stomaco, testa collo, ecc.). Attualmente, le "terapie *target*" rappresentano una realtà terapeutica per molte patologie tumorali sia come singolo trattamento sia in combinazione con trattamenti chemioterapici convenzionali e le terapie loco-regionali non possono esimersi dal tener conto di questi trattamenti in diverse patologie e principalmente nel mCRC (*metastatic Colon Rectum Cancer*).

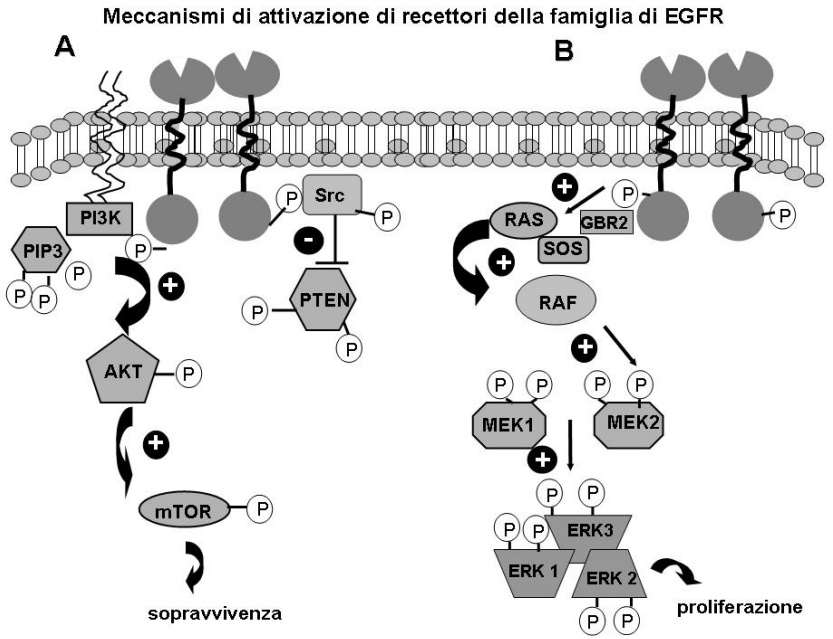
1.2 Principi biologici del trattamento con farmaci anti-EGFR (*Epithelial Growth Factor Receptor*)

Vie di attivazione di EGFR

La crescita e la progressione del carcinoma colorettale é un processo multifasico che origina dall'accumulo sequenziale di mutazioni in oncogeni e geni oncosoppressori, oltre che da alterazioni epigenetiche (19). Studi recenti sulle modificazioni geniche implicate in tale processo di trasformazione hanno evidenziato che l'EGFR rappresenta un importante mediatore dei processi di proliferazione e sopravvivenza

cellulare in neoplasie intestinali (20). L'EGFR è una glicoproteina transmembrana di 170 kD, membro di una famiglia di quattro recettori ad attività tirosin-chinasica (TK) che presentano una struttura comune altamente conservata costituita da un dominio extracellulare, uno transmembrana ed uno intracellulare. In seguito all'interazione recettore-ligando specifico, si formano omo- od eterodimeri che inducono l'attivazione della funzione tirosin-chinasica con conseguente fosforilazione del dominio intracellulare del recettore, ma anche di numerose proteine citoplasmatiche coinvolte nella trasduzione del segnale (21) in grado di innescare due principali vie di trasduzione del segnale: a) la via dei geni RAS-RAF-MEK-ERK coinvolta principalmente in processi proliferativi; b) la via dei geni PI3K-PTEN-AKT coinvolta principalmente in processi di sopravvivenza cellulare (Figura 1).

Figura 1



L'attivazione mutazionale di geni coinvolti nella trasmissione del segnale per la crescita cellulare è oggi un punto chiave nella ricerca applicata alla terapia oncologica. L'attivazione del gene *K-ras* (*V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma oncogene homolog*), a seguito di mutazioni geniche puntiformi caratterizzate dalla sostituzione di una singola base, viene considerata uno dei primissimi importanti eventi nella patogenesi di numerosi tumori solidi ed in particolare dell'adenocarcinoma del colon-retto (CRC) (19). *K-ras* è un proto-oncogene che codifica per una proteina GPTasica di 21 kDa (p21RAS) attivata transitoriamente in risposta a differenti stimoli extracellulari quali fattori di crescita, citochine, ormoni che si legano al proprio recettore tirosin-chinasico (RTK), quale EGFR, che va incontro ad autofosforilazione.
L'attivazione di *K-ras* induce una cascata lineare di protein-chinasi: la serina-treonina chinasi codificata dal gene *B-RAF* (*V-raf-murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) fosforila MEK (*Mitogen-activated protein kinase*) inducendo di conseguenza la fosforilazione di ERK (*Extracellular signal-Regulated Kinase*). Le chinasi così attivate traslocano dal citoplasma al nucleo, dove, a loro volta, fosforilano diverse proteine che, in risposta allo stimolo extracellulare, stimolano la trascrizione di altri geni.
In caso di mutazione del gene *K-ras,* presente in circa il 40% dei CRC, la proteina rimane in uno stato di attivazione costitutivo. Quasi il 90% delle mutazioni attivanti di *K-ras* sono state identificate nei codoni 12 e 13 dell'esone 2 e, meno frequentemente (< 5%), nel codone 61 dell'esone 3. In particolare, il 70% delle mutazioni si trova nel codone 12 e solo il 30% nel codone 13 (22). In letteratura sono stati rilevati 10 tipi di mutazioni puntiformi differenti, le più comuni sono quelle che inducono nella proteina una sostituzione aminoacidica Glicina → Valina e Glicina → Acido Aspartico. Tale alterazione molecolare è associata ad una prognosi infausta (23). In tale contesto, strategie terapeutiche che hanno come bersaglio il blocco dei segnali mediati da EGFR trovano un razionale biologico importante.

Inibitori di EGFR
Gli inibitori di EGFR comprendono diverse classi di farmaci tra le quali gli anticorpi monoclonali (MoAb), che legandosi al dominio extracellulare dell'EGFR inibiscono l'attivazione di questo da parte dei suoi ligandi naturali e gli inibitori dell'attività TK, che agiscono inibendo in modo competitivo il sito che lega l'ATP del dominio TK

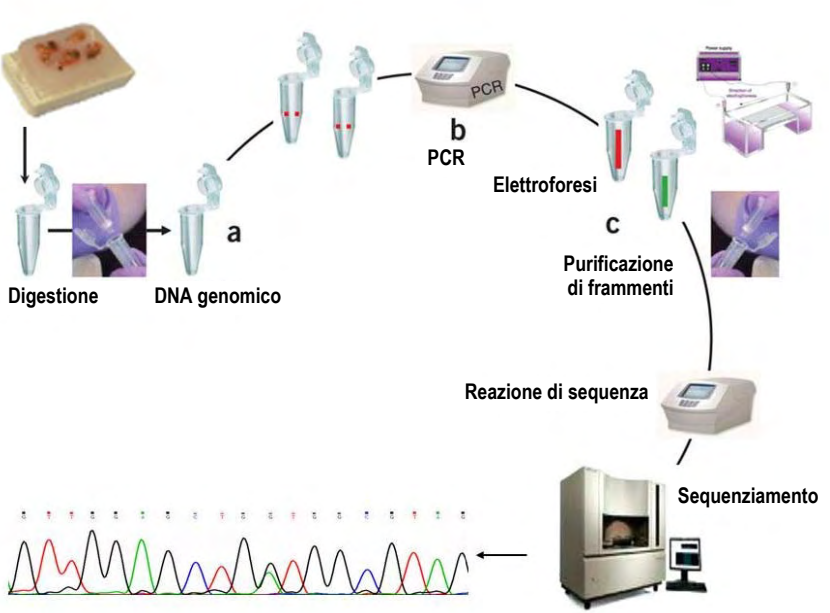
dell'EGFR. I farmaci a bersaglio molecolare in fase più avanzata di applicazione clinica nel carcinoma dell'mCRC sono soprattutto Cetuximab e Panitumumab.
Il Cetuximab è un MoAb chimerico IgG1, che presenta un'affinità per l'EGFR 10 volte superiore a quella dei suoi ligandi biologici (24,25), mentre il Panitumumab è un MoAb IgG2, completamente umanizzato (26). Il legame MoAb/EGFR impedisce stericamente la dimerizzazione del recettore, bloccando pertanto la trasduzione del segnale e la proliferazione in fase G1 inducendo nel contempo apoptosi. Tale interazione stimola inoltre l'endocitosi e l'internalizzazione del complesso anticorpo-recettore (27), inducendo una citotossicità cellulo-mediata anticorpo dipendente (28).

Biomarcatori predittivi di risposta ai farmaci anti-EGFR
L'identificazione di fattori predittivi molecolari di risposta ad uno specifico trattamento ha l'obiettivo di attuare una razionale selezione dei pazienti candidati a terapie a bersaglio molecolare.
L'EGFR, espresso in circa il 70% dei carcinomi del colon-retto (29), è stato il primo biomarcatore ad essere studiato quale potenziale predittore di risposta alla terapia con inibitori di EGFR. Le tecniche più utilizzate per la sua rilevazione sono l'immunoistochimica (IHC) e l'ibridazione in situ fluorescente (FISH) o cromogenica (CISH/SISH). La determinazione dell'EGFR mediante IHC, sebbene sia attualmente indispensabile per la selezione dei pazienti affetti da mCRC, non appare significativamente correlata con l'efficacia clinica del Cetuximab/Panitumumab (30,31). L'impiego di metodiche FISH ha rivelato un possibile ruolo predittivo dell'amplificazione del gene EGFR sulla risposta a terapia (32). Tuttavia, studi più recenti hanno dimostrato che l'efficacia degli MoAb anti- EGFR appare strettamente dipendente dalle mutazioni del gene *K-ras*. I risultati descritti in letteratura dimostrano, infatti, che sia il Cetuximab sia il Panitumumab, in associazione con la chemioterapia, sono più efficaci nei pazienti con mCRC che presentano l'allele del gene *K-ras* non mutato (WT) (22,23).
Una recente meta-analisi (33) ha confermato che lo stato mutazionale del gene *K-ras* svolge un ruolo chiave nella risposta farmacologica al trattamento di prima linea con MoAb anti-EGFR nel mCRC. La meta-analisi condotta sui dati di 845 pazienti, studiati in due successivi studi clinici randomizzati e controllati - lo studio CRYSTAL (34) e lo studio OPUS (35) - ha dimostrato che, nei pazienti portatori di mCRC

con gene *K-ras* WT, l'associazione di Cetuximab e chemioterapia standard consente di raddoppiare la risposta clinica alla terapia, di ottenere una riduzione del 34% del rischio di progressione del tumore, e di migliorare la sopravvivenza globale rispetto ai pazienti trattati con la sola chemioterapia.
Sulla base di questi risultati, attualmente, nel trattamento del mCRC esiste l'indicazione all'uso di Cetuximab, sia in monoterapia, sia in combinazione con chemioterapia.

Cenni metodologici
E' possibile analizzare lo stato mutazionale di *K-ras* a partire dal DNA estratto sia da piccole biopsie esplorative sia da tessuto riferibile a carcinoma primitivo o metastatico del CRC asportato con l'intervento chirurgico.
L'analisi mutazionale del gene *K-ras* può essere effettuata su DNA estratto da campioni di CRC ottenuti da tessuto fresco congelato o fissato in formalina ed incluso in paraffina, utilizzando reagenti disponibili commercialmente. Per una corretta estrazione del DNA dal tessuto tumorale è necessario selezionare solo l'area corrispondente alla neoplasia, eliminando quelle limitrofe non contenenti cellule neoplastiche. In tale contesto, il patologo svolge un ruolo chiave ed essenziale. Il sequenziamento diretto del prodotto della PCR deve essere considerato come il metodo di elezione per la diagnosi molecolare delle mutazioni di *K-ras*. I laboratori che effettuano le analisi a fini diagnostici devono sottoporsi ad adeguati e costanti Controlli di Qualità.
La procedura per la determinazione delle mutazioni di *K-ras* è schematizzata nella Figura 2.

Figura 2



Prospettive future

Nonostante l'introduzione di nuovi trattamenti a bersaglio molecolare, la sopravvivenza a 5 anni nei pazienti con mCRC è < 10%. Per migliorare ulteriormente la prognosi di questi pazienti, è necessario sia di poter disporre di farmaci biologici innovativi sia di conoscenze più approfondite sui meccanismi di resistenza ai trattamenti attualmente in uso. Infatti, solo il 28% dei pazienti con *K-ras* WT risponde al trattamento con MoAb (36,37), suggerendo l'interazione di più complessi meccanismi di resistenza. L'identificazione di tali meccanismi riveste particolare importanza clinica per due principali ragioni:

1 selezionare in modo prospettico pazienti potenzialmente responsivi, evitando l'impiego di farmaci costosi privi di efficacia;

2 disegnare strategie terapeutiche alternative.

Studi recenti (36,37) hanno evidenziato che in CRC con *K-ras* WT la resistenza a trattamenti anti-EGFR può essere causata anche da

mutazioni nei geni *BRAF* e/o *PIKCA* (proteina PI3K). In particolare, il gene *PIKCA* contrasta la funzione del gene oncosoppressore *pTEN* promuovendo la fosforilazione di AKT1 ed attivando un asse parallelo di trasduzione del segnale.
In conclusione, alla luce di questi dati, si può ipotizzare che nei pazienti affetti da mCRC, la valutazione concomitante dello stato mutazionale di *K-ras*, *BRAF* e *PIKCA*/*pTEN* consentirà di selezionare la maggioranza dei pazienti responsivi al trattamento con MoAb anti-EGFR. Inoltre, sarà importante disegnare studi clinici innovativi che si prefiggano di testare terapie combinate utilizzando inibitori di EGFR e BRAF/MAPK in pazienti con mCRC, che presentano attivazione nella via KRAS/BRAF.

BIBLIOGRAFIA

1. Hochel M, Schlenger K, Aral B, Mitze M, Schaffer U, Vaupel P. Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res 1996; 56:4509-15*
2. Maxwell PH, Dachs GU, Gleadle JM, Nicholls LG, Harris AL, Stratford LJ, Hankinson O, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Hypoxia inducible factor-1 modulates gene expression in solid tumors and influences both angiogenesis and tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:8104-9*
3. Tomida A, Tsuruo T. Drug resistance mediated by cellular stress response to the microenvironment. *Anticancer Drug Design 1999; 14:169-77*
4. Hoskin PJ, Saunders MI, Dische S. Hypoxic radiosensitizers in radical chemotherapy for patients with bladder carcinoma: Hyperbaric oxygen, misonidazole, and accelerated radiotherapy, carbogen, and nicotinamide. *Cancer 1999; 86:1322-28*
5. Rischin D, Peters L, Hicks R, Hughes P, Fisher R, Hart R, Sexton M, D'Costa I, von Roemeling R. Phase I trial of concurrent tirapazamine, cisplatin and radiotherapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol 2001; 19:535-42*
6. Binley K, Askham Z, Martin L, Spearman H, Day D, Kingsman S, Naylor S. Hypoxia-mediated tumour targeting. *Gene Ther 2003; 10:540-9*
7. Shibata T, Giaccia AJ, Martin JM. Hypoxia-inducible regulation of a prodrug-activating enzyme for tumor-specific gene therapy. *Neoplasia 2002; 4:40-8*

8. Cowen RL, Garside EJ, Fitzpatrick B, Papadopoulou MV, Williams KJ. Gene therapy approaches to enhance bioreductive drug treatment. *Brit J Radiol 2008; 81:S45-S56*
9. Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, Felix R, Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Rev Oncol/Hematol 2002; 43:33-56*
10. Atallah D, Marsaud V, Radanyi C, Kornprobst M, Rouzier R, Elias D, Renoir JM. Thermal enhancement of oxaliplatin-induced inhibition of cell proliferation and cell cycle progression in human carcinoma cell lines. *Int J Hyperthermia 2004; 20:405-19*
11. Walther W, Stein U. Heat-responsive gene expression for gene therapy. *Adv Drug Deliv Rev 2009; 61:641-9*
12. Poon RT, Borys N. Lyso-thermosensitive liposomal doxorubicin: a novel approach to enhance efficacy of thermal ablation of liver cancer. *Expert Opin Pharmacother 2009 Feb; 10(2):333-43*
13. Surendiran A, Sandhiya S, Pradhan SC, Adithan C. Novel applications of nanotechnology in medicine. *Indian J Med Res 2009; 130:689-701*
14. Andresen TL, Jensen SS, Jørgensen K. Advanced strategies in liposomal cancer therapy: problems and prospects of active and tumor specific drug release. *Prog Lipid Res 2005 Jan; 44(1):68-97*
15. Bikram M, West JL. Thermo-responsive systems for controlled drug delivery. *Expert Opin Drug Deliv 2008 Oct; 5(10):1077-91*
16. Linderoth L, Peters GH, Madsen R, Andresen TL. Drug delivery by an enzyme-mediated cyclization of a lipid prodrug with unique bilayer-formation properties. *Angew Chem Int Ed Engl 2009; 48(10):1823-6*
17. Banno B, Ickenstein LM, Chiu GN, Bally MB, Thewalt J, Brief E, Wasan EK. The functional roles of poly(ethylene glycol)-lipid and lysolipid in the drug retention and release from lysolipid-containing thermosensitive liposomes in vitro and in vivo. *J Pharm Sci 2010 May; 99(5):2295-308*
18. Li L, ten Hagen TL, Schipper D, Wijnberg TM, van Rhoon GC, Eggermont AM, Lindner LH, Koning GA. Triggered content release from optimized stealth thermosensitive liposomes using mild hyperthermia. *J Control Release 2010; 143(2):274-9*
19. Fearon ER, Volgestein B. A genetic model for colo-rectal carcinogenesis. *Cell 1990; 61:759-767*
20. Takayama T, Miyanishi K, Hayashi T, Sato Y, Niitsu Y. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. *J Gastroenterol 2006 Mar; 4:185-92*
21. Yano S, Kondo K, Yamaguchi M, Richmond G, Hutchison M, Wakeling A, Averbuch S, Wadsworth P. Distribution and function of EGFR in human tissue and the effect of EGFR tyrosine kinase inhibition. *Anticancer Res 2003; 23:3639-50*

22. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, Simes RJ, Chalchal H, Shapiro JD, Robitaille S, Price TJ, Shepherd L, Au HJ, Langer C, Moore MJ, Zalcberg JR. K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med 2008; 359:1757-65*
23. Lièvre A, Bachet JB, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, Ychou M, Bouché O, Landi B, Louvet C, André T, Bibeau F, Diebold MD, Rougier P, Ducreux M, Tomasic G, Emile JF, Penault-Llorca F, Laurent-Puig P. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol 2008; 26:374-9*
24. Waskal HW. Role of an anti-epidermal growth factor receptor in treating cancer. *Cancer Metastasis Rev 1999; 18:427-36*
25. Mendelsohn J. Epidermal growth factor receptor inhibition by a monoclonal antibody as anticancer therapy. *Clin Cancer Res 1997; 3:2703-7*
26. Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, Wang P, Davis CG, Jakobovits A. Eradication of established tumors by a fully human monoclonal antibody to the epidermal growth factor receptor without concomitant chemotherapy. *Cancer Res 1999; 59:1236-43*
27. Mendelsohn J. Jeremiah Metzger Lecture. Targeted cancer therapy. *Trans Am Clin Climatol Assoc 2000; 111:95-110*
28. Petit AM, Rak J, Hung MC, Rockwell P, Goldstein N, Fendly B, Kerbel RS. Neutralizing antibodies against epidermal growth factor and ErbB-2/neu receptor tyrosine kinases down-regulate vascular endothelial growth factor production by tumor cells in vitro and in vivo: angiogenic implications for signal transduction therapy of solid tumors. *Am J Pathol 1997; 151:1523-30*
29. Rego RL, Foster NR, Smyrk TC, Le M, O'Connell MJ, Sargent DJ, Windschitl H, Sinicrope FA. Prognostic effect of activated EGFR expression in human colon carcinomas: comparison with EGFR status. *Br J Cancer 2010; 102:165-72*
30. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, Needle MN, Kopit J, Mayer RJ. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol 2004; 22:1201-8*
31. Milano G, Etienne-Grimaldi MC, Dahan L, Francoual M, Spano JP, Benchimol D, Chazal M, Letoublon C, André T, Gilly FN, Delpero JR, Formento JL. Epidermal growth factor receptor status and K-Ras mutations in colorectal cancer. *Ann Oncol 2008; 19:2033-8*
32. Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Finocchiaro G, Skokan M, Gajapathy S, Carnaghi C, Rimassa L, Rossi E, Ligorio C, Di Tommaso L, Holmes AJ, Toschi L, Tallini G, Destro A, Roncalli M, Santoro A, Jänne PA.

Primary resistance to cetuximab therapy in EGFR FISH-positive colorectal cancer patients. *Br J Cancer 2008; 99:83-9*

33. Van Cutsem E, Rougier P, Kohne C, Stroh C, Schlichting M, Bokemeyer C. A meta-analysis of the CRYSTAL and OPUS studies combining cetuximab with chemotherapy (CT) as 1st-line treatment for patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Results according to KRAS and BRAF mutation status. *Joint ECCO 15-34 TH ESMO Multidisciplinary Congress Berlin, 20-24 september 2009*
34. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J, Janssens M, De Hertogh G, Personeni N, Biesmans B, Van Laethem JL, Peeters M, Humblet Y, Van Cutsem E, Tejpar S. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol 2008; 19:508-15*
35. Cervantes A, Macarulla T, Martinelli E, Rodriguez-Braun E, Ciardiello F, Stroh C, Nippgen J, Baselga J, Tabernero J. Correlation of KRAS status (wild type vs mutant) with efficacy to first-line cetuximab in a study of cetuximab single agent followed by cetuximab + FOLFIRI in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008 *ASCO Annual Meeting Proceedings vol 26, No 15S (May 20 supplement), 2008:4129*
36. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol 2008; 26:5705-12*
37. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res 2009; 69:1851-7*

2.0 ASPETTI TECNOLOGICI

2.1 Tecnologie complesse

Perfusione isolata dell'arto

La tecnica della perfusione antiblastica per il trattamento di alcuni tumori degli arti è stata introdotta per la prima volta nella pratica clinica da Creech e Krementz nel 1957 (1).

Questa tecnica consentiva, per mezzo di una circolazione extracorporea, di isolare temporaneamente l'arto, sede della neoplasia, dalla circolazione sistemica. In questo modo era possibile somministrare alte dosi di farmaci antiblastici (da 5 a 10 volte la massima dose veicolata per via sistemica) in un'area ristretta, con una conseguente elevata concentrazione di farmaci nel tumore (quindi localmente), ma senza provocare rilevanti effetti tossici sistemici.

Questa procedura era effettuata in normotermia.

Nei primi anni '60 veniva condotta a Roma, presso l'Istituto Regina Elena per lo Studio e la Cura dei Tumori, in collaborazione con l'Istituto di Biochimica dell'Università "La Sapienza" di Roma, una ricerca sperimentale (2) *in vitro* ed *in vivo* per studiare gli effetti delle temperature elevate (42°-43°C) sulle cellule neoplastiche. Nel 1866, Busch et al. avevano già dimostrato l'esistenza di una sensibilità selettiva delle cellule tumorali all'ipertermia, poiché esse subiscono un danno irreparabile, a differenza dei tessuti "sani", che sono invece in grado di riparare il danno subletale ricevuto dall'esposizione al calore.

L'ipertermia è stata impiegata per la prima volta nella pratica clinica presso l'Istituto Regina Elena di Roma nel 1964. Da un punto di vista tecnico, era stata ripresa l'idea di Krementz del circuito extracorporeo, modificato con l'introduzione nel circuito di uno scambiatore di calore. Il sangue circolante, passando attraverso lo scambiatore di calore, veniva riscaldato e trasferiva ipertermia (anziché farmaci antiblastici) a tutto l'arto sede di tumore fino a raggiungere la temperatura desiderata. La perfusione ipertermica, della durata di 2-4 ore, ad una temperatura tumorale tra i 42°C ed i 43°C, era in grado di ottenere delle buone risposte tumorali. I primi risultati clinici resi noti dimostravano l'azione terapeutica dell'ipertermia e la selettività dell'azione stessa, ma con una significativa incidenza di complicanze

post-perfusionali, che rendevano tale metodica non indicata nei pazienti non destinati all'amputazione dell'arto.
Tale incidenza di complicanze andava correlata in parte ai mezzi utilizzati non ancora adeguati (sistemi di rilevamento delle temperature non precisi, scambiatore di calore non adeguato, termo-dispersione non quantizzabile) ed in parte alla non ancora ben nota conoscenza della fisiopatologia dell'ipertermia (reazione sistemica all'aggressione ipertermica regionale, liberazione di citochine e fattori della cascata infiammatoria, riassorbimento dei prodotti di disgregazione del tumore).
Alla fine degli anni '60, Stehlin arrivò alla definizione della metodica attualmente utilizzata: combinò le due tecniche aggiungendo farmaci antiblastici all'ipertermia, realizzata per un tempo minore e ad una temperatura tumorale < 42°-43°C.
L'associazione ipertermia-farmaci antiblastici comportò un incremento della sopravvivenza a 5 anni dal 22% al 76% nei pazienti affetti da melanoma stadio III A (metastasi in transito) (3,4).
Il *rationale* della perfusione ipertermico-antiblastica si basa su precise considerazioni:

- tutto l'arto sede del tumore, inclusi i linfonodi loco-regionali, viene trattato con questa metodica;
- il temporaneo isolamento dell'arto dal resto della circolazione sistemica permette di utilizzare dosi di farmaci antiblastici 5-10 volte superiori alla dose massima tollerabile sistemica, senza importanti effetti tossici;
- la somministrazione di elevate dosi di farmaci antiblastici nell'arteria tributaria dell'arto sede di tumore, senza la metabolizzazione o la diffusione del farmaco in altri distretti, consente di ottenere alte concentrazioni tissutali ed un aumento dell'*uptake* del farmaco da parte del tumore;
- durante la perfusione viene impiegata l'eparina, che non solo contribuisce ad inibire i processi metastatici, ma possiede anche un effetto antitumorale diretto;
- durante la circolazione extracorporea vengono impiegate alte concentrazioni di pO_2, che variano da 200 a 300 mmHg; tale iperossigenazione potenzia gli effetti dei farmaci alchilanti e ha un effetto tumoricida diretto;

- l'ipertermia potenzia l'effetto antitumorale dei farmaci e possiede un effetto tumoricida diretto; l'applicazione contemporanea dell'ipertermia con i farmaci si traduce in un effetto sinergico e quindi amplificazione terapeutica;
- la riduzione o la scomparsa dei tumori può evitare l'amputazione dell'arto al paziente.

Oggi, la perfusione ipertermico-antiblastica formulata da Sthelin è il trattamento impiegato in alcuni tumori degli arti, nei diversi Istituti di Cura dei tumori, con alcune variazioni, concernenti prevalentemente i farmaci utilizzati e le temperature applicate.
L'ipertermia vera, secondo Eggermont (5), è quella compresa tra 41°-43°C; per lo più, la temperatura massima impiegata è uguale e mai superiore ai 42°C, poiché è tra 41°C e 41.8°C che è possibile ottenere il massimo vantaggio terapeutico, limitando le complicanze post-perfusionali.
A tal proposito vanno considerate le molteplici interazioni tra farmaci ed ipertermia: il calore provoca danno diretto a carico dei componenti cellulari (membrana plasmatica, mitocondri, sintesi proteica, DNA, RNA, ecc.) ed interviene indirettamente aumentando l'*uptake* del farmaco impedendo la formazione di complessi farmaco-proteine e, quindi, aumentando la disponibilità terapeutica; allo stesso tempo, alcuni farmaci eliminano la termoresistenza di alcuni cloni cellulari neoplastici e riducono l'energia di attivazione necessaria per l'effetto termico.
Va inoltre sottolineato che non tutti i farmaci hanno lo stesso comportamento; molti, infatti, sono in grado di produrre un effetto terapeutico solo se associati all'ipertermia.
Un ulteriore miglioramento della perfusione isolata di arto si è raggiunta con la realizzazione della perfusione trimodale, che prevede l'utilizzazione del TNFα (*Human Recombinant Tumor Necrosis Factor alfa*) all'ipertermia ed ai farmaci antiblastici. La sua azione è quella di citotossicità diretta sulle cellule neoplastiche e di sinergismo con l'ipertermia ed i chemioterapici, primo tra tutti il Melphalan, con conseguente danno a carico dell'endotelio vascolare del tumore.
Dagli studi condotti e resi noti da Lienard et al. (6), è stato dimostrato che l'azione del TNFα non è dose-dipendente, poiché la sua azione si manifesta in ugual misura con 1 mg o con 3-4 mg totali, con il vantaggio che dosaggi più bassi consentono miglior controllo di tossicità (7-9).

La perfusione ipertermico-antiblastica trova attualmente indicazione nei pazienti con sarcoma degli arti localmente avanzato, destinati ad una chirurgia demolitiva maggiore o ad amputazione dell'arto e nei pazienti affetti da metastasi in transito da melanoma in numero maggiore di 10 o di grosse dimensioni (10-12).

Tecnica

In anestesia generale si procede all'isolamento dei vasi tributari dell'arto sede di tumore.

Nell'arto superiore, con paziente in posizione supina con l'arto abdotto ed avambraccio semiflesso, vengono utilizzati i vasi ascellari tra la I e la II porzione; nell'arto inferiore, con paziente sempre in posizione supina e bacino leggermente rialzato al fine di ottenere l'agevole posizionamento del *tourniquet*, possono essere utilizzati i vasi iliaci esterni o i vasi femorali comuni.

Nei pazienti affetti da metastasi *in transit* da melanomi degli arti, se non precedentemente eseguita, viene effettuata la linfectomia ascellare o iliaco-otturatoria e retrocrurale con legatura e sezione dei vasi collaterali, al fine di ridurre al massimo il *leakage* tra circuito e circolazione sistemica.

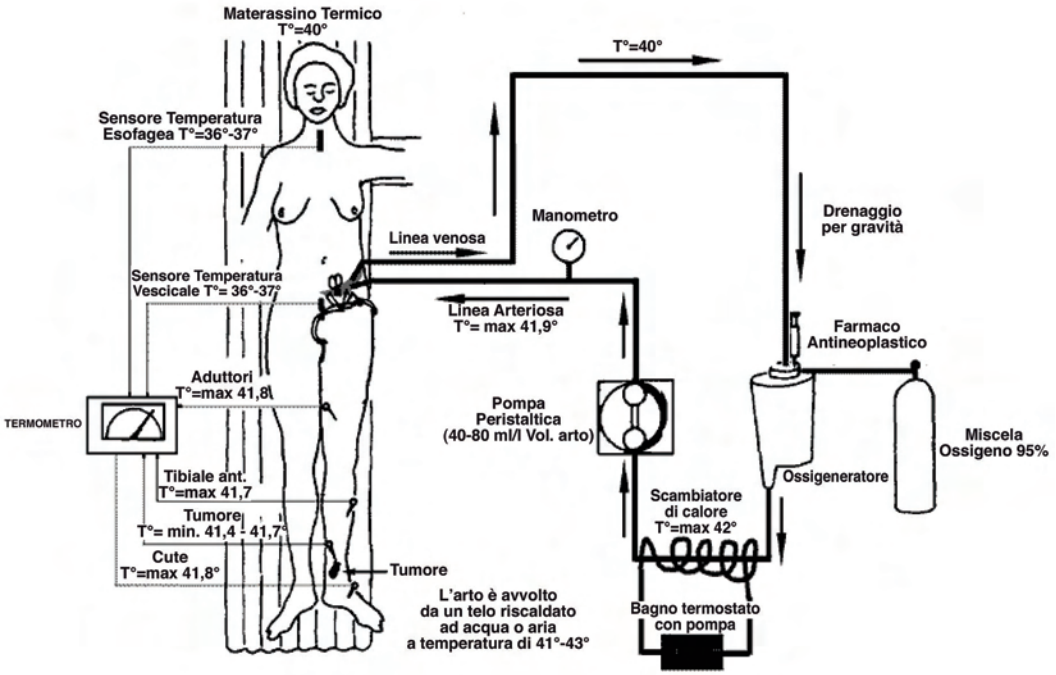
Al termine dell'isolamento dei vasi, il paziente viene eparinizzato (150-200 UI/kg) e, dopo 2-3 minuti, i vasi vengono clampati ed incannulati, previa incisione trasversale dell'arteria e della vena. I due cateteri vengono poi raccordati ad un circuito extracorporeo, composto da un ossigenatore, uno scambiatore di calore ed una pompa. La circolazione extracorporea inizia con un flusso minimo (30 ml/l di volume dell'arto), che viene gradualmente aumentato fino a raggiungere un equilibrio con il ritorno venoso che deve assicurare un livello costante nell'ossigenatore.

Un *tourniquet* viene applicato alla radice dell'arto per ridurre al minimo il *leakage* che si può verificare attraverso la circolazione venosa superficiale. Durante tutto il trattamento, il *leakage* viene costantemente monitorizzato, mediante introduzione di albumina radio marcata nel circuito di perfusione con conteggio della radioattività sistemica mediante "gamma *counter*" posto sull'aia cardiaca.

Il monitoraggio della temperatura muscolare e tumorale viene eseguito mediante inserzione di termocoppie ad ago nei muscoli e nei noduli neoplastici. Vengono inoltre sempre monitorizzati l'ECG, la pressione venosa centrale e la diuresi del paziente. L'arto perfuso, per tutta la durata del trattamento, rimane avvolto in un lenzuoletto ad acqua

termostatata che ha una duplice funzione: diminuire i fenomeni di termodispersione rendendo più breve il tempo di raggiungimento della temperatura tumorale desiderata (~ 41.5°C) ed agire come fonte di riscaldamento esterno efficace per i noduli neoplastici cutanei (metastasi in transito) del melanoma.
Raggiunta la temperatura tumorale desiderata (~ 41.5°C), si introduce nel circuito perfusionale il TNFα alla dose di 1 mg e dopo 30 minuti viene introdotto il Melphalan (13 mg/l di volume dell'arto perfuso o 10 mg/l per l'arto superiore ed inferiore rispettivamente) e la circolazione extracorporea prosegue per altri 60 minuti; nel caso dei sarcomi delle parti molli, si utilizza l'Adriamicina alla dose di 8.5 mg/l di volume o l'Adriamicina liposomiale (CAELYX) al dosaggio di 16 mg/l volume arto.
Al termine della perfusione, il circuito viene "lavato" con soluzione fisiologica e con destrano a basso peso molecolare prima di rimuovere il *tourniquet* e le cannule, le incisioni vasali vengono suturate con prolene 4 e 5 zeri rispettivamente per l'arteria e la vena.
L'arto perfuso viene fasciato con una benda elastica per ridurre al minimo l'edema post-operatorio. A tal fine, il paziente viene mantenuto a diuresi forzata nei primi 5 giorni post-operatori mediante infusione di mannitolo all'1.5% e con supporto idroelettrolitico per evitare il rischio di insufficienza renale dovuta all'eventuale precipitazione di ematina acida nei tubuli, conseguente all'aumento di mioglobina circolante prodotta per effetto della perfusione. La terapia anticoagulante viene proseguita fino alla decima giornata post-operatoria al fine di evitare complicanze vascolari.
Le possibili complicanze possono essere un edema leggero o moderato, un eritema più o meno esteso dell'arto trattato ed il dolore, sintomatologia che generalmente regredisce nell'arco di 15-20 giorni.

Schema della perfusione isolata dell'arto



BIBLIOGRAFIA

1. Creech O Jr, Krementz ET, Ryan RF, Winblad JN. Chemotherapy for cancer: regional perfusion utilizing extracorporeal circuit. *Ann Surg 1958; 148:612-632*
2. Cavaliere R, Giocatto EC, Giovanella BC. Selective heat sensibility of cancer cells: biochemical and clinical studies. *Cancer 1967; 20:1351-81*
3. Sthelin JS. Hyperthermic perfusion with chemotherapy for cancer of extremities. *Surg Gynecol Obstet 1969; 129:305-308*
4. Sthelin JS, Giovanella BC, Gutierrez AE, De Ipoly PD, Greef PJ. Fifteen years experience with hyperthemic perfusion for the treatment of soft tissue sarcoma and malignant melanoma of the extremities. *Front Radiat Ther Oncol 1984; 18:177-182*
5. Eggermont AM, de Wilt JH, Hagen TL. Current uses of isolated limb perfusion in the clinic and a model system for new strategies *Lancet Oncol 2003; 4:429-437*

6. Lienard D, Ewalenko P, Delmotte JJ, Renard N, Lejeune FJ. High-dose recombinant tumor necrosis factor factor-alpha in combination with interferon gamma and melphalan in isolation perfusion of the limbs for melanoma and sarcoma. *J Clin Oncol 1992; 10:52-60*
7. Remco van Horssen T, ten Hagen LM, Eggermont AMM. TNFα in cancer treatment: Molecular insights, antitumor effects and clinical utility. *The Oncol 2006; 11:397-408*
8. Di Filippo F, Giacomini P, Rossi CR, Santinami M, Anzà M, Garinei R, Perri P, Botti C, Di Angelo P, Sofra C, Pasqualoni R, Sperduti I, Cavaliere F, Di Filippo S, Corrias F, Armenti A, Ferraresi V, Ginebri A. Prognostic factors influencing tumor response, locoregional control and survival in melanoma patients with multiple limb in transit metastases treated with TNF alfa based isolated limb perfusion. *In vivo 2009; 23:347-352*
9. Di Filippo F, Giacomini P, Rossi CR, Santinami M, Anzà M, Garinei R, Deraco M, Botti C, Perri P, Cavaliere F, Di Angelo P, Sofra C, Pasqualoni R, Sperduti I, Cavaliere F, Di Filippo S, Corrias F, Armenti A, Ferraresi V. Hyperthermic isolated perfusion with tumor necrosis factor- alfa and doxorubicin for the treatment of limb threatening soft tissue sarcoma: the experience of the italian society of integrated locoregional treatment in oncology (SITILO). *In vivo 2009; 23:363-368*
10. Varker KA, Biber JE, Kefauver C. A Randomized Phase 2 Trial of Bevacizumab with or without randomized phase 2 trial with or without daily low-dose interferon alfa-2b in metastatic malignant melanoma. *Ann Surg Oncol 2007; 14:2367-2376*
11. Moreno-Ramirez D, De la Cruz-Merino L, Ferrantiz L. Isolated limb perfusion for malignant melanoma: systematic review on effectiveness and safety. *Oncologist 2010; 15(4):416-427*
12. Boesch EM, Meyer T, Waschilke L, Merkel S, Goehi J. Long term out come of hyperthermic isolated limp perfusion (HILP) in the treatment of locoregionally metastasised malignant of the extremities. *Int J Hyperthermia 2010; 26:16-20*

Stop-flow

Premessa e principi della metodologia

I pazienti con tumori solidi maligni, localmente avanzati o recidivi, anche se confinati ad una singola regione, hanno prognosi alquanto negativa, con sopravvivenza mediana attorno a 8 mesi.

In questi pazienti, la scelta terapeutica rimane controversa, considerando che spesso il tumore infiltra organi vitali, rendendo impossibile una resezione chirurgica con intenti curativi. I trattamenti convenzionali sono rappresentati dalla chemioterapia sistemica endovenosa, dalla radioterapia e da interventi chirurgici palliativi. Tali modalità terapeutiche ottengono spesso risultati clinici insoddisfacenti, con scarso miglioramento della qualità della vita. Talora, le scadenti condizioni generali presenti nella maggior parte di questi pazienti rendono improponibile ogni forma di trattamento. Al fine di migliorare i risultati clinici, da molti anni la ricerca ha valutato modalità terapeutiche alternative, tra queste sono state proposte e studiate alcune tecniche di chemioterapia loco-regionale. In questo capitolo rientrano le perfusioni oncologiche distrettuali realizzate con la tecnica del blocco del flusso ematico (*stop-flow*). Alcuni cenni storici sono essenziali per un corretto inquadramento dell'argomento. Già nel 1958, negli USA, Creech et al. (1) pubblicarono una tecnica di perfusione in cui il flusso sanguigno di alcune regioni corporee veniva bloccato, con parziale isolamento del distretto perfuso. In particolare, l'aorta e la vena cava inferiore venivano occluse estrinsecamente e perfuse con particolari cannule. La circolazione ematica periferica veniva limitata dal posizionamento di fasce pneumatiche alla radice degli arti. Nel 1960, Watkins et al. (2) descrissero una tecnica di perfusione molto simile, in cui però veniva realizzata un'occlusione endovascolare aorto-cavale, utilizzando cateteri dotati di palloncini gonfiabili. Nel 1987, Wile e Smolin (3) hanno pubblicato uno studio sul trattamento delle neoplasie pelviche refrattarie mediante perfusione pelvica ipertemica. Nel 1994, Aigner e Kaevel (4) hanno proposto una tecnica, che denominarono *stop-flow*, in cui sia l'occlusione dei grossi vasi sia la perfusione venivano eseguite utilizzando solamente due cateteri a palloncino introdotti chirurgicamente attraverso i vasi femorali. Una tecnica simile, basata sull'uso di cateteri ad introduzione percutanea, è stata successivamente messa a punto da Thompson et al. (5).

E' necessario specificare che durante la perfusione addominale, pelvica o delle estremità, si determinano delle variazioni nel microcircolo periferico con conseguente ipossiemia ed acidosi dei tessuti. Al contrario, durante la perfusione del torace, le variazioni del microcircolo sono caratterizzate da un incremento della pressione e dell'ossigenazione sanguigna.
Nonostante siano stati riportati risultati incoraggianti sia in termini di fattibilità sia di azione terapeutica, la scarsità di studi clinici e l'eterogeneità delle casistiche non hanno permesso di attribuire un ruolo preciso alla perfusione con tecnica *stop-flow* nel trattamento delle neoplasie localmente avanzate. In particolare, va precisato che non esistono studi di fase III.

Descrizione della tecnica
Le perfusioni realizzate con la tecnica del blocco del flusso ematico, denominate *stop-flow*, possono riguardare molteplici distretti corporei ed organi. Nella presente trattazione vengono affrontate problematiche inerenti le perfusioni del torace (Figura 1), dell'addome (Figura 2), della pelvi (Figura 3) e della pelvi in associazione ad un arto inferiore (Figura 4). Nelle perfusioni del torace e dell'addome, il blocco ematico aorto-cavale avviene a livello diaframmatico; nelle perfusioni pelviche e di un arto inferiore, il blocco è sottorenale. Nelle perfusioni del torace, la circolazione ematica viene garantita dalla pompa cardiaca, in tutte le altre perfusioni è necessaria una pompa extracorporea. Pur adottando particolari accorgimenti (temperatura attorno ai 26°C in sala operatoria, materassini riscaldati, ecc.), il trattamento comporterebbe l'ipotermia del paziente se non fosse prevista l'utilizzazione di attrezzature specifiche per la circolazione extracorporea con riscaldamento ematico. La realizzazione di un'occlusione aorto-cavale endovascolare e l'allestimento di una circolazione ematica extracorporea, finalizzata alla perfusione antiblastica ed eventualmente alla detossificazione, presuppongono l'utilizzazione di particolari cateteri che possono essere introdotti mediante preparazione vascolare chirurgica o con approccio percutaneo. Si distinguono, pertanto, una tecnica chirurgica ed una tecnica percutanea.

Figura 1 **Schema della Perfusione Toracica con tecnica *stop-flow* e del circuito extracorporeo che incorpora le attrezzature per l'emofiltrazione ed il riscaldamento ematico**

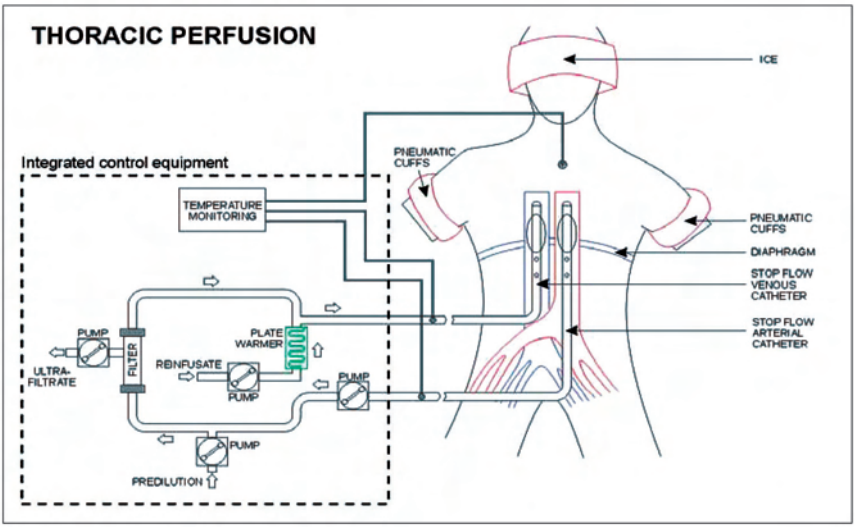


Figura 2 **Schema della Perfusione Addominale con tecnica *stop-flow* e del circuito extracorporeo che incorpora le attrezzature per l'emofiltrazione ed il riscaldamento ematico**

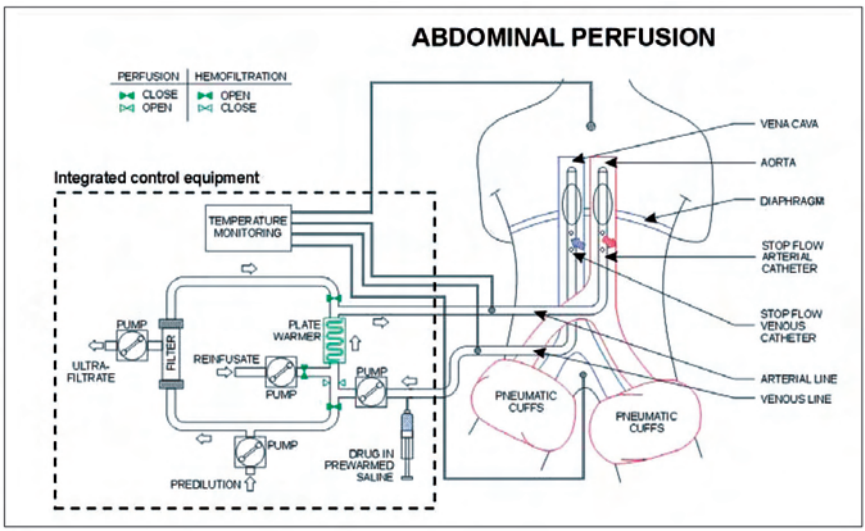


Figura 3 **Schema della Perfusione Pelvica con tecnica *stop-flow* e del circuito extracorporeo che incorpora le attrezzature per l'emofiltrazione ed il riscaldamento ematico**

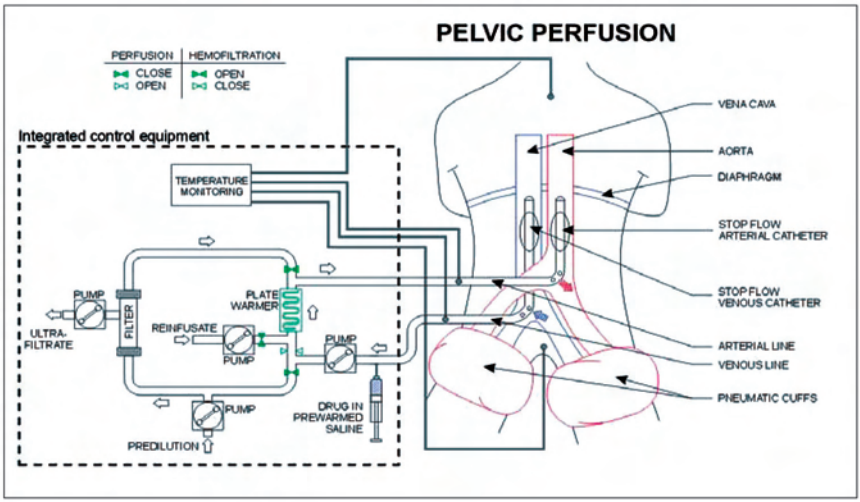
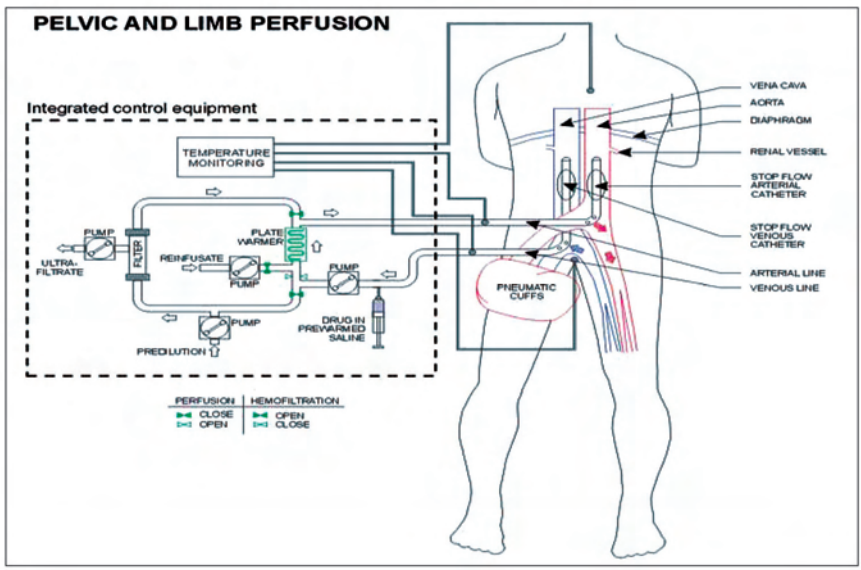


Figura 4 **Schema della Perfusione della Pelvi e di un arto inferiore con tecnica *stop-flow*. Il circuito extracorporeo incorpora le attrezzature per l'emofiltrazione ed il riscaldamento ematico**



Tecnica chirurgica: la procedura viene effettuata in anestesia generale. Successivamente all'incisione cutanea inguinale, vengono isolate e preparate l'arteria femorale comune e la vena safena. L'interruzione dei vasi linfatici deve preferenzialmente avvenire tra legature al fine di limitare il rischio di linforragia post-operatoria. Nei vasi vengono introdotti due particolari cateteri da 12 French, preventivamente eparinizzati, dotati di tre lumi e di palloni gonfiabili posti all'estremità. Una via dei cateteri consente la circolazione ematica, una seconda permette il gonfiaggio e la deflazione del pallone, la terza il posizionamento di una guida 0.035 "J" (teflonata o idrofila). L'introduzione dei cateteri ed il posizionamento dei palloni al livello prescelto (diaframmatico o sottorenale) devono avvenire sotto controllo radioscopico e preferenzialmente su guida, onde ridurre il rischio di complicanze vascolari. Dopo il gonfiaggio dei palloni è consigliabile eseguire un'aorto-cavografia. L'intervallo di tempo che intercorre tra l'occlusione aortica e quella cavale non dovrebbe superare i 10 secondi al fine di prevenire disturbi emodinamici. La durata complessiva dell'occlusione aorto-cavale non dovrebbe superare 30-40 minuti, al fine di prevenire complicanze ipossiche tessutali (le più precoci sono quelle a carico dello sfintere anale). Il blocco del flusso ematico nelle estremità, realizzato mediante il posizionamento di fasce pneumatiche alla radice degli arti superiori (perfusioni toraciche) od inferiori (tutte le altre), non dovrebbe durare oltre il tempo dell'occlusione aorto-cavale. Nelle perfusioni toraciche il monitoraggio arterioso emodinamico può avvenire esclusivamente mediante rilevazione aortica. La deflazione e l'estrazione dei cateteri devono avvenire sotto controllo radioscopico. Estratti i cateteri, si deve procedere alla sutura dei vasi ed alla chiusura della ferita chirurgica.

Tecnica percutanea: la procedura viene effettuata in anestesia generale. Il materiale necessario è rappresentato innanzitutto da due introduttori da 11 French con valvola emostatica e dilatatore. Per le perfusioni del torace e dell'addome, uno dei due introduttori, quello arterioso, deve essere lungo 25-30 cm. Quello venoso può essere lungo 10 cm. Sono inoltre necessari due cateteri da 7 French, dotati di palloni gonfiabili in prossimità della punta. La distanza tra pallone gonfiabile e punta del catetere deve essere maggiore nel catetere arterioso che nel venoso, per ridurre il rischio di inginocchiamento durante il gonfiaggio.

La tecnica prevede la puntura percutanea dell'arteria e della vena femorale eseguite in lati separati (preferibilmente l'arteria a destra e la vena a sinistra), per evitare rischi di fistole artero-venose. Dopo aver punto l'arteria femorale con un ago di Seldinger 18 Gauge, s'introduce nel vaso una guida teflonata 0.035 "J" o, in caso di particolare tortuosità dell'arteria iliaca, una guida idrofila. Si fa procedere sulla guida un catetere diritto da 5 French sino in aorta e si esegue aortografia per localizzare le arterie renali, l'arteria celiaca e l'arteria mesenterica superiore. Successivamente, si inserisce una guida *Amplatz Super Stiff* (lunghezza 180 cm) nel catetere diagnostico. Si rimuove poi il catetere e si dilata il tessuto sottocutaneo con un dilatatore da 10 French.
E' utile lubrificare la parete interna dell'introduttore e la parete esterna del dilatatore per ridurre la frizione tra il pallone del catetere e la parete dell'introduttore.
Dopo aver posizionato l'estremità distale dell'introduttore nell'aorta addominale al livello opportuno per il tipo di perfusione (addominale-toracica o pelvica), si estrae rapidamente il dilatatore e si inserisce il catetere sulla guida *Amplatz*. L'uso di tale guida serve a ridurre i rischi di inginocchiamento e di dislocazione del catetere quando il pallone è gonfio. Il pallone del catetere arterioso deve fuoriuscire completamente ed abbondantemente dall'introduttore. Sia per la verifica della posizione sia per il gonfiaggio completo è conveniente usare una miscela di soluzione fisiologica (2/3) e di contrasto (1/3).
La circolazione ematica e la perfusione avverranno nello spazio compreso tra la parete dell'introduttore e l'asta del catetere, spazio che corrisponde ad un lungo cilindro cavo centralmente, alla cui sommità il sangue entra od esce dal vaso da una superficie circolare, ma ad anello.
Si punge poi la vena femorale controlaterale, ripetendo tutta la procedura allo stesso modo. L'introduttore venoso è più corto.
Terminata la procedura ed estratti cateteri ed introduttori, si deve procedere ad emostasi per compressione che, per le dimensioni dei fori sui vasi, non può durare meno di 30-40 minuti. Le caratteristiche dell'occlusione aorto-cavale e del blocco vascolare nelle estremità sono identiche a quelle descritte nella tecnica chirurgica.

Note anestesiologiche ed emodinamiche

Queste procedure non comportano particolari stimoli dolorosi per il paziente, richiedono altresì l'immobilità assoluta ed un monitoraggio emodinamico complesso. Studi dedicati hanno precisato che le

modificazioni emodinamiche e dell'ossigenazione, più profonde nelle perfusioni toraciche ed addominali rispetto alle pelviche, sono reversibili. Varrassi et al. (6) hanno recentemente dimostrato che la cateterizzazione dell'arteria polmonare è necessaria solo nei pazienti ad alto rischio cardiaco.

Emofiltrazione

Al termine dell'occlusione aorto-cavale, le sostanze antiblastiche si distribuiscono in tutto il sangue ed in tempi variabili nei tessuti corporei. Al fine di ridurre la citotossicità sistemica, sono state proposte varie metodiche, alcune meccaniche altre che comportano la detossificazione ematica. Studi dedicati (7) hanno dimostrato l'utilità dell'emofiltrazione realizzabile mediante specifiche attrezzature poste nel circuito extracorporeo. Al termine della perfusione, è possibile utilizzare la circolazione ematica extracorporea per effettuare un'emofiltrazione che dovrebbe durare almeno 45 minuti. Con tale accorgimento, si riducono le complicanze tossiche immediate post-operatorie (ad esempio quelle renali) e la tossicità tardiva cumulata.

Patologie target

La perfusione oncologica distrettuale effettuata con la tecnica denominata *stop-flow* è stata utilizzata per il trattamento di differenti tipi istologici di neoplasie con origine nel tronco e nelle estremità. Le indicazioni per le quali sono stati pubblicati articoli originali su riviste a larga diffusione internazionale e con significativo *impact factor* sono, tuttavia, limitate. L'indicazione più documentata è indubbiamente rappresentata dal cancro del retto recidivo non-resecabile (8), seguita dal carcinoma del pancreas localmente avanzato (9), dai linfomi toracici refrattari (10), dai cancri polmonari refrattari non a piccole cellule (11), dal melanoma recidivo pelvico e degli arti (12-13) e dal mesotelioma pleurico maligno (14).

La scelta del farmaco o dei farmaci utilizzabile/i per le perfusioni è condizionata principalmente dalle caratteristiche istologiche del tumore e secondariamente dalla differente efficacia di alcune molecole (Melphalan, Doxorubicina e Mitomicina C) sulle cellule tumorali ipossiche (8).

Ad esempio, per il trattamento dei pazienti con carcinoma rettale recidivo (8) è stata utilizzata Mitomicina C alla dose di 25 mg/m^2. Per il trattamento del carcinoma pancreatico avanzato (9) è stata

somministrata un'associazione di Cisplatino (80 mg/m^2) e Mitomicina C (20 mg/m^2); per i linfomi toracici (10), una miscela di Cisplatino, Melphalan ed Epirubicina; per il carcinoma non a piccole cellule refrattario del polmone (11), Mitomicina C (10 mg/m^2), Navelbina (25 mg/m^2) e Cisplatino (30 mg/m^2); per il melanoma recidivo a localizzazione pelvica e delle estremità (12), Melphalan (25 mg/m^2), Cisplatino (50 mg/m^2), Dacarbazide (300 mg/m^2) ed Epirubicina (75 mg/m^2). Per la terapia del melanoma recidivo delle estremità (13), sono stati adottati due differenti schemi chemioterapici: il primo a base di solo Melphalan alla dose di 50 mg/m^2 ed il secondo associando al Melphalan la Mitomicina C (25 mg/m^2). Per il mesotelioma pleurico maligno (14), Cisplatino (100 mg/m^2) e Mitomicina C (20 mg/m^2).

Stato dell'arte (risultati validati ed interlocutori)

La non-omogeneità delle casistiche e delle metodologie rappresenta l'elemento determinante quando si affronta la problematica dell'efficacia e della riproducibilità di queste procedure; le controversie sui risultati della perfusione addominale nel trattamento del carcinoma pancreatico avanzato costituiscono in tal senso argomento esemplificativo (9). Per tale ragione, appare più utile esaminare i risultati ottenuti in studi di fase II. Sinteticamente, pur rimandando alle singole pubblicazioni per i dettagli delle complicanze e della tossicità, è importante sottolineare che non si sono verificate morti correlate alla procedura e che la morbilità specifica e la tossicità immediata si sono dimostrate accettabili. In questa sede, i risultati vengono riportati in termini di sopravvivenza media.

La mediana di sopravvivenza dei pazienti è stata di 12.2 mesi per il carcinoma rettale recidivo (8), 9.6 mesi per il carcinoma pancreatico avanzato (9), 16.6 mesi per i linfomi toracici refrattari a precedente chemioterapia (10), 21 mesi per i carcinomi polmonari non a piccole cellule recidivi o refrattari (11), 32.4 mesi per il melanoma recidivo pelvico (12), 23.8 mesi per il melanoma recidivo degli arti (13) e 17 mesi per i mesoteliomi pleurici maligni in progressione dopo chemioterapia sistemica (14).

Considerando che la perfusione con tecnica *stop-flow* è un'opzione terapeutica riservata a pazienti selezionati (fallimenti o controindicazioni ai trattamenti convenzionali), questi risultati vanno giudicati come estremamente incoraggianti.

Prospettive future

Le prospettive future sono principalmente legate allo sviluppo delle biotecnologie. Ad esempio, la realizzazione di moderne attrezzature permette di studiare il ruolo di agenti antitumorali diversi dai farmaci antiblastici, tra questi, in primo luogo, l'ipertermia. L'ipertermia è in grado, infatti, di migliorare la capacità tossica dei citostatici sulle cellule tumorali attraverso una migliore perfusione tessutale, un potenziamento dell'attività sinergica dei farmaci, un aumento del rilascio delle proteine dello *shock* termico ed una riduzione del pH tessutale neoplastico. Il problema principale riscontrato in questa linea di ricerca è rappresentato dalla breve durata della perfusione effettuata con la tecnica dello *stop-flow* (circa 30 minuti), che rende difficile un significativo incremento della temperatura nel tessuto tumorale. Correlati all'evoluzione delle biotecnologie sono i progressi della genetica tumorale. Le più approfondite conoscenze delle caratteristiche genetiche delle singole neoplasie sono alla base di una chemioterapia "personalizzata" per il singolo paziente. La possibilità di utilizzare schemi chemioterapici "personalizzati" sembra rappresentare un punto fondamentale per il miglioramento dei risultati clinici. Test di chemiosensibilità pre-operatoria possono essere eseguiti prelevando tessuto tumorale o sul sangue periferico; tali test si basano sull'espressione e quantizzazione di geni su culture multiple di cellule tumorali. Attualmente, è possibile testare più di 30 differenti chemioterapici e valutare l'esistenza e l'espressione di meccanismi di resistenza tumorale.

BIBLIOGRAFIA

1. Creech O, Krementz ET, Ryan RF, Winbald JN. Chemotherapy of cancer: regional perfusion utilizing an extracorporeal circuit. *Ann Surg 1958; 148:616-632*
2. Watkins E, Hering AC, Luna R, Adams HD. The use of intravascular balloon catheters for isolation of the pelvic vascular bed during pump-oxigenator perfusion of cancer chemotherapeutic agents. *Surg Gynecol Obstet 1960; 111:464-468*
3. Wile A, Smolin M. Hyperthermic pelvic isolation-perfusion in the treatment of refractory pelvic cancer. *Arch Surg 1987; 122:1321-1325*

4. Aigner KR, Kaevel K. Pelvic stop-flow infusion (PSI) and hypoxic pelvic perfusion (HPP) with mitomycin and melphalan for recurrent rectal cancer. *Reg Cancer Treat 1994; 7:6-11*
5. Thompson JF, Liu M, Waugh RC et al. A percutaneous aortic "stop-flow" infusion technique for regional cytotoxic therapy of the abdomen and pelvis. *Reg Cancer Treat 1994; 7:202-207*
6. Varrassi G, Guadagni S, Ciccozzi A et al. Hemodynamic variations during thoracic and abdominal stop-flow regional chemotherapy. *Eur J Surg Oncol 2004; 30:377-383*
7. Guadagni S, Aigner KR, Palumbo G et al. Pharmacokinetics of mitomycin C in pelvic stop-flow infusion and hypoxic pelvic perfusion with and without hemofiltration: a pilot study of patients with recurrent unresectable rectal cancer. *J Clin Pharmacol 1998; 38:936-944*
8. Guadagni S, Fiorentini G, Palumbo G et al. Hypoxic pelvic perfusion with mitomycin C using a simplified balloon-occlusion technique in the treatment of patients with unresectable locally recurrent rectal cancer. *Arch Surg 2001; 136:105-112*
9. Guadagni S, Clementi M, Valenti M et al. Hypoxic abdominal stop-flow perfusion in the treatment of advanced pancreatic cancer: a phase II evaluation/trial. *Eur J Surg Oncol 2007; 33:72-78*
10. Ruscitti C, Guadagni S, Russo F et al. Thoracic stop-flow perfusion for refractory lymphoma: a phase I-II evaluation trial. *In Vivo 2009; 23:447-457*
11. Müller H, Guadagni S. Regional chemotherapy for carcinoma of the lung. *Surg Oncol Clin N Am 2008; 17:895-917*
12. Guadagni S, Russo F, Rossi CR et al. Deliberate hypoxic pelvic and limb chemoperfusion in the treatment of recurrent melanoma. *Am J Surg 2002; 183:28-36*
13. Guadagni S, Santinami M, Patuzzo R et al. Hypoxic pelvic and limb perfusion with melphalan and mitomycin C for recurrent limb melanoma: a pilot study. *Melanoma Res 2003; 13:51-58*
14. Guadagni S, Clementi M, Valenti M et al. Thoracic stop-flow perfusion in the treatment of refractory malignant pleural mesothelioma: a phase I-II evaluation/trial. *In Vivo 2006; 20:715-718*

Citoriduzione chirurgica più Chemio Ipertermia Intra-Toracica (CIIT)

La Citoriduzione chirurgica in ambito toracico associata a Chemio Ipertermia Intra-Toracica (CIIT) viene impiegata in protocolli multidisciplinari nel trattamento del mesotelioma pleurico maligno di istologia epitelioide (MPM) ed in rari casi di carcinosi pleurica diffusa da timoma (1) o neoplasia polmonare, solitamente adenocarcinoma in stadio avanzato, in cui si è ottenuta una stabilizzazione o riduzione della patologia, presente solo in un singolo emitorace, per un lungo periodo di tempo (circa un anno), grazie all'impiego di chemioterapia sistemica eventualmente associata a radioterapia (vedi cap. 3.4).
Tutti i pazienti devono essere valutati in modo multidisciplinare da un gruppo dedicato al trattamento del mesotelioma, composto da chirurgo toracico, pneumologo, oncologo medico, radioterapista e farmacologo. Il paziente viene ricoverato 2-3 giorni prima dell'intervento per essere sottoposto a fisiochinesiterapia respiratoria ed al protocollo d'idratazione e terapia con eparine a basso peso molecolare, unitamente ad un'adeguata toilette intestinale dal giorno prima.
In ambito toracico, più che ad una chirurgia citoriduttiva, che per definizione ammette la possibile presenza di eventuali microresidui di dimensioni non superiori a 2.5 mm, si deve pensare ad una chirurgia radicale macroscopica senza lasciare in sede alcun residuo neoplastico. Due tipologie di operazioni vengono descritte in letteratura ed applicate: la pleuropneumonectomia extrapleurica estesa (PPE) e la pleurectomia e decorticazione (PD). L'obiettivo della chirurgia nel trattamento multimodale deve essere, infatti, la completa resezione con terapie adiuvanti dirette su residui microscopici. Studi multicentrici di queste due tipologie d'intervento giungono alla conclusione che l'uso della PD nello stadio I del mesotelioma pleurico può essere fattibile con una completa resezione, ma la PPE offre vantaggi in termini di sopravvivenza. Per lo stadio II, la PPE dimostra possibili vantaggi, mentre nello stadio III importante è l'abilità nel raggiungere la completa resezione anche in presenza di malattia N2, mentre nello stadio IV i pazienti hanno una migliore sopravvivenza se il polmone è lasciato in sede (2). In pazienti ritenuti in stadio clinico I o II con riscontro intra-operatorio di stadio III o IV, in cui non può essere raggiunta la radicalità chirurgica macroscopica con l'intervento di PPE, si può ricorrere ad una PD la più accurata possibile in senso citoriduttivo con miglioramento della sopravvivenza nell'istologia

epitelioide (3). La scelta del tipo di resezione deve essere fatta in considerazione dell'estensione di malattia, comorbidità del paziente e tipo di terapia multimodale programmata (4), vista anche l'importanza dell'intervento a cui viene sottoposto il paziente, sia dal punto di vista generale sia respiratorio e cardiaco, quando è candidato a PPE, in cui si prevede l'asportazione in blocco di polmone, pleura, pericardio e diaframma omolaterali.
Quando, invece, per motivi funzionali respiratori o cardiaci l'intervento maggiore non è eseguibile, si può procedere ad un'accurata PD polmonare macroscopicamente radicale con successiva CIIT con discreti risultati di sopravvivenza e qualità di vita rispetto al non intervento od al solo intervento di PD (5).
Entrambe le operazioni sono tecnicamente complesse e dovrebbero essere eseguite in Centri con grande esperienza in termini di numerosità di pazienti operati (6).
In caso di idoneità, i pazienti candidati all'intervento con CIIT devono essere sottoposti ad un protocollo d'idratazione, quale quello messo a punto dalla Divisione di Chirurgia Toracica degli Spedali Civili di Brescia in collaborazione con oncologi e nefrologi al fine di evitare una tossicità cardiologica e renale:

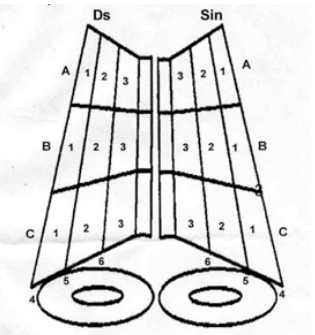
12 ORE PRIMA DELLA CHIRURGIA:	*SOLUZIONE FISIOLOGICA 500 ml* *5% SOLUZIONE GLUCOSATA 500 ml* *1/6 MOL BICARBONATO 250 ml*
DURANTE LA CHIRURGIA:	*SOLUZIONE FISIOLOGICA 1.000 ml + 20 mEq NaCl* *SOLUZIONE FISIOLOGICA 1.000 ml + 2 g Mg SOLFATO*
DURANTE ICC:	*Na TIOSOLFATO 12 g/m^2 IN 2 ORE*
DOPO CHIRURGIA:	*Na TIOSOLFATO 15 g/m^2 IN 12 ORE* *SOLUZIONE FISIOLOGICA 1.000 ml + 20 mEq NaCl x 2* *SOLUZIONE FISIOLOGICA 1.000 ml + 2 g Mg SOLFATO*
NEI 5 GIORNI SEGUENTI:	*5% SOLUZIONE GLUCOSATA 500 ml x 2* *SOLUZIONE FISIOLOGICA 500 ml* *Mg SOLFATO 1 g*

Alla pre-anestesia il paziente riceve una profilassi antibiotica, che perdurerà fino a quando manterrà il drenaggio toracico. In sala operatoria si procede al posizionamento di sondino nasogastrico, misurazione pressione arteriosa cruenta radiale, posizionamento di catetere venoso centrale, catetere epidurale, sia per l'anestesia sia per l'analgesia e catetere vescicale. L'intervento chirurgico avviene, come descritto in letteratura (7), con intubazione a doppio lume e si esegue posizionando il paziente sul fianco procedendo a toracotomia postero laterale in VII spazio intercostale, asportazione settima costa e preparazione di muscolo intercostale peduncolizzato con legatura del peduncolo vascolo-nervoso anteriore per essere utilizzato a protezione del moncone bronchiale. Altri Autori impiegano come protezione del moncone bronchiale altri *flap* muscolari (8). Importante è l'escissione dei tramiti di precedenti toracoscopie o drenaggi toracici, quasi sempre infiltrati da mesotelioma, nella toracotomia o con incisioni accessorie. Altri Autori descrivono la necessità di doppia toracotomia per controllo, resezione e ricostruzione diaframmatica. La resezione chirurgica avviene in blocco per via extra-pleurica con asportazione di pleura parietale adesa al polmone, emipericardio ed emidiaframma omolaterali. I vasi arteriosi, venosi ed il bronco possono essere suturati sia manualmente sia con l'impiego di suturatrici meccaniche. La ricostruzione del pericardio e del diaframma può essere confezionata con *patch* di pericardio bovino o di altri materiali sintetici fissati a punti staccati con filamento intrecciato non riassorbibile.
Al termine dell'intervento vengono eseguite biopsie diffuse della parete toracica interna, secondo lo Schema 1, al fine di definire non solo una radicalità macroscopica, ma anche microscopica. Tali biopsie vengono considerate come margini chirurgici di exeresi ed in caso di positività all'esame istologico definitivo sono d'ausilio per potenziare l'intensità di dose dell'IMRT (*Intensity-Modulated Radiation Therapy*) nel quadrante interessato da persistenza microscopica di malattia.

Schema 1 Quadranti intra-toracici, biopsie e margini di resezione

MESOTELIOMA PLEURICO

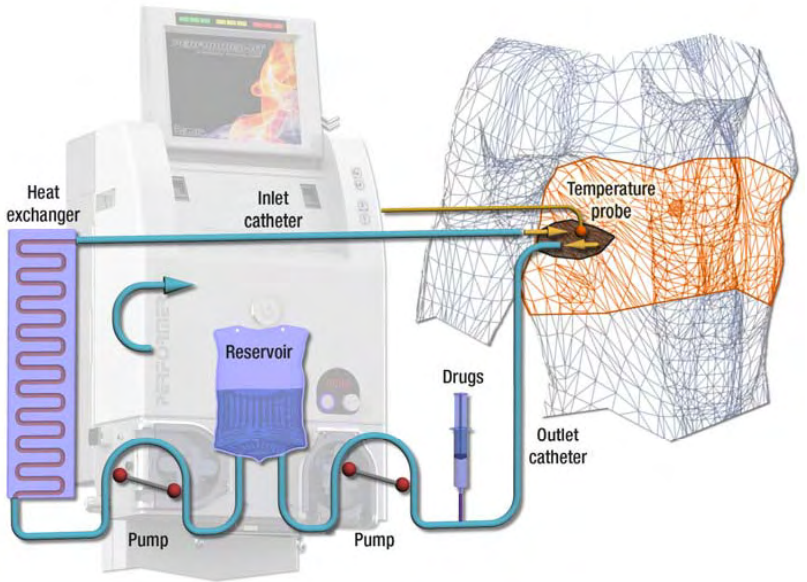
MARGINI DI EXERESI



A: terzo superiore
B: terzo medio
C: terzo inferiore
1: settore anteriore
2: settore medio
3: settore posteriore
4: seno costofrenico anteriore
5: seno costofrenico medio
6: seno costofrenico posteriore

Successivamente, deve essere eseguita una coagulazione diffusa con argon del cavo toracico anche a scopo citoriduttivo microscopico. Vengono di norma posizionati nel cavo toracico 2 drenaggi per l'infusione ed il ricircolo del liquido (1 anteriore ed 1 posteriore) e 5 sonde di temperatura (1 ingresso ed 1 uscita liquido di lavaggio e 3 sonde intra-toraciche). Una volta suturata definitivamente la toracotomia per strati, dopo protezione del moncone bronchiale con muscolo intercostale peduncolizzato, inizia il lavaggio del cavo toracico con macchina da perfusione extracorporea dedicata dotata di un sistema di pompe, scambiatore di calore, circuito extracorporeo, sistemi integrati di controllo delle temperature, delle pressioni e del flusso, gestione delle sonde di temperatura per la valutazione costante della temperatura intra-toracica (Schema 2).

Schema 2 Circuito extracorporeo per CIIT



Nella tecnica con torace chiuso, la toracotomia viene chiusa definitivamente per strati e la cute con *agraphes*, mentre nella tecnica a torace aperto, descritta da Sugarbaker, l'emitorace è coperto con uno strato di materiale plastico ed il vapore dei farmaci viene aspirato per proteggere l'*équipe* di sala operatoria (9).

Il protocollo prevede l'introduzione di un *priming*, che riempie il circuito, più circa 3-4 litri di soluzione fisiologica nel cavo toracico fino a raggiungerne il riempimento. La temperatura del liquido di lavaggio viene gradualmente portata da 37°C a 42.5°C in circa 30 minuti per evitare ipotensioni e successivamente inizia il lavaggio con chemioterapia ipertermica intra-operatoria toracica (CIIT). Si somministra Cisplatino alla dose di 150-200 mg/m^2 diluito nella soluzione fisiologica presente nel cavo toracico a 42.5°C per 60 minuti. Nel 2007, de Bree et al. (10) descrivono anche la possibilità di un'associazione di Cisplatino e Doxorubicina senza evidenza di cardiotossicità dovuta a quest'ultimo farmaco.

La CIIT viene eseguita all'interno del solo cavo toracico cercando il più possibile di non aprire il peritoneo o, quando ciò avviene, di richiuderlo immediatamente per evitare una propagazione del mesotelioma a livello addominale. Nella tecnica descritta da Sugarbaker viene completamente asportato non solo il diaframma, come nella tecnica sopra descritta, ma anche il peritoneo sottostante e si esegue un lavaggio sia della cavità toracica sia addominale (11).
Al termine della perfusione ipertermia, si procede a svuotamento del cavo ed al successivo lavaggio dell'emitorace con soluzione antibiotica (Vancomicina 3 g) e pro-coagulante (Acido Tranexamico 2.5 g) diluiti in 500 ml di soluzione fisiologica e successivo svuotamento dell'emitorace operato. Un drenaggio toracico deve essere rimosso in camera operatoria e si può procedere a toracoscopia con biopsie della parete toracica con carotaggio toracoscopico attraverso il tramite del drenaggio rimosso al fine di documentare le concentrazioni tessutali post CIIT. Il successivo risveglio del paziente avviene, monitorato, in ambiente rianimatorio cardio-toracico per un periodo di circa 24 ore. I pazienti ricevono un trattamento con plasma fresco congelato ed albumina in quantità tale da mantenere adeguato il livello sierico.
Possono essere dosate le concentrazioni tessutali di Cisplatino intra-toraciche che si ottengono con tale metodica mediante biopsie e studi di farmacocinetica.
La tossicità acuta viene valutata mediante controlli ematici giornalieri dei parametri emocromocitometrici, della funzionalità renale ed epatica, Rx torace e visite cliniche accurate chirurgico-oncologiche. La tossicità tardiva, così come le complicanze, vengono valutate durante le visite di *follow-up* e terapeutiche, a cui ogni paziente viene avviato. I pazienti vengono seguiti dopo la dimissione con un controllo a 15 giorni con nuovo Rx torace e visite cliniche chirurgiche mensili per i primi 3 mesi e poi ogni 3 mesi.
L'obiettività di assenza di tumore o ripresa di malattia alla fine del protocollo viene studiata con nuova PET-TC *total body* e visita clinica chirurgico-oncologica. Successivamente, ogni 3 mesi vengono eseguiti un Rx torace ed una visita di controllo ed ogni 6 mesi PET-TC.
Il dosaggio di Cisplatino nel liquido di lavaggio, per calcolare la dose totale di farmaco assorbita dal paziente, viene effettuato prima dell'inizio del lavaggio nella soluzione contenente fisiologica + Cisplatino (10 ml di liquido) ed alla fine del lavaggio nella soluzione

derivante dallo svuotamento del cavo residuo al lavaggio (10 ml), prima del lavaggio con soluzione antibiotica e pro-coagulante.
Successivamente all'intervento, viene eseguito il seguente protocollo di monitoraggio dei dosaggi di Cisplatino nel sangue e nelle urine, che consiste in un prelievo di 7 ml di sangue eparinato e 20 ml di urina alla fine, dopo 6 e 12 ore del lavaggio chemioterapia. Viene eseguita una successiva analisi giornaliera di 20 ml di urina prodotta nelle 24 ore fino alla dimissione del paziente. Si ottengono così i valori del platino totale nel sangue, nel plasma e nelle urine (12).

BIBLIOGRAFIA

1. de Bree E, van Ruth S, Baas P, Rutgers EJ, van Zandwijk N, Witkamp AJ, Zoetmulder FA. Cytoreductive surgery and intraoperative hyperthermic intrathoracic chemotherapy in patients with malignant pleural mesothelioma or pleural metastases of thymoma. *Chest 2002 Feb; 121(2):480-7 PMID: 11834661*
2. Flores RM. Surgical options in malignant pleural mesothelioma: extrapleural pneumonectomy or pleurectomy/decortication. *Semin Thorac Cardiovasc Surg 2009 Summer; 21(2):149-53 PMID:19822286*
3. Neragi-Miandoab S, Richards WG, Sugarbaker DJ. Morbidity, mortality, mean survival, and the impact of histology on survival after pleurectomy in 64 patients with malignant pleural mesothelioma. *Int J Surg 2008 Aug; 6(4):293-7 Epub 2008 May 1 PMID:18585112*
4. Flores RM, Pass HI, Seshan VE, Dycoco J, Zakowski M, Carbone M, Bains MS, Rusch VW. Extrapleural pneumonectomy versus pleurectomy/decortication in the surgical management of malignant pleural mesothelioma: results in 663 patients. *J Thorac Cardiovasc Surg 2008 Mar; 135(3):620-6 PMID:18329481*
5. Richards WG, Zellos L, Bueno R et al. Phase I to II study of pleurectomy/decortication and intraoperative intracavitary hyperthermic cisplatin lavage for mesothelioma. *J Clin Oncol 2006; 24:1561-67*
6. Wolf AS, Daniel J, Sugarbaker DJ. Surgical techniques for multimodality treatment of malignant pleural mesothelioma: extrapleural pneumonectomy and pleurectomy/decortication. *Semin Thorac Cardiovasc Surg 2009 Summer; 21(2):132-48 PMID:9822285*
7. Bovolato P. et al. "Intraoperative hyperthermic chemotherapy with cisplatin in the combined treatment of pleural mesothelioma: preliminary results." *Eur J Oncol - Vol 12 - N 3 - September 2007*
8. Beshay M, Carboni G, Hoksch B, Reymond MA, Schmid RA. The role of muscle flap in preventing bronchus stump insufficiency after

pneumonectomy for malignant pleural mesothelioma in high-risk patients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg 2008 Aug; 7(4):621-4; discussion 624-5 Epub 2008 Apr 1 PMID:18381361*

9. Mujoomdar AA, Sugarbaker DJ. Hyperthermic chemoperfusion for the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Semin Thorac Cardiovasc Surg 2008 Winter; 20(4):298-304 PMID:19251168*
10. de Bree E, van Ruth S, Schotborgh CE, Baas P, Zoetmulder FA. Limited cardiotoxicity after extensive thoracic surgery and intraoperative hyperthermic intrathoracic chemotherapy with doxorubicin and cisplatin. *Ann Surg Oncol 2007 Oct; 14(10):3019-26 PMID:17638057*
11. Tilleman TR, Richards WG, Zellos L, Johnson BE, Jaklitsch MT, Mueller J, Yeap BY, Mujoomdar AA, Ducko CT, Bueno R, Sugarbaker DJ. Extrapleural pneumonectomy followed by intracavitary intraoperative hyperthermic cisplatin with pharmacologic cytoprotection for treatment of malignant pleural mesothelioma: a phase II prospective study. *J Thorac Cardiovasc Surg 2009 Aug; 138(2):405-11*
12. Micheletti E, La Face B, Bianchi E et al. Continuous infusion of carboplatin during conventional radiotherapy treatment in advanced squamous carcinoma of the Cervix Uteri IIB-IIIB (UICC). *Am J Clin Oncol (CCT) 1997; 20(6):613-20*

Citoriduzione chirurgica e Chemio Ipertermia Intra-Peritoneale (CIIP)

Premessa

I tumori peritoneali, sia primitivi sia metastatici, sono stati tradizionalmente considerati quali condizioni terminali. Durante gli ultimi due decenni, le nuove conoscenze riguardanti la loro storia naturale, l'applicazione di tecniche chirurgiche innovative e di trattamenti loco-regionali hanno condotto a nuove prospettive terapeutiche. Il vantaggio teorico dell'associazione della Chirurgia Citoriduttiva (CCR) con la Chemio Ipertermia Intra-Peritoneale (CIIP) consiste nell'ottenere una completa eradicazione della neoplasia; a ciò contribuiscono, in una singola procedura, una fase chirurgica definita citoriduzione macroscopica ed una fase farmacologica definita citoriduzione microscopica. Nel corso degli anni, numerosi studi clinici condotti da diversi Centri hanno dimostrato la fattibilità, l'efficacia e la sicurezza della CCR e CIIP.

Il concetto di CCR è stato introdotto da Sugarbaker, a cui si deve la standardizzazione della metodica (1-3). Con tale terminologia, si indica la completa asportazione della malattia neoplastica mediante manovre chirurgiche definite di peritonectomia (Tabella 1). Molto frequentemente si associano delle resezioni multi-organo, in conseguenza dell'interessamento degli stessi da parte della malattia neoplastica. Spesso i termini di peritonectomia e CCR sono utilizzati come sinonimi, pur esprimendo contenuti diversi.

Le manovre di peritonectomia hanno, nel tempo, subito delle variazioni tecniche rispetto a quelle standardizzate e descritte inizialmente (Tabella 2), adattandosi alle esigenze dei singoli chirurghi che le hanno adottate ed applicate a sempre più estese indicazioni (4-5).

Tabella 1 Procedure di Peritonectomia secondo Sugarbaker

Regioni	*Procedure di Peritonectomia*	*Resezioni Viscerali Associabili*
Superiore Destra	Peritonectomia Diaframmatica destra Exeresi capsula di Glisson	
Superiore Sinistra	Peritonectomia Diaframmatica sinistra	
Antero-laterale	Omentectomia, Peritonectomia parietale bilaterale	Splenectomia, Appendectomia, Colectomia destra
Sotto Epatica	Resezione del Piccolo Omento e della Borsa Omentale	Gastrectomia parziale o totale, Colecistectomia
Pelvi	Peritonectomia Pelvica	Sigmoidectomia, Isterectomia, Annessectomia bilaterale

Tabella 2 Procedure di Peritonectomia presso l'Istituto Tumori di Milano

Regioni	*Procedure di Peritonectomia*	*Resezioni Viscerali Associabili*
Peritonectomia Superiore Destra	Peritonectomia Diaframmatica destra, exeresi della Capsula di Glisson, asportazione del Piccolo Omento, *stripping* della Borsa Omentale	Colecistectomia, Gastrectomia
Peritonectomia Superiore Sinistra	Peritonectomia Diaframmatica sinistra, Omentectomia	Splenectomia
Peritonectomia Inferiore	Peritonectomia Parietale bilaterale e Pelvica	Colectomia destra, Sigmoidectomia, Isterectomia e Annessectomia bilaterale
Peritonectomia del mesentere	Rimozione degli impianti sulla Superficie Mesenterica	Resezioni Ileali

Citoriduzione chirurgica: basi metodologiche

1) Dissezione Peritoneo-Parietale e Chirurgia Elettroevaporativa

La parete addominale viene incisa dallo xifoide al pube lungo la linea mediana ed i piani tissutali separati fino alla fascia, lasciando integro il sottostante peritoneo parietale. Si procede quindi alla dissezione del peritoneo parietale dalle fasce posteriori dei muscoli retti e larghi dell'addome. Pertanto, mentre l'aiuto ritrae verso l'alto la parete addominale per mezzo di pinze di Kocker, l'operatore, con opportune manovre di contro-trazione sul sacco peritoneale, lo disseca dalla parete addominale. Tale procedura, definita anche di *stripping* peritoneale, può causare un diffuso sanguinamento se eseguita secondo la tradizionale tecnica chirurgica, con l'utilizzo di forbici o di bisturi tagliente. E' pertanto necessario che il chirurgo ricorra ad una metodica di elettrochirurgia ad alto voltaggio mediante l'utilizzo di un manipolo elettrochirurgico con punta sferica del diametro di 2 mm. Secondo questa particolare tecnica chirurgica, la dissezione deve essere condotta individuando il piano tra il peritoneo coinvolto dal tumore ed il sottostante tessuto indenne. A tale livello, all'interfaccia tra tumore e tessuto normale, si interviene con l'estremità sferica dell'elettrobisturi, esercitando contemporaneamente una forte trazione sulle strutture interessate per facilitarne l'azione. Il generatore elettrochirurgico deve essere impostato in modo da produrre un potenziale ad alto voltaggio.

L'elettroevaporazione del tumore e del tessuto normale non solo minimizza le perdite ematiche dai margini di resezione, ma anche riduce la probabilità di disperdere ulteriormente cellule tumorali.

La dissezione peritoneo-parietale viene condotta posteriormente fino a riconoscere le strutture anatomiche del retroperitoneo: le arterie e le vene iliache, i nervi genito-crurale e gli ureteri; quest'ultimi devono essere liberati in tutto il loro decorso evitando un'eccessiva scheletrizzazione, che potrebbe danneggiarne la delicata vascolarizzazione. Nel maschio vanno rispettati inoltre i deferenti ed i vasi spermatici.

Il peritoneo parietale viene quindi inciso dallo xifoide al pube, in modo da consentire l'accesso alla cavità peritoneale e di valutare l'estensione della malattia (Figura 1) mediante il *Peritoneal Cancer Index score* (PCI). L'addome è idealmente diviso nelle 9 regioni dell'anatomia tradizionale, a cui si aggiungono i 4 segmenti del piccolo intestino. In ognuna di queste 13 sedi, viene valutato il diametro delle lesioni tumorali presenti, a cui viene attribuito il

punteggio di 0 (assenza di tumore), 1 (noduli tumorali < 5 mm), 2 (noduli tumorali > 5 mm e ≤ 5 cm) oppure 3 (noduli tumorali > 5 cm o confluenti). Il PCI viene calcolato sommando il valore ottenuto in ogni singola regione ed il cui valore è compreso tra 0 e 39. Particolare attenzione va posta nell'esame di quelle sedi, il cui interessamento massivo rappresenta una condizione di esclusione dal trattamento di citoriduzione, quali il mesentere, l'intestino tenue e la regione dell'ilo epatico.
Un'ulteriore incisione perpendicolare alla prima consente di dividere la cavità peritoneale in tre regioni che saranno oggetto di varie manovre di peritonectomia al fine di ottenere la completezza di citoriduzione (Tabella 2, Figura 2):

1 addominale superiore destra

2 addominale superiore sinistra

3 pelvi

Figura 1 Pseudomixoma Peritonei pre-CCR

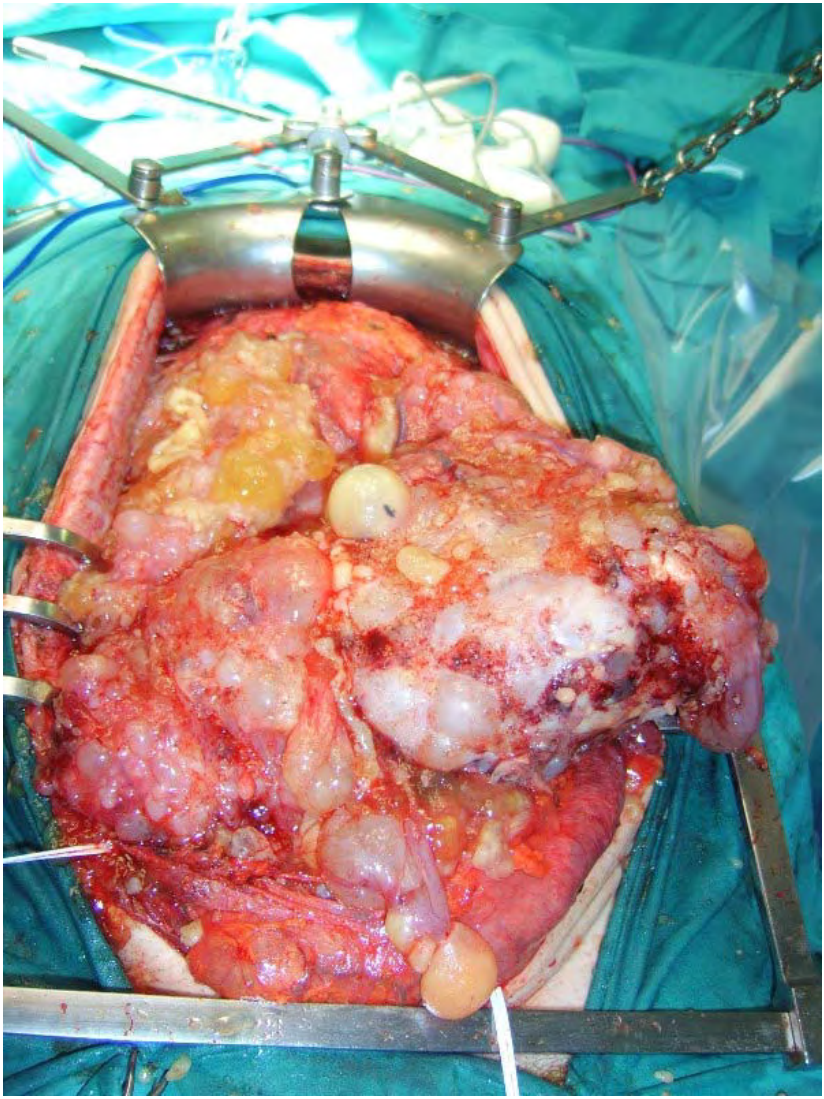
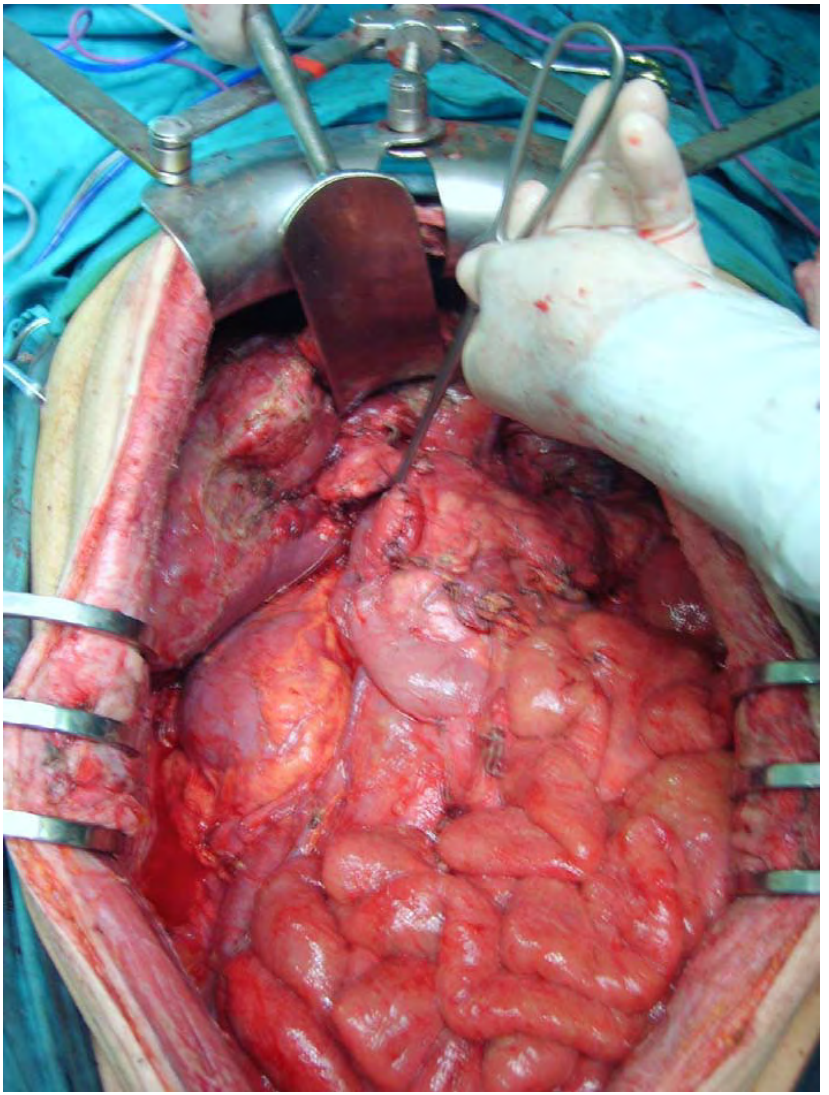


Figura 2 Pseudomixoma Peritonei post-CCR



2) Regione Addominale Superiore destra

Nell'alto addome, a destra, la dissezione peritoneo-parietale è finalizzata alla visualizzazione delle vene sovraepatiche; a ciò contribuisce lo *stripping* peritoneale, quando dal piano peritoneo-diaframmatico si procede fino a quello parenchimale epatico visualizzando la cosiddetta "Area Nuda" e, pertanto, la cupola epatica e le vene sovraepatiche nel punto in cui sboccano nella vena cava. Una cauta dissezione della riflessione peritoneale sul fegato, mediante dissettore e blanda cauterizzazione, consente una migliore visualizzazione di tali strutture. Tale manovra, infine, è facilitata se preceduta dalla sezione, verso la cupola epatica, del legamento falciforme del fegato, a partire dal legamento rotondo epatico. Più causalmente, la dissezione peritoneo-diaframmatica va condotta fino al margine epatico passando anteriormente al rene ed alla ghiandola surrenale di destra, alle vene cava, renale destra ed eventuali epatiche accessorie provenienti dal lobo caudato, che vanno preservate. A tale livello, il limite inferiore è rappresentato da una sezione del peritoneo parietale che, caudalmente al rene, divide la regione addominale superiore destra da quella parietale destra. Tale sezione, posteriormente, identifica il limite della tasca di Morrison. A questo punto, il peritoneo che riveste la tasca di Morrison viene asportato in blocco con la sierosa sotto-diaframmatica destra. In caso di interessamento neoplastico, è indicato asportare la caspula di Glisson, dissecando questa struttura dal parenchima epatico per mezzo dell'elettrobisturi con punta a sfera. L'emostasi potrà essere assicurata dall'elettrobisturi stesso oppure perfezionata con l'elettrocoagulatore ad argon. Secondo l'esperienza acquisita presso l'Istituto Tumori di Milano, risulta anche efficace il posizionamento di compresse ad elevata temperatura imbevute di soluzione fisiologica bollente direttamente sulle aree cruentate. In caso di infiltrazione del diaframma, è indicata la resezione dello stesso; frequentemente la riparazione avviene mediante sutura dei margini a punti staccati.

Mediante manovra di Kocher viene mobilizzato il duodeno e ciò consente una completa visualizzazione della vena cava e della vena renale destra. Il margine laterale della seconda porzione duodenale è seguito in senso orario fino al legamento epato-duodenale sezionando l'inserzione peritoneale e consentendo l'evidenziazione degli elementi ilari. La colecistectomia viene eseguita per via anterograda, dal suo *fundus* verso il dotto e l'arteria cistica, che vengono sezionati e legati separatamente.

La componente peritoneale del legamento epato-duodenale viene asportata dissecandone gli elementi in blocco con la colecisti. Il legamento triangolare viene asportato ed il lobo sinistro del fegato viene retratto per esporre il legamento gastroepatico. Nei casi in cui è possibile preservare lo stomaco, la rimozione del piccolo omento dalla piccola curvatura gastrica deve prevedere la preservazione dell'arcata vascolare e l'arteria gastrica sinistra oltre alle fibre anteriori del nervo vago.
Nei casi in cui è necessaria una resezione gastrica, questa sarà totale o parziale a seconda dell'estensione della malattia seguendo la tecnica classica e limitando la linfoadenectomia ai casi in cui il tumore primitivo è gastrico. La ricostruzione avviene mediante ansa interposta alla Roux, con anastomosi al piede dell'ansa. Il lobo caudato viene retratto e tale manovra consente l'esposizione del pavimento della retrocavità degli epiploon. Viene pertanto inciso il peritoneo che ricopre il pilastro diaframmatico destro e da questo dissecato in senso laterale fino ad incontrare il decorso della vena cava retro epatica. Si esegue, pertanto, una cauta dissezione del peritoneo dalla vena cava fino ad incrociare rostralmente la vena sovraepatica di sinistra che rappresenta il limite della regione. Il peritoneo viene quindi rimosso.

3) Regione Addominale Superiore sinistra
Tale tempo inizia con la dissezione peritoneo diaframmatica sinistra che viene condotta fino a consentire la visualizzazione in senso medio laterale, esofago addominale, ghiandola surrenale sinistra ed il rene sinstro, quest'ultimo ricoperto dal grasso perirenale, a cui si accede dopo l'incisione della fascia di Gerota. Tale manovra consente di lussare medialmente il blocco milza-coda pancreas, permettendo un accesso così facilitato all'ilo splenico per via posteriore. Tale manovra è particolarmente efficace quando è presente abbondante malattia a livello omentale ed ilare splenico.
Il primo tempo dell'omentectomia è costituito dallo scollamento colo-epiploico. La dissezione continua con l'asportazione lungo un piano avascolare del foglietto superiore del mesocolon, fino a livello della capsula pancreatica. I vasi gastro-epiploici e l'arcata vascolare della grande curvatura gastrica, i vasi gastrici brevi, sono preparati e sezionati in prossimità della grande curva gastrica iniziando dal duodeno e procedendo verso il corpo ed il fondo gastrico.

La milza e la superficie anteriore del pancreas vengono attentamente esaminati per cercare eventuali impianti neoplastici, quindi si traziona anteriormente la milza e la ghiandola viene spogliata del suo foglietto anteriore alla capsula pancreatica. Questo permette di esporre liberamente l'arteria e la vena splenica collocate superiormente alla coda del pancreas. I vasi sono quindi clampati, sezionati e legati, permettendo l'asportazione in blocco del pezzo costituito oltre che dalla milza, dall'omento e dal peritoneo diaframmatico sinistro.

4) Peritonectomia Inferiore

Il peritoneo parietale bilaterale verrà sezionato a livello della riflessione colica a sinistra, mentre a destra tale manovra dipenderà dall'interessamento del colon destro. Nel caso in cui si dovesse rendere necessaria una colectomia destra, che verrà eseguita con tecnica classica, il peritoneo parietale destro verrà asportato in blocco con il colon destro. L'anastomosi ileo-colica viene eseguita di solito con pinza meccanica circolare con rinforzo di punti staccati sia sull'anastomosi che sul moncone colico.

Per facilitare la peritonectomia pelvica, la vescica viene riempita con 200-300 ml di soluzione fisiologica e viene eseguito un trazionamento verso l'alto della cupola mediante l'uso di pinza atraumatica. Il peritoneo viene dissecato dalla muscolatura della vescica e dalle pareti del bacino. Nella femmina, la dissezione continua in basso sul piano cervico-vaginale, si esegue la legatura delle arterie uterine al di sopra degli ureteri, vicino alla base della vescica e si procede con la sezione del piano anteriore e quindi posteriore della vagina fino ad incontrare il setto retto-vaginale; il peritoneo dello sfondato del Douglas viene accuratamente dissecato ed asportato radicalmente. L'interessamento del sigma o del retto condizionerà una loro resezione, che verrà eseguita con tecnica classica ed il pezzo asportato in blocco con utero ed annessi, peritoneo parietale bilaterale.

Nel maschio, la dissezione del peritoneo vescicale conduce direttamente al retto ed anche in questo caso, l'interessamento del sigma o del retto condizionerà una loro resezione, che verrà eseguita con tecnica classica.

Classicamente, l'intervento prevede la sezione di arteria e vena mesenterica inferiore. In considerazione della biologia tumorale, a differenza del carcinoma colorettale, quando tecnicamente possibile, si può optare per la conservazione dell'arteria mesenterica inferiore. Il vaso viene pertanto scheletrizzato con legatura delle arterie

sigmoidee e conservazione dei rami emorroidari superiori, con una migliore vascolarizzazione del moncone rettale. L'anastomosi colorettale termino-terminale secondo Knight-Griffin viene confezionata mediante pinza meccanica circolare con rinforzo di punti staccati.

5) Citoriduzione del Mesentere
Si esegue una peritonectomia parziale, su entrambi i lati del mesentere. Lo strato di sierosa è spogliato fino ad arrivare ad un limite di 3-4 cm rispetto alla parete intestinale. È importante evitare qualsiasi trauma vascolare appositamente nei pressi del piccolo intestino, dove la vascolarizzazione è costituita da arterie terminali di piccolo calibro; infatti, un insufficiente apporto nutrizionale potrebbe richiedere ulteriori resezioni intestinali. Piccole localizzazioni possono essere asportate mediante l'uso dell'elettrobisturi a punta smussa (Figure 3 e 4).

Figura 3 Mesentere pre-CCR

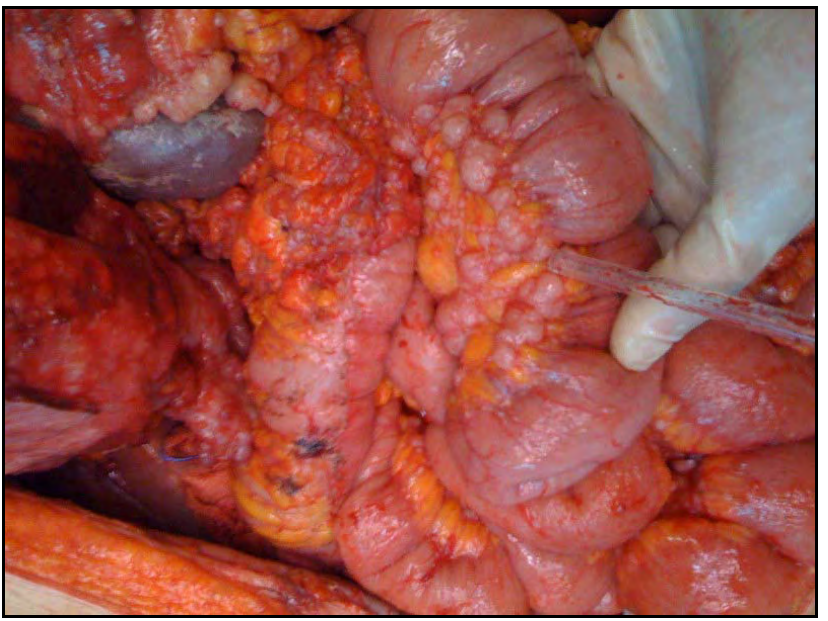
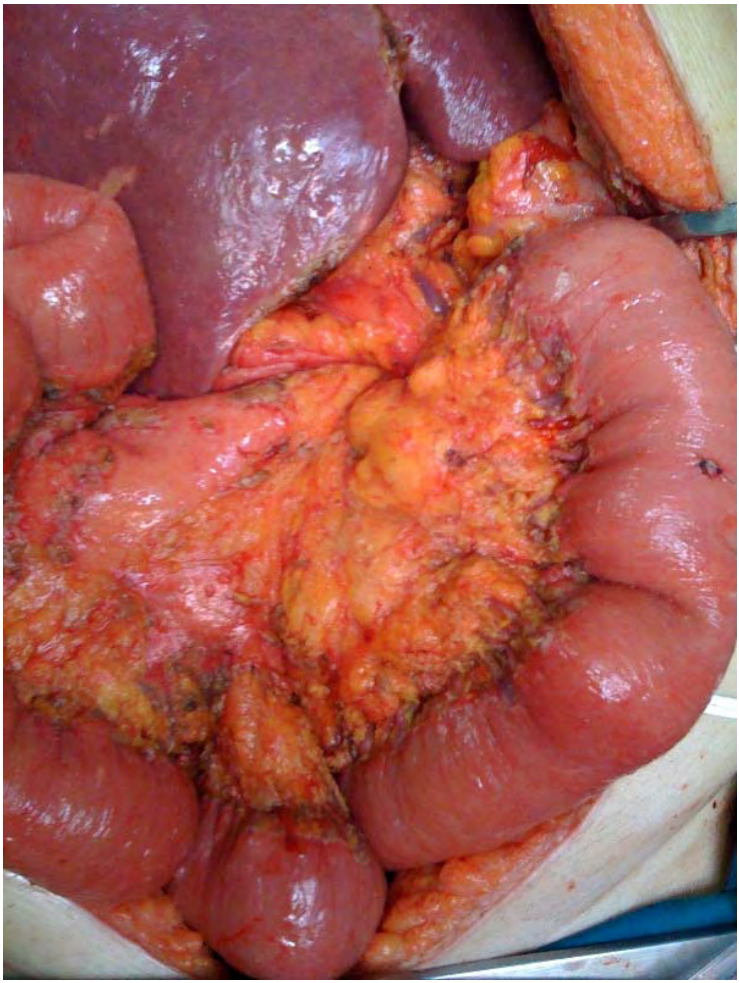


Figura 4 Mesentere post-CCR

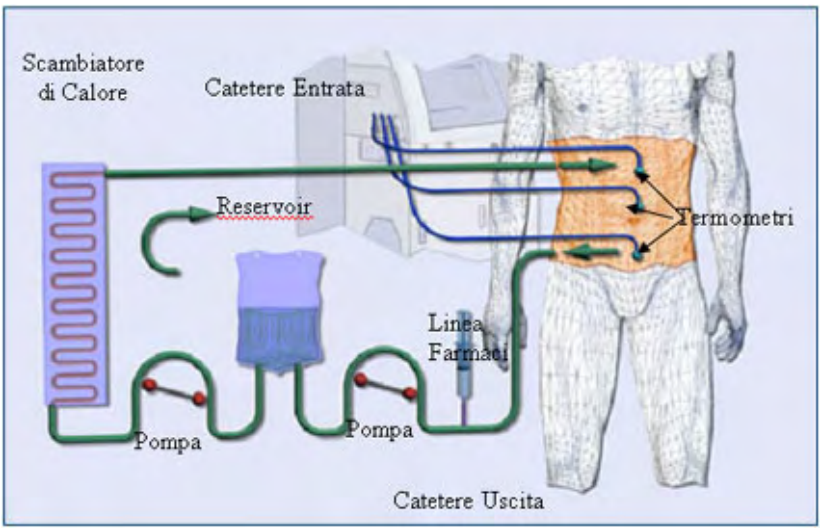


Chemio Ipertermia Intra-Peritoneale: basi metodologiche

Per l'esecuzione della metodica è necessaria una macchina che consente di perfondere la cavità addominale attraverso un sistema di pompe, di riscaldare il perfusato attraverso uno scambiatore di calore, di mantenere un flusso costante e di monitorare molteplici parametri di sicurezza durante lo svolgimento della metodica.

Al termine della fase chirurgica, vengono posizionate quattro cannule attraverso la parete addominale. Due vengono utilizzate per l'infusione (*inflow*) e vengono posizionate rispettivamente in regione sub-diaframmatica destra e profondamente nella pelvi. Due cateteri, situati in regione centro-addominale e nella parte superficiale della pelvi, riconducono il perfusato allo scambiatore di calore all'esterno. Vengono quindi posizionate alcune sonde per la rilevazione delle temperature a livello del circuito in entrata ed in uscita, dell'addome superiore ed inferiore (Figura 5). Vi sono almeno due metodiche che consentono di eseguire una perfusione peritoneale in condizioni di ipertermia (6-8): la tecnica ad addome aperto e ad addome chiuso.

Figura 5 Chemio Ipertermia Intra-Peritoneale: schema



Tecnica ad addome aperto

La tecnica viene anche definita *Coliseum technique* (Colosseo). La cute lungo tutta l'incisione mediana viene sospesa al divaricatore di Thompson, in modo da creare una specie di "colosseo"; questo crea un vero e proprio contenitore per l'instillazione del perfusato peritoneale. Sull'addome così preparato è disteso un telo di materiale plastico, anch'esso ancorato al divaricatore, che presenta centralmente

un'apertura, attraverso la quale la mano del chirurgo può accedere alla cavità addominale e può manipolare le anse intestinali, garantendo una migliore diffusione sia del calore sia dei farmaci e per prevenire la stasi del perfusato. Il vapore dei farmaci, che si libera nell'ambiente, viene evacuato mediante un sistema di aspirazione per proteggere il personale di sala operatoria dagli effetti tossici dei chemioterapici. Il maggior vantaggio della tecnica *Coliseum* è di garantire una migliore distribuzione del calore e del perfusato grazie alla manipolazione diretta delle anse da parte del chirurgo. Lo svantaggio principale della metodica consiste nella dispersione di calore nell'ambiente, che limita il raggiungimento dell'ipertermia adeguata. Esiste, inoltre, il problema teorico dell'esposizione professionale per contatto diretto nei confronti del chirurgo, che manipola le anse, e per inalazione nei confronti di tutto il personale di sala operatoria. Tale metodica necessita pertanto di adeguate misure di sicurezza.

Tecnica ad addome chiuso

Nella modalità ad addome chiuso, la pelle della parete addominale viene chiusa temporaneamente mediante sutura continua. Dato inizio alla chemioterapia intra-peritoneale, è opportuno che il chirurgo impartisca movimenti basculanti alla parete addominale sia manualmente sia eventualmente avvalendosi di modici spostamenti del letto operatorio. Tutto ciò, al fine di ottenere la maggiore uniformità di distribuzione del calore e del liquido di perfusione all'interno della cavità addominale.

Al termine della perfusione, il perfusato viene evacuato e l'addome riaperto. Il vantaggio principale di tale modalità è la rapidità con cui si ottiene e si mantiene la condizione di ipertermia, data la minima perdita di calore da un addome chiuso. Inoltre, vi è una minima, se non nulla, esposizione dello *staff* di sala operatoria. Il maggior svantaggio della metodica è invece la mancanza di uniforme distribuzione del calore e di perfusato all'interno della cavità addominale.

BIBLIOGRAFIA

1. Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Ann Surg 1995; 221:29-42*
2. Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Cancer Treat Res 2007; 134:246-264*

3. Sugarbaker PH. Cytoreduction including total gastrectomy for pseudomyxoma peritonei. *Br J Surg 2002; 89:208-212*
4. Deraco M, Baratti D, Kusamura S, Laterza B, Balestra MR. Surgical technique of parietal and visceral peritonectomy for peritoneal surface malignancies. *J Surg Oncol 2009; 100:321-328*
5. Shigeki K, O'Dwyer ST, Baratti D, Younan R, Deraco M. Technical aspects of cytoreductive surgery. *J Surg Oncol 2008; 98:232-236*
6. Glehen O, Cotte E, Kusamura S, Deraco M, Baratti D, Passot G, Beaujard AC, Noel GF. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy: nomenclature and modalities of perfusion. *J Surg Oncol 2008; 98:242-246*
7. Kusamura S, Dominique E, Baratti D, Younan R, Deraco M. Drugs, carrier solutions and temperature in hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *J Surg Oncol 2008; 98:247-252*
8. Esquivel J. Technology of hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in the United States, Europe, China, Japan and Korea. *Cancer J 2009; 15:249-254*

Perfusione ipertermico-antiblastica isolata di fegato

Principi di metodologia

Nel corso degli ultimi due decenni, sono state sviluppate diverse strategie di terapia loco-regionale nei pazienti portatori di neoplasie avanzate del fegato con l'obiettivo di migliorare la prognosi e la qualità di vita. Sono state sperimentate sia tecniche basate sulla differente via di somministrazione di chemioterapici (infusione intra-arteriosa, infusione intra-portale, chemio-embolizzazione e perfusione ipertermico antiblastica di fegato, IHP), sia tecniche ablative finalizzate alla distruzione locale delle singole lesioni metastatiche (crioterapia, radioablazione ed alcolizzazione).

L'IHP (*Isolated Hepatic Perfusion*) prevede la completa esclusione del fegato dalla circolazione sistemica e la sua integrazione in un circuito extracorporeo indipendente, attraverso il quale l'organo può essere perfuso con chemioterapici a dosaggi molto elevati (70-80 volte superiori a quelle ottenibili attraverso la somministrazione sistemica), con una tossicità sistemica trascurabile ed in condizioni di ipertermia (1,2). I vantaggi di questo trattamento rispetto all'infusione intra-arteriosa sono: a) concentrazione del farmaco 30 volte superiore rispetto all'infusione; b) i farmaci utilizzati non devono necessariamente avere un alto tasso di estrazione epatica al primo passaggio; c) il trattamento può essere effettuato in ipertermia, in modo da potenziarne ulteriormente l'effetto antineoplastico (3); d) è possibile somministrare sostanze quali il TNF od altri modulatori di risposta biologica, non somministrabili per via sistemica.

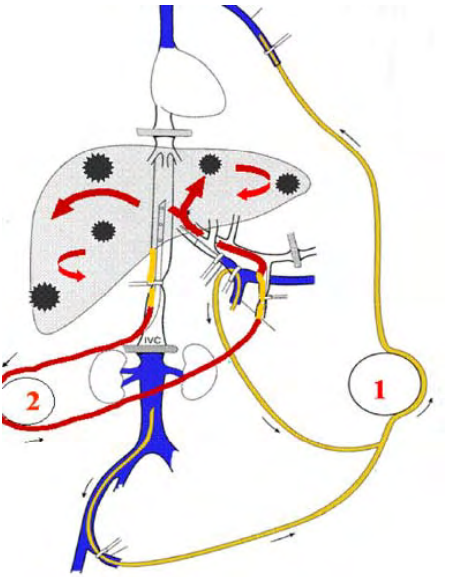
Descrizione della tecnica

Si effettua un'incisione sottocostale bilaterale. Una volta confermata l'assenza di malattia extraepatica, il fegato viene completamente mobilizzato ed isolato legando tutte le strutture vascolari contigue, allo scopo di evitare fughe di farmaco nel circolo sistemico. La vena cava inferiore è isolata tra le vene renali (inferiormente) ed il diaframma (superiormente); vengono legate e sezionate tutte le tributarie retroperitoneali, le sovraepatiche accessorie e la vena surrenalica destra. Vengono isolati il coledoco, la vena porta, le arterie epatica comune, propria e gastroduodenale; viene effettuata la colecistectomia allo scopo di evitare la perforazione del viscere.

Si isolano la vena ascellare e la vena safena sinistra. Previa eparinizzazione del paziente (200 U/kg e.v. di Eparina) e safenotomia,

viene fatta risalire una cannula in vena cava inferiore fino al livello delle vene renali. Dopo venotomia ascellare, viene inserita una seconda cannula in vena ascellare sinistra. Le due cannule sono quindi connesse ad un circuito esterno munito di pompa centrifuga ed il sistema viene attivato. Dopo che si è stabilizzato il flusso nel *bypass* venoso sistemico, il segmento di vena cava sottoepatica viene isolato con dei *clamp* vascolari ed una cannula viene introdotta con estremo distale a livello delle vene sovraepatiche, con funzione di drenaggio venoso durante la perfusione del fegato. Viene quindi incisa la vena porta e posizionata una cannula a livello della vena mesenterica superiore collegata al *bypass* venoso sistemico. Una cannula arteriosa è posizionata in arteria gastroduodenale: tale cannula e quella situata in vena cava vengono collegate ad un secondo circuito "isolato" extracorporeo; si procede quindi al clampaggio dell'arteria epatica comune e della vena cava sovraepatica appena al di sotto del diaframma (Figura 1).

Figura 1



IHP "classica": 1 - *bypass* venoso sistemico fra vena femorale e vena ascellare (il circolo splancnico è collegato al *bypass* sistemico); 2 - circuito di perfusione epatica fra arteria epatica e vena cava inferiore.

Durante la perfusione epatica è utilizzato un sistema di monitoraggio scintigrafico della fuga del perfusato nel circolo sistemico. Raggiunta una temperatura di 41.0°-41.5°C, si inietta il Melphalan (1.5 mg/kg) associato o meno al TNF (1 mg); la durata della perfusione è di 60 minuti. Al termine, il fegato viene lavato sia attraverso l'arteria gastroduodenale (3.000 ml soluzione salina-Ringer Lattato), sia attraverso la vena porta (1.000 ml soluzione salina). Successivamente, vengono rimossi i *clamp* in modo da ripristinare il flusso ematico. La durata complessiva di tale procedura è di 7-10 ore con una perdita ematica variabile da 2 a 4 litri. La mortalità è del 5%. Le principali cause di mortalità post-operatoria sono: insufficienza epatica, malattia veno-occlusiva ed alterazioni della coagulazione legate all'utilizzo del TNF.

Patologie bersaglio

La perfusione isolata di fegato è tuttora considerata un trattamento sperimentale eseguibile solo in Centri specializzati e viene proposta nell'ambito di studi clinici controllati per neoplasie epatiche primitive o secondarie (metastasi da carcinoma del colon-retto, metastasi da adenocarcinoma della mammella e metastasi da melanoma) confinate a fegato, che non abbiano risposto ai trattamenti convenzionali.
Non sono candidabili i pazienti con un interessamento epatico superiore al 50%, affetti da cirrosi o da altre epatopatie croniche, ipertensione portale, malattia veno-occlusiva (pregressa o in atto) oppure con altri fattori di rischio operatorio maggiore.

Stato dell'arte

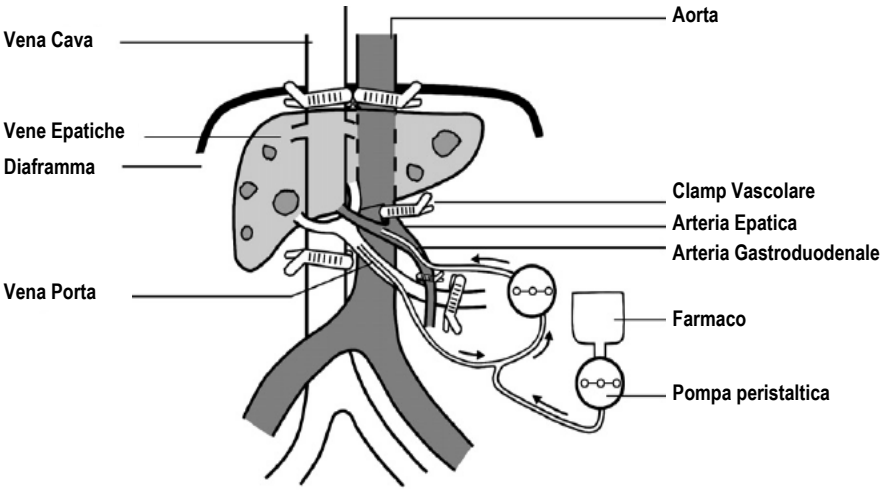
L'IHP è stata sperimentata in cavie animali alla fine degli anni cinquanta e realizzata nell'uomo, per la prima volta, nel 1961 da Ausman et al. (4), i quali hanno somministrato mostarde azotate a 5 pazienti, in condizioni di normotermia. Le elevate morbilità e mortalità associate a tale trattamento, tecnicamente molto complesso, i costi elevati e la scarsa evidenzia di una sua reale efficacia, rispetto ai trattamenti convenzionali, ne hanno pesantemente ostacolato l'applicazione clinica.
La metodica è stata ripresa in considerazione all'inizio degli anni '90, grazie all'introduzione del TNF ed all'evoluzione delle tecniche chirurgiche e rianimatorie. I recenti lavori di van Iersel e di Alexander su 179 e 120 pazienti portatori di metastasi epatiche da adenocarcinoma del colon-retto hanno evidenziato una percentuale di risposta variabile

tra il 50-70% con un intervallo libero di malattia di 7-9 mesi ed una sopravvivenza complessiva di 10-17 mesi (5,6).
Per quanto riguarda le metastasi epatiche non colorettali, vengono riportate nel trattamento di metastasi epatiche da melanoma percentuali di risposta del 70%, con sopravvivenza mediana di 12.6 mesi (7).
Non sono stati riportati in letteratura risultati nel trattamento di pazienti con metastasi epatiche da tumori della mammella. Sono limitate le esperienze in pazienti con neoplasie epatiche primitive (epatocarcinoma e colangiocarcinoma); Alexander et al. (8), in 9 pazienti con neoplasie epatiche primitive non resecabili, hanno riportato un tasso di risposta del 67%, una sopravvivenza libera da progressione media di 7.7 mesi ed una sopravvivenza mediana di 15 mesi.
Recentemente, van Iersel et al. (9) hanno pubblicato uno studio caso-controllo, in cui veniva paragonata, in un'analisi retrospettiva e non randomizzata, l'IHP con la chemioterapia sistemica (Capecitabina, Irinotecan ed Oxaliplatino): il tasso di risposta dopo chemioterapia sistemica è risultato sovrapponibile alla IHP (47% vs 41%), come pure la sopravvivenza mediana (25 vs 21.5 mesi). Il principale *bias* di tale studio è che i pazienti sottoposti ad IHP erano stati già trattati con più linee di chemioterapia sistemica.

Semplificazioni tecniche
Vista la complessità della tecnica, la durata ed i costi elevati della perfusione isolata di fegato, si è cercato di semplificare tale procedura. Bartlett et al. (10) hanno proposto di eseguire l'IHP senza collegare il circolo splancnico al *bypass* sistemico e di effettuare quest'ultimo con accesso percutaneo.
Eggermont et al. (11) hanno proposto di effettuare una perfusione epatica ipossica percutanea (*Isolated Hypossic Hepatic Perfusion*, IHHP), in cui il flusso nella vena cava inferiore sovraepatica e nell'aorta sottodiaframmatica viene bloccato mediante l'inserzione percutanea di cateteri a palloncino senza utilizzare la macchina cuore-polmoni né il *bypass* venoso extracorporeo. Il vantaggio di tale tecnica consiste nell'inversione della direzione di flusso con un flusso di uscita retrogrado (IHHP retrograda) garantito dalla vena porta, che permette di diminuire i possibili effetti tossici sul fegato senza far venir meno la sua efficacia antitumorale. Tuttavia, dopo risultati incoraggianti su modelli animali, le esperienze cliniche non ne hanno confermato i dati preclinici a causa dell'elevata fuga del

farmaco (35-77%) (11). Successivamente, l'utilizzo dei cateteri ostruenti è stato sostituito da un approccio laparotomico, che prevede l'isolamento chirurgico del fegato ed il clampaggio della vena cava inferiore sovra e sottoepatica, dell'aorta sottodiaframmatica e della vena porta sovrapancreatica, in modo da creare un circuito epatico completamente isolato con ingresso attraverso l'arteria gastroduodenale ed uscita attraverso la vena porta. Questa procedura dura complessivamente circa 4 ore (perfusione ipossica 20-30 minuti) e prevede una perdita di sangue e derivati di 700-900 ml (Figura 2).

Figura 2



IHP retrograda: il *bypass* venoso sistemico non viene eseguito; circuito di perfusione epatica fra arteria epatica e vena porta per via retrograda (da Verhoef C. *Surg Oncol Clin N Am 2008*).

I risultati preliminari ottenuti utilizzando tale tecnica sono sovrapponibili a quelli ottenuti con la perfusione tradizionale, con un tasso di risposta del 62%, ma con dimezzamento della durata complessiva della procedura e con perdite ematiche inferiori ad 1/3 (12).

Protocolli clinici attivi

Presso l'Università di Pittsburgh negli Stati Uniti, il gruppo di Bartlett et al. (10) ha condotto uno studio di fase I sull'IHP con Oxaliplatino in pazienti con metastasi epatiche non resecabili da carcinoma del colon-retto: il tasso di risposta ottenuto è del 62%; gli stessi Autori stanno conducendo uno studio clinico di fase II.

E' attualmente in fase di approvazione presso la Clinica Chirurgica Generale 2 dell'Università di Padova uno studio clinico di fase II con l'Oxaliplatino su pazienti affetti da metastasi epatiche da carcinoma del colon-retto non resecabili e non responsivi ad almeno due linee di chemioterapia sistemica.

Prospettive future

Per incrementare il tasso di risposta, si è proposto di associare la perfusione ipertermico-antiblastica di fegato all'infusione intra-arteriosa post-operatoria. Alexander et al. (6) hanno già dimostrato retrospettivamente come i pazienti trattati con infusione di Fluorodeossiuridina (FUDR) in arteria epatica dopo IHP hanno un intervallo libero da malattia superiore rispetto ai pazienti trattati solo con l'IHP (13 vs 5.8 mesi).

Inoltre, negli stessi pazienti è in fase di studio l'associazione IHP-chemioterapia sistemica con nuovi regimi terapeutici (ad esempio, FOLFIRI associato a Bevacizumab).

Resta da stabilire il possibile ruolo della perfusione isolata di fegato come trattamento neoadiuvante proposto al *National Institute of Health*, NIH; sembra comunque difficile paragonare un trattamento così complesso ad una terapia chemioterapica convenzionale che, attualmente, è in grado di determinare un tasso di risposta superiore al 70% dei casi.

E' in fase di studio l'associazione Melphalan con farmaci in grado di antagonizzare i fenomeni di polichemioresistenza. Brunstein et al. (13) hanno dimostrato come l'aggiunta di Istamina al Melphalan, in un modello murino di IHP, potenzi l'effetto antitumorale del farmaco oltre ad avere un'azione citotossica diretta sulle cellule tumorali.

Sono stati proposti recentemente farmaci differenti dal Melphalan (Oxaliplatino ed Irinotecan) in associazione a farmaci biologici (Cetuximab e Bevacizumab). In tale scelta, è mandatorio che il farmaco da utilizzare in corso di IHP debba esercitare la sua attività antitumorale entro un'ora, dato il limitato tempo di esposizione del tumore al farmaco, che deve avere quindi un'azione citotossica e non

citostatica, dal momento che quest'ultima richiede un'esposizione più lunga.
Sono infine in corso di valutazione eventuali correlazioni tra la risposta al trattamento e l'espressione di determinati prodotti genici, quali le MDR (*Multi-Drug Resistance proteins*), le HSP (*Heat Shock Proteins*) e la p53: se dovessero emergere delle correlazioni statisticamente significative, sarà possibile sfruttarle a fini prognostico-terapeutici e selezionare ulteriormente i pazienti candidabili a perfusione isolata di fegato.

BIBLIOGRAFIA

1. Clark J, Grabs AJ, Parsons PG, Smithers BM, Addison RS, Roberts MS. Melphalan uptake, hyperthermic synergism and drug resistance in a human ceil culture model for the isolated limb perfusion of melanoma. *Melanoma Res 1994; 4:365-70*
2. Alexander HR Jr, Bartlett DL, Libutti SK. Isolated hepatic perfusion: a potentially effective treatment for patients with metastatic or primary cancers confined to the liver. *Cancer J Sci Am 1998; 4:2-11*
3. Liu LX, Zhang WH, Jiang HC. Current treatment for liver metastases from colorectal cancer. *World J Gastroenterol 2003; 9:193-200*
4. Ausman R. Development of a technique for isolated perfusion of the liver. *NY State J Med 1961; 61:3393-7*
5. Van Iersel LB, Gelderblom H, Vahrmeijer AL, van Persijn-van Meerten EL, Tijl FG, Putter H, Hartgrink HH, Kuppen PJ, Nortier JW, Tollenaar RA, van de Velde CJ. Isolated hepatic melphalan perfusion of colorectal liver metastases: outcome and prognostic factors in 154 patients. *Ann Oncol 2008 Jun; 19(6):1127-34*
6. Alexander HR Jr, Bartlett DL, Libutti SK, Pingpank JF, Fraker DL, Royal R, Steinberg SM, Helsabeck CB, Beresneva TH. Analysis of factors associated with outcome in patients undergoing isolated hepatic perfusion for unresectable liver metastases from colorectal center. *Ann Surg Oncol 2009 Jul; 16(7):1852-9*
7. Rizell M, Mattson J, Cahlin C, Hafström L, Lindner P, Olausson M. Isolated hepatic perfusion for liver metastases of malignant melanoma. *Melanoma Res 2008 Apr; 18(2):120-6*
8. Feldman ED, Wu PC, Beresneva T, Heisabeck C, Rodriguez M, Bartlett DL, Libutti SK, Pingpank SE, Alexander HR. Treatment of patients with unresectable primary hepatic malignancies using hyperthermic isoiated hepatic perfusion. *J Gastrointest Surg 2004; 8(2):200-7*

9. van Iersel LB, Koopman M, van de Velde CJ, Mol L, van Persijn-van Meerten EL, Hartgrink HH, Kuppen PJ, Vahrmeijer AL, Nortier JW, Tollenaar RA, Punt C, Gelderblom H. Management of isolated nonresectable liver metastases in colorectal cancer patients: a case-control study of isolated hepatic perfusion with melphalan versus systemic chemotherapy. *Ann Oncol 2010 Jan 28;*
10. Zeh HJ 3rd, Brown CK, Holtzman MP, Egorin MJ, Holleran JL, Potter DM, Bartlett DL. A phase I study of hyperthermic isolated hepatic perfusion with oxaliplatin in the treatment of unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Ann Surg Oncol 2009 Feb; 16(2):385-94*
11. Eggermont AM, van IJken MG, van Etten B, van der Sijp SR, ten Hagen TL, Wiggers T, Oudkerk M, de Boeck G, de Bruijn EA. Isolated hypoxic hepatic perfusion (IHHP) using balloon catheter techniques: from laboratory to the clinic towards a percutaneous procedure. *Hepatogastroenterology 2000; 4 7(33):776-81*
12. Verhoef C, de Wilt JH, ten Hagen TL, Eggermont AM. Isolated hepatic perfusion for the treatment of liver tumors: sunset or sunrise? *Surg Oncol Clin N Am 2008 Oct; 17(4):877-94, xi*
13. Brunstein F, Eggermont AM, de Wiel-Ambagtsheer G, van Tiel ST, Rens J, ten Hagen TL. Synergistic antitumor effects of histamine plus melphalan in isolated hepatic perfusion for liver metastases. *Ann Surg Oncol 2007 Feb; 14(2):795-801*

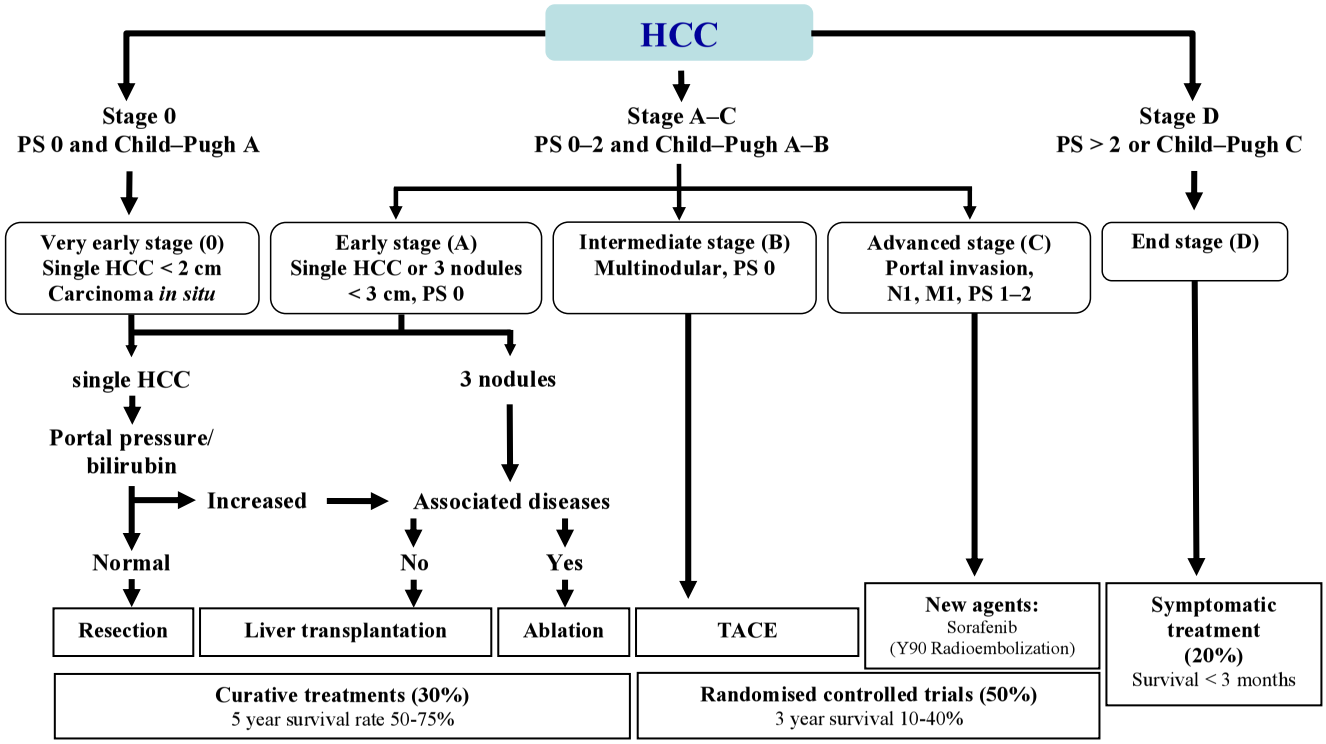
2.2 Altre tecnologie

Terapie mini-invasive delle lesioni epatiche

Le neoplasie epatiche maligne primitive e secondarie sono fra le forme tumorali più frequenti nel mondo e sfortunatamente la chemioterapia e la terapia radiante sono trattamenti inefficaci. La resezione chirurgica è stata storicamente considerata l'unica opzione curativa, anche se pochi pazienti sono candidabili all'intervento chirurgico: ormai, numerosi studi dimostrano che alcune tecniche mini-invasive hanno assunto dignità di terapie alternative ugualmente valide ed efficaci. In particolare, nel caso dell'epatocarcinoma (EC), la *Consensus Conference dell'European Association for the Study of the Liver* (EASL) di Barcellona dell'anno 2000 (1) includeva a pieno titolo, nel novero delle strategie terapeutiche definite "curative", insieme alla resezione chirurgica ed al trapianto di fegato, anche le tecniche percutanee quali l'alcolizzazione (PEI) e la termoablazione con radiofrequenza (RF). Di più recente introduzione sono la termoablazione con laser (LITT), la crioablazione, la termoablazione con microonde (MT) e gli ultrasuoni ad alta intensità focalizzata (HIFU).

***Alcolizzazione* (*Percutaneous Ethanol Injection, PEI*)**
Rappresenta il primo trattamento mini-invasivo dell'EC di piccole dimensioni, rapidamente diffuso per la sua facilità esecutiva ed i bassi costi; negli ultimi anni, è stato in gran parte sostituito dalla termoablazione a radiofrequenza (RF) (2). Il meccanismo d'azione dell'alcool dipende dalla sua capacità di diffusione all'interno delle cellule tumorali, determinando disidratazione delle proteine citoplasmatiche e conseguente necrosi coagulativa; all'interno dei vasi neoplastici, l'alcool produce necrosi delle cellule endoteliali, aggregazione piastrinica e trombosi vascolare con ischemia del tessuto tumorale (3). Tuttavia, la presenza di setti fibrosi all'interno delle lesioni non permette l'omogenea diffusione dell'etanolo, causando spesso incompleta necrosi lesionale (4,5).
Selezione dei pazienti e tecnica. La PEI viene generalmente eseguita in pazienti con piccolo EC su cirrosi. Le linee guida EASL (1) includono la PEI tra le metodiche cosiddette radicali raccomandate nei pazienti in stadio 0 ed A (Tabella 1), anche come trattamento "a ponte" in pazienti in attesa di trapianto di fegato.

Tabella 1 **Stadiazione BCLC dell'EC e strategie terapeutiche modificato da: Bruix J, Llovet JM. Major achievement in hepatocellular carcinoma.** ***Lancet 2009 Feb 21; 373(9664):614-6***



L'iniezione percutanea di etanolo sterile al 95% viene preferibilmente effettuata sotto guida US, mediante ago multiforato di 20-22 Gauge (3). La PEI può essere eseguita con 2 diversi approcci: a) *la tecnica convenzionale,* eseguita ambulatorialmente in anestesia locale con iniezione di 2-10 ml di alcool per sessione, prevede più sedute, numericamente variabili a seconda delle dimensioni del tumore (noduli < 2 cm vengono trattati in 3-4 sessioni, noduli di dimensioni da 2 a 3.5 cm in 8-12 sessioni) (3); b) *la tecnica in unica sessione* (*one shot*), eseguita più raramente ed in pazienti poco collaboranti, è condotta in anestesia generale per il trattamento di noduli di dimensioni > 5 cm. Richiede una maggiore quantità di alcool, correlata alle dimensioni della lesione, considerando un margine di sicurezza di 0.5-1 cm. Non deve essere comunque superata una quantità di 70 ml di etanolo.
Risultati. Negli ultimi anni, l'uso della PEI è nettamente diminuito a favore della termoablazione a RF, che ha mostrato vantaggi significativi in 5 studi randomizzati (Tabella 2) (2,6-10) ed in una recente meta-analisi (2). Quest'ultima riporta per noduli < 3 cm una risposta completa dell'84.5% dopo PEI rispetto al 93.5% ottenibile con RF. Anche le percentuali di sopravvivenza riportate a 1, 2, 3 e 4 anni in pazienti con EC singolo < 3 cm sono rispettivamente del 91%, 75%, 58% e 51%, significativamente inferiori a quelle ottenute con la RF, rispettivamente del 96%, 86%, 73% e 62%. L'efficacia diminuisce fino al 50% nei tumori di dimensioni maggiori; per tale motivo, attualmente la PEI non trova indicazione nelle lesioni > 3 cm.

Tabella 2 Studi randomizzati di confronto tra PEI ed RF nel trattamento dell'EC *early*

Autore	*Pazienti*	*Dimensioni*	*Necrosi (%)*	*Fallimento (%)*	*Sopravvivenza 3 anni (%)*	*p*
Lencioni, 2003 (6)		1 EC < 5 cm o 3 EC < 3 cm				
RF	52		91	8	81	> 0.05
PEI	50		82	34	73	
Lin, 2004 (7)		1-3 EC < 4 cm				
RF	52		96	17	74	0.014
PEI	52		88	45	50	
Shiina, 2005 (8)		1-3 EC < 3 cm				
RF	118		100	2	80	0.02
PEI	114		100	11	63	

segue

Lin, 2005 (9)		1-3 EC < 3 cm				
RF	62		97	16	74	0.031
PEI	62		89	42	51	
Brunello, 2008 (10)		1-3 EC < 3 cm				
RF	70		96	34	59	> 0.05
PEI	69		66	64	57	

Il dolore è l'evento avverso più frequente (11): le complicanze maggiori (emoperitoneo, emobilia, ascesso epatico) variano dallo zero al 2.7% (2,9); la mortalità è nulla con la tecnica convenzionale e dello 0.7% con tecnica *one shot*.

Termoablazione a Radiofrequenza (RF)

La RF, introdotta nel 1990, riveste attualmente un ruolo fondamentale nella pratica clinica per il trattamento dei tumori epatici (12-14). A differenza della PEI, la RF appare efficace per il trattamento sia dell'EC sia delle metastasi epatiche ed inoltre, richiede meno sessioni per trattare lo stesso tumore rispetto alla PEI.

Meccanismo d'azione. Le onde di RF comprendono una banda di radiazioni elettromagnetiche a bassa frequenza (< 300 kHz), media frequenza (< 3 MHz), alta frequenza (< 300 MHz) e microonde (2.500 MHz). Nella RF si utilizzano solitamente generatori con una frequenza di 480-500 kHz. In un circuito elementare monopolare, l'elettrodo attivo è costituito dall'estremità dell'ago da porre all'interno della lesione epatica, mentre l'elettrodo dispersivo è costituito da una piastra posta sulla superficie cutanea della coscia. L'elettrodo, rappresentato dalla punta esposta dell'ago, determina il passaggio di una corrente alternata ad elevata frequenza al tessuto circostante con agitazione degli ioni, che crea attorno alla punta dell'ago-elettrodo una turbolenza ionica locale ed un surriscaldamento definito come effetto di resistenza termica.

Un'importante limitazione comune a tutte le tecniche di termoablazione è rappresentata dalla scarsa estensione dell'area di necrosi coagulativa che si ottiene con una singola sessione di trattamento: utilizzando un ago-elettrodo RF convenzionale di 1 mm di calibro, si ottiene una necrosi con un diametro di circa 1.6 cm. L'estensione dell'area di necrosi dipende dal diametro dell'ago-elettrodo, dalla lunghezza della punta esposta e dalla durata dell'applicazione dell'energia termica, oltre che dalla temperatura media locale ottenuta durante la procedura. L'omeostasi cellulare

viene mantenuta fino ai 40°C: temperature superiori per 4-6 minuti sono associate a danni irreversibili (istantanea coagulazione delle proteine con danno ai mitocondri e agli enzimi tessutali delle cellule) fino ad ebollizione, vaporizzazione e carbonizzazione tessutale a 100°-110°C. Una necrosi ottimale viene ottenuta con temperature fra 70°-95°C, mantenute per 4-6 minuti (4), mentre per temperature superiori ai 100°C si verificano fenomeni di carbonizzazione del tessuto, che comportano un aumento eccessivo dell'impedenza tessutale, limitando conseguentemente la trasmissione di energia termica e l'area di necrosi. Un altro fattore che influenza l'estensione della necrosi è costituito dai fenomeni di convezione tessutale dovuta alla dispersione del calore operata dal flusso sanguigno nei tessuti tumorali e peritumorali. Per aumentare l'area di necrosi, sono stati sperimentati diversi accorgimenti tecnici alcuni dei quali rivolti ad aumentare la superficie radiante, come l'infissione di elettrodi multipli, l'impiego di due elettrodi con tecnica bipolare, che ha peraltro lo svantaggio di determinare una necrosi di forma ellittica, scarsamente corrispondente alla reale forma rotondeggiante del tumore, l'impiego di aghi provvisti di uncini che fuoriescono dalla punta dell'ago all'interno del tumore o l'impiego di elettrodi con aghi coassiali (*cluster*) distanziati di 5 mm uno dall'altro. La conducibilità elettrica e termica del tessuto tumorale può essere aumentata mediante l'infusione di soluzione fisiologica all'interno del tumore durante il trattamento. Questa procedura si è dimostrata in grado di produrre sperimentalmente lesioni > 5.5 cm, tuttavia presenta lo svantaggio di determinare un focolaio di necrosi di forma irregolare e di estensione difficile da prevedere. Per prevenire i fenomeni di carbonizzazione ed il conseguente aumento dell'impedenza tessutale, è stata proposta l'applicazione di corrente RF pulsata, che aumenta la dismissione di energia termica nel tessuto attorno all'elettrodo mediante brevi periodi di dissipazione del calore. Un'importante innovazione in questo ambito è rappresentata dall'impiego di aghi provvisti di un sistema di raffreddamento con soluzione fisiologica a 0°C, che scorre in canalicoli coassiali interni all'elettrodo stesso. Per limitare la dispersione di calore determinata dal flusso ematico tumorale e peritumorale, è stata proposta l'associazione della termoablazione con l'occlusione del flusso arterioso con catetere a palloncino o con l'embolizzazione dell'arteria segmentaria.

Gli apparecchi per RF sul mercato sono costituiti da un generatore elettrico, uno o più elettrodi ad ago ed una messa a terra; ogni Ditta

fornisce l'ago-elettrodo con morfologia diversa (Monopolare, Bipolare, espandibile ad uncini multipli o espandibile a *cluster* di ago-elettrodi rettilinei, raffreddati). Tutti i generatori di RF lavorano in un *range* di 375-500 kHz, ad una potenza di 50-250W e sono predisposti per creare un diametro di ablazione fino a 4-5 cm (5,15-18).

Selezione dei pazienti e tecnica. La RF è la terapia di scelta nell'EC in stadio 0 ed A della classificazione *Barcelona Clinic Liver Cancer* (BCLC) (1). Per il trattamento delle metastasi, la RF è indicata in pazienti non chirurgici, con numero di noduli ≤ 5 e di diametro ≤ 5 cm, specie da tumore colorettale, in assenza di malattia extraepatica. I tumori ideali sono quelli con un numero di noduli variabile da 1 a 3, di dimensioni < 3 cm, completamente circondati da parenchima epatico, lontani almeno 1 cm dalla capsula epatica e distanti almeno 2 cm dalle vene sovraepatiche o dalla vena porta. Il trattamento di lesioni sottocapsulari è possibile, ma si associa a forte dolore durante e dopo la procedura. Nei tumori adiacenti ai grandi vasi, il trattamento è spesso incompleto per la dispersione termica operata dal flusso ematico, limitando l'estensione dell'ablazione. L'ablazione dei tumori adiacenti ai principali rami portali determina un aumento del dolore e può causare un danno dei dotti biliari associati.

Le controindicazioni al trattamento sono: distanza della lesione < 1 cm dalla via biliare, dilatazione delle vie biliari intraepatiche, sede esofitica anteriore, presenza di anastomosi bilioenterica, trombosi portale, malattia extraepatica, sepsi, coagulopatie gravi non correggibili. L'obiettivo della RF è di distruggere il tumore insieme ad un margine di parenchima sano perilesionale di 5-10 mm. Il paziente viene sottoposto ad una sedazione cosciente con Fentanyl o Midazolam somministrati per via endovenosa, modulata in base alla tolleranza alla manovra. Raramente, nel caso di lesioni grandi o di ridotta tolleranza al dolore, si ricorre all'anestesia generale. La RF viene eseguita per via percutanea od intra-operatoria e l'US è il metodo di *imaging* preferito come guida per la procedura, anche se possono essere utilizzate la TC e la RM. La procedura di termoablazione con radiofrequenze viene eseguita, dopo posizionamento degli elettrodi di dispersione a placca sulle cosce del paziente, introducendo l'ago-elettrodo per via percutanea fino alla lesione da trattare ed alla sua successiva connessione al generatore di RF ed al circuito di raffreddamento. Si aumenta poi il potere del generatore di RF fino a 1.000-1.400 mA; una singola ablazione richiede 8-20 minuti, la

temperatura del tessuto locale raggiunge i 100°C e determina una lesione termica di circa 2-5 cm. Nel corso della manovra eseguita sotto guida US, si produce una nuvola iperecogena dovuta ai fenomeni di vaporizzazione, che tende a mascherare talvolta i confini della lesione e non fornisce indicazioni precise sull'estensione della necrosi. La strategia di ablazione varia a seconda delle dimensioni dei noduli (tumori < 2 cm richiedono 1-2 ablazioni sovrapposte, tumori di 2-3 cm almeno 6 ablazioni e tumori > 3 cm almeno 12 ablazioni sovrapposte). Nel caso di lesioni di dimensioni maggiori, che richiedano posizionamenti multipli dell'ago, esso deve essere inserito inizialmente nelle porzioni più profonde e, quindi, retratto nella parte più superficiale del tumore per evitare che la modificazione dell'aspetto US determinata dal trattamento mascheri le porzioni residue del tumore da trattare. Le dosi di energia ed i tempi di applicazione vengono adattati sulla base delle dimensioni della lesione e delle modificazioni dell'impedenza tessutale, che, se troppo elevata, produce quei fenomeni di carbonizzazione che impediscono la diffusione del calore e l'estensione della necrosi. Per tumori di dimensioni $\leq$ 3 cm di diametro, si utilizzano solitamente correnti di 1.000-1.500 mA con tempi di esposizione di 8-12 minuti. Il controllo dell'efficacia del trattamento viene effettuato solitamente mediante TC spirale o RM con mezzo di contrasto, effettuate a distanza di un mese.

Risultati. Tutti gli studi clinici pubblicati sul trattamento di EC < 3 cm riferiscono eccellenti risultati (Tabella 3), con percentuali di necrosi completa istologica dall'83% al 100% (6,14,19-24,25,26).

Tabella 3 Termoablazione a RF di EC: studi clinici pubblicati

Autore	*N. lesioni*	*Dimensioni (cm)*	*Tipo di ago*	*N. sessioni*	*Necrosi completa*
Rossi, 1998 (14)	26	1.1-3.5	Ad uncini	1.4	26/26 (100%)
Allgaier, 1999 (19)	12	3.2±1.3	Ad uncini	1.2	10/12 (83%)
Livraghi, 1999 (20)	52	1.2-3	Raffreddato	1.2	47/52 (90%)
Curley, 1999 (21)	48	1-3	Ad uncini		47/48 (98%)
Curley, 2000 (22)	110	2.8-4.6	Ad uncini		106/110 (96.4%)
Livraghi, 2000 (23)	80	3.1-5	Raffreddato, *triple cluster*	1.1	49/80 (61%)
	46	5.1-9.5	Raffreddato, *triple cluster*	1.1	11/46 (24%)
Lencioni, 2003 (6)	69	2.8±0.6	Ad uncini / raffreddato	1.1	68/69 (99%)
Rossi, 2000 (24)	62	3.5-8.5	Ad uncini (TAE + RF)	1.1	62/62 (100%)

Confrontata con la PEI (Tabella 2), la RF presenta un vantaggio significativo nel controllo locale della malattia (3) ed anche nella sopravvivenza dei pazienti con piccolo EC, come riportato da alcune recenti meta-analisi (2,11,27). Tutti i dati della letteratura indicano che l'efficacia della termoablazione è elevata nei noduli di piccole dimensioni, ma si riduce notevolmente nei noduli > 3 cm. Un'alternativa efficace nel caso di noduli di EC > 3 cm può essere rappresentata dall'impiego di terapie combinate. La sopravvivenza dopo RF (Tabella 4) diminuisce nei pazienti con funzionalità epatica peggiore e con EC multifocale (32). La RF, rispetto alla PEI, sembra comportare un maggior rischio di disseminazione neoplastica (0.49-12.5%) lungo il percorso dell'ago (33), più frequente in EC sottocapsulari, scarsamente differenziati e con elevazione dell'α-fetoproteina.

Tabella 4 Sopravvivenza in pazienti con EC *early-stage* trattati con RF: studi clinici pubblicati

		Tasso di sopravvivenza (%)		
Autore	***Pz.***	***1 anno***	***3 anni***	***5 anni***
Lencioni, 2005 (28)				
Child A, 1 EC < 5 cm o 3 < 3 cm	144	100	76	51
1 EC < 5 cm	116	100	89	61
Child B, 1 EC < 5 cm o 3 < 3 cm	43	89	46	31
Tateishi, 2005 (29)				
RF come I tratt (n. pz)	319	95	78	54
RF come II tratt per recidiva dopo PEI, RF TACE (n. pz)	345	92	62	38
Cabassa, 2006 (30)	59	94	65	43
Choi, 2007 (31)				
Child A, 1 EC < 5 cm o 3 < 3 cm	359	--	78	64
Child B, 1 EC < 5 cm o 3 < 3 cm	160	--	49	38

Nelle metastasi da colon-retto, la RF eseguita in pazienti candidati ad epatectomia ha portato al risultato di necrosi completa nel 60% e necrosi incompleta nel 40% dei casi, con necessità di ripetizione di alcune RF (6,12-14,21,34-37) (Tabella 5); il 76% dei pazienti ha ottenuto un risparmio di resezioni chirurgiche (38). La sopravvivenza a 5 anni, come riportato in tre studi che includono pazienti con almeno 5 lesioni (dimensioni ≤ 5 cm), varia dal 24% al 44% (36,39-46) (Tabella 6).

Tabella 5 Termoablazione a RF delle metastasi epatiche: studi clinici pubblicati

Autore	***Pz.***	***Dimensioni (cm)***			***Necrosi (%)***	***Recidiva***			***Follow-up (mesi)***	***Vivi***	***Liberi da malattia***
		≤ 3	***> 3***	***(range)***		***LR***	***DR***	***MC***			
Rossi, 1996 (13)	11	5	8	(1-9)	62	1/8	5/8	3/8	11.0	8 (89)	1 (11)
Rossi, 1998 (14)	14			(1.1-3.5)	95	1/9	3/9	5/9	12.0	9 (82)	2 (18)
Solbiati, 1997 (12)	29	32	12	(1.3-5.1)	91	7/18	4/18	--	10.3		
Curley, 1999 (21)	75			(0.5-12)		3/34	27/34	--	15.0		
Goldberg,1998 (34)	10			(3.5-6.5)	90	3/10	-	--			
Jiao, 1999 (35)	35								5.1	21 (78)	17 (63)
Siperstein, 2007 (36)	6			(1.5-7)	100	0	-	--	0-15.0		
de Baere, 2000 (37)	68			(0.5-4.2)	91				13.7		

(LR: *Local Recurrence*; DR: *Distant Recurrence*; MC: *Metastatic Cancer*)

Tabella 6 Sopravvivenza a lungo termine in pazienti con metastasi epatiche colorettali trattati con RF: studi clinici pubblicati

		Tasso di sopravvivenza (%)		
Autore	***Pazienti***	***1 anno***	***3 anni***	***5 anni***
Solbiati, 2001 (39)	117	93	46	-
Lencioni, 2004 (40)	423	86	47	24
Gillams, 2004 (41)	73	99	58	30
Berber, 2005 (42)	135		28.9 mesi (sopravvivenza mediana)	
Jakobs, 2006 (43)	68	--	68	-
Sorensen, 2007 (44)	102	96	64	44
Siperstein, 2007 (36)	234	--	20	18
Machi, 2006 (45)	100	90	42	30
Veltri, 2008 (46)	122	79	38	22

Il limite principale della termoablazione a RF è la difficoltà nel riscaldamento del fegato normale e quindi la percentuale di recidiva ai margini della lesione è maggiore di quanto sarebbe auspicabile.
Gli effetti collaterali comuni della RF dell'EC sono: intenso dolore addominale durante la procedura, dolore addominale dopo la procedura, febbre, nausea e versamento pleurico destro (> del 70%). Le complicanze precoci maggiori (sanguinamento addominale, infezione addominale, lesioni alla via biliare, scompenso epatico ecc.) sono riportate nel 2.2-3.1% (47), le più frequenti sono rappresentate da ematoma subcapsulare (12.5%), versamento pleurico destro (2%), emobilia (2%), colecistite (2-3%), trombosi portale (3%), sanguinamento intestinale (3%), emotorace (2%) ed emoperitoneo (1.8-3%). I tassi di mortalità e morbidità riportati sono circa dello 0.5% e dell'8.9%, rispettivamente (48).

Termoablazione con Laser (Laser Interstitial Thermoablation Therapy, LITT)
Il laser è una sorgente che produce un fascio monocromatico, collimato e coerente di radiazioni elettromagnetiche in grado di trasmettere elevate quantità di energia in maniera estremamente precisa e focalizzata. La fonte di energia laser maggiormente utilizzata in ambito medico è in Nd-YAG laser, che emette un fascio di fotoni con lunghezza d'onda di 1.064 nm (spettro degli infrarossi). L'energia

dei fotoni viene assorbita dal tessuto epatico sotto forma di energia termica.
La selezione dei pazienti è la medesima della termoablazione con RF.
Tecnica. Il fascio laser viene condotto all'interno della lesione mediante una o più fibre ottiche di 0.2-0.6 mm di calibro, inserite in aghi sottili tipo Chiba (21 Gauge). La maggiore limitazione è rappresentata dalle ridotte dimensioni della lesione termica ottenibile, poiché ogni singola fibra laser induce un volume sferico di necrosi tessutale di circa 1.5-2 cm.
Per trattare tumori di dimensioni maggiori vengono utilizzati due sistemi: a) l'introduzione di più fibre (di solito 4) in aghi di 20-21 Gauge distanziati 2 cm tra loro, il cui preciso posizionamento all'interno della lesione può essere tecnicamente difficile utilizzando un *beam-splitter*, che permette di suddividere l'energia del fascio laser in 4 fibre ottiche. Il numero di fibre ottiche viene scelto a seconda delle dimensioni della lesione epatica da trattare (49). L'inserimento simultaneo fino a 8 fibre distanziate di 2 cm tra loro nel centro di una lesione, con un tempo di trattamento di 60-90 minuti produce una necrosi confluente di 6-7 cm di diametro; b) impiego di fibre a punta raffreddata che possono depositare fino a 30 W su un'ampia superficie, riducendo il surriscaldamento locale (50).
Apparecchi laser a stato solido sono attualmente disponibili con potenza in uscita di 30 W. Questa energia può essere trasmessa attraverso fibre di oltre 10 m in lunghezza, con grande vantaggio di essere compatibili con la RM come metodica guida.
Risultati. L'ablazione con laser è stata prevalentemente utilizzata nel trattamento di metastasi epatiche con risultati di necrosi complete del 78-95% (49,50); la sopravvivenza risulta correlata al successo tecnico della termoablazione tumorale ed al comportamento biologico del tumore, con sopravvivenza mediana di 33 mesi e del 30% a 5 anni (51). Le prime poche esperienze nel trattamento dell'EC eseguite su tumori di dimensioni variabili tra 1 e 6.6 cm, mediante inserimento di 1-4 fibre laser in una singola sessione, riportano percentuali di necrosi completa comprese fra l'82% ed il 97%, (52,53) con recidive locali a 2 anni nel 6% dei casi e di sopravvivenza a 3 e 5 anni del 68% e 15%, rispettivamente (53). Come per la RF, l'associazione di un trattamento ablativo locale mediante laser con un trattamento d'organo TACE (*Trans-Arterial Chemoembolization*) sembra produrre risultati nettamente migliori (53).
Complicanze e limiti. Sono sovrapponibili a quelle della RF (54).

Termoablazione con Microonde (Microwave Thermoablation, MT)

Tecnica e selezione dei pazienti. Le microonde agiscono in maniera analoga alla RF, determinando un riscaldamento del tessuto attraverso la polarizzazione delle molecole conseguente al passaggio di onde elettromagnetiche ad alta frequenza (2.450 MHz) (32). Necessitano dell'impiego di aghi di calibro maggiore rispetto alla RF (14 G pari a 1.6 mm) e producono un'area di termocoagulazione ellittica $\geq$ 2 cm attorno alla punta dell'elettrodo. Il trattamento viene ripetuto 3 volte alla settimana (51). L'elettrodo all'interno del tessuto si comporta come un'antenna, concentrando un campo elettromagnetico ad elevata intensità con la polarizzazione delle molecole, l'agitazione delle molecole d'acqua e conseguente riscaldamento del tessuto fino alla coagulazione termica. È richiesta un'irradiazione ripetuta a 60 W per 60-120 secondi con un ago elettrodo di 1.6 mm di misura. Sotto guida US, viene inserito in prossimità del tumore l'ago-guida, al cui interno viene avanzato l'elettrodo a microonde fino al centro del tumore. Le microonde vengono erogate per 60 secondi alla potenza di 60 W. Durante la procedura, il controllo US dimostra un'area iperecogena attorno alla punta dell'elettrodo, che rappresenta la necrosi coagulativa in via di formazione. Il trattamento di solito viene ripetuto 3 volte alla settimana fino a completa ablazione dell'intera lesione.

Le indicazioni e le caratteristiche delle lesioni trattabili sono le stesse delle altre tecniche percutanee.

Risultati. Diffusa nei paesi asiatici, è stata utilizzata in piccoli gruppi di pazienti. Nel primo studio che include EC < 2 cm (55), è riportata una necrosi del 100%; in una casistica più ampia (50 pazienti con 107 noduli di EC di diametro medio di 2.7 cm), viene riportata necrosi completa del 98% nei noduli < 2 cm e del 92% in noduli > 2 cm (56). In un più ampio studio su 234 pazienti, la sopravvivenza a 3 e 5 anni è risultata rispettivamente del 75% e del 57% (57), correlata alla dimensione del tumore, al numero di noduli di EC e alla classificazione Child-Pugh. Un solo studio clinico randomizzato confronta la MT con la RF (noduli di diametro compreso tra 1 e 3.7 cm), mostrando, in assenza di differenze significative, una tendenza a favore della RF in termini di recidiva locale ed tasso di complicanze (58).

Crioablazione

Tecnica. Si basa sul danno cellulare indotto dal rapido raffreddamento, prodotto dall'espansione e dal conseguente raffreddamento di un gas compresso (argon), seguito dal rapido

riscaldamento tessutale dovuto all'energia proveniente dal passaggio da alta a bassa pressione di un altro gas (elio). I tempi del raffreddamento sono generalmente di 10-20 minuti, seguiti da un riscaldamento di 10 minuti (5). Viene eseguita sotto guida US o TC.
Risultati. Ad oggi, mancano in letteratura studi clinici randomizzati e le esperienze sul fegato sono limitate. Lo studio di Seifert et al. (59), che confronta resezione chirurgica e crioablazione, mostra morbilità inferiore con la crioablazione e sopravvivenza a 5 anni sovrapponibile tra i due gruppi (23% e 26%, rispettivamente); la percentuale di recidive è risultata essere superiore nella crioablazione. Un gruppo italiano (60) riporta su 4 piccoli EC (dimensioni $\leq$ 3 cm) e con un *follow-up* di 6 mesi, un successo tecnico del 100%, ma tasso di recidiva del 25%.

Ultrasuoni ad Alta Intensità Focalizzati (High Intensity Focused Ulrasound, HIFU)
Tecnica. Il principale vantaggio teorico di questa tecnica è quello di indurre una lesione termica senza inserire aghi: gli ultrasuoni, infatti, sono prodotti da un generatore di corrente elettrica e da un trasduttore che trasforma l'energia elettrica in ultrasuoni, utilizzando solo apparecchiature extracorporee. Energie elevate (200 W), 10.000 volte maggiori delle energie utilizzate per gli ultrasuoni diagnostici, vengono focalizzate verso una piccola area di tessuto (attraverso l'uso di trasduttori) con raggiungimento di temperature $\geq$ 60°C che provocano necrosi tessutale. L'HIFU viene eseguita sotto guida US o RM.
Risultati. Attualmente, gli ultrasuoni localizzati rimangono una metodica sperimentale. Recenti studi mostrano come l'HIFU rappresenti una vera promessa nel trattamento delle neoplasie epatiche (61,62). Uno studio (61) randomizzato su pazienti con EC (un braccio combinato TACE-HIFU e l'altro esclusivamente TACE) mostra sopravvivenza mediana di 11.3 mesi nel gruppo HIFU-TACE e di 4 mesi nel gruppo TACE. L'HIFU risulta promettente anche per il trattamento di tumori epatici $\geq$ 5 cm, poiché l'assenza di effetti collaterali e di complicanze permette di eseguire multiple sessioni; Wu et al. riportano (in EC di dimensioni medie di 8 cm) una sopravvivenza a 6, 12 e 18 mesi rispettivamente dell'86.1%, 61.5% e 35.3% (63). In un recente lavoro che includeva il trattamento di 39 pazienti con un totale di 42 noduli vicini a vasi sanguigni di grosso calibro, Zhang et al. hanno dimostrato come l'HIFU sia una tecnica sicura ed efficace per l'EC ad un *follow-up* medio di 23.8 ± 17.2 mesi (64).

Infusioni intra-arteriose

Principi della metodologia e descrizione della tecnica. Consiste nella somministrazione diretta dei farmaci nell'organo o regione sede del tumore, attraverso l'afferenza arteriosa. Perché questa terapia sia efficace è necessario che il tumore abbia prevalente crescita "regionale", che la sintomatologia correlata sia clinicamente rilevante, che il farmaco utilizzato possieda una curva dose-risposta di tipo lineare e che si ottenga un'adeguata distribuzione del farmaco all'interno della lesione. L'obiettivo dell'infusione loco-regionale di farmaci è di aumentarne le concentrazioni regionali ottenendo maggiore attività locale senza aumento della tossicità generale. La tecnica consiste in infusioni ripetute o nell'impianto di un sistema di infusione.

1 *Infusioni ripetute*. Dopo angiografia diagnostica eseguita per definire l'anatomia vascolare del distretto *target*, si posiziona un catetere angiografico nell'afferenza desiderata: tripode celiaco per infusioni pancreatiche ed arteria epatica per infusioni epatiche. Il catetere viene rimosso al termine della terapia.

2 *Infusioni attraverso Infuse a Port impiantato per via percutanea.* Il sistema *Infuse a Port* consta di un serbatoio in titanio con membrana in silicone connesso ad un catetere posizionato in arteria epatica. Può essere posizionato per via femorale, succlavia od ascellare sinistra. Dopo l'angiografia diagnostica e l'embolizzazione dell'arteria gastroduodenale, si sostituisce il catetere angiografico con catetere in silicone o poliuretano del sistema *Infuse a Port* con estremo distale in arteria epatica propria o nel ramo destro o sinistro, in sede semi-occlusale. Si procede al confezionamento di una tasca sottocutanea per accogliere il serbatoio e di un tunnel sottocutaneo per il passaggio del catetere. Al termine della procedura, si esegue terapia anticoagulante con iniezione nel serbatoio di 2.000 UI di Eparina ripetuta al termine di ogni seduta o 1 volta/settimana nell'intervallo tra i cicli + 2 iniezioni/die sottocute (65). Altro schema consigliato è una bassa dose giornaliera di Warfarin, per mantenere l'INR tra 1.5 e 2.0 (66,67).

<u>*Patologie target*</u>

a) neoplasie primitive del pancreas;
b) neoplasie primitive del fegato;
c) metastasi epatiche da neoplasie del colon-retto.

a) Tumori del pancreas. Il razionale della chemioterapia intra-arteriosa dipende dal fatto che la crescita tumorale induce la formazione di nuovi circoli arteriosi e dalla prevalente diffusione del carcinoma pancreatico in sede addominale (linfonodi regionali, fegato e superficie peritoneale) (68).
Dopo i risultati di uno studio di fase II su pazienti affetti da carcinoma del pancreas in stadio III e IV trattati con infusione nel tripode celiaco secondo lo schema FLEC (5-Fluorouracile, Acido Folinico, Epirubicina e Carboplatino) (69,70), sono stati condotti due studi randomizzati SITILO che hanno confrontato lo stesso trattamento loco-regionale con la Gemcitabina somministrata per via sistemica, dimostrando un vantaggio statisticamente significativo in termini di sopravvivenza globale a favore dei pazienti sottoposti a chemioterapia loco-regionale (7.9 vs 5.8 mesi) (71,72). Uno studio successivo, in cui pazienti in stadio III e IV sono stati sottoposti a trattamento FLEC, ha dimostrato sopravvivenza mediana di 9.2 mesi (10.5 mesi nello stadio III e 6.6 mesi nello stadio IV) (73). In una recente analisi multivariata su pazienti con carcinoma in stadio avanzato trattati con terapia FLEC intra-arteriosa è stato dimostrato che il grado di riduzione del dolore dopo trattamento intra-arterioso ($\leq$ 30% del livello base vs > 30%; sopravvivenza 7.6 vs 11.5 mesi), lo stadio di malattia (III vs IV stadio; sopravvivenza 10.5 vs 6.6 mesi) ed il numero di cicli somministrati ($\leq$ 3 vs > 3; sopravvivenza 5.9 vs 12.3 mesi) rappresentano fattori prognostici indipendenti (74). Molto interessanti sono gli studi che utilizzano una terapia intra-arteriosa secondo lo schema FLEC con intento adiuvante e neoadiuvante. Uno studio randomizzato su pazienti sottoposti a trattamento intra-arterioso senza o con infusione sistemica di Gemcitabina ha dimostrato come il regime FLEC, sia senza sia in associazione al trattamento sistemico, presenti bassa tossicità e risultati incoraggianti in terapia adiuvante (75). Di recente, sono stati pubblicati studi di fase I sulla somministrazione di Gemcitabina-Capecitabina per via sistemica associata a terapia intra-arteriosa mediante Epirubicina-Cisplatino a scopo neoadiuvante nel tumore del pancreas (76).

b) Tumori delle vie biliari. Il razionale del trattamento intra-arterioso delle neoplasie biliari dipende dalla crescita prevalentemente locale e dall'esclusivo rifornimento arterioso dell'albero biliare dall'arteria epatica. Poche sono le esperienze di terapia intra-arteriosa nelle neoplasie delle vie biliari. Una delle casistiche più numerose su pazienti trattati con Cisplatino, 5-Fluorouracile (5-FU) ed Acido Folinico, somministrati in arteria epatica, ha dimostrato una buona

efficacia in termini di risposte obiettive, con sopravvivenza mediana superiore rispetto ai trattamenti sistemici (77). In un altro studio, un gruppo di pazienti affetti da colangiocarcinoma metastatico è stato sottoposto a terapia combinata con Epirubicina e Cisplatino per via intra-arteriosa e 5-Fluorouracile in infusione continua endovenosa: nell'80% dei pazienti è stato ottenuto il controllo della malattia, con sopravvivenza mediana di 11 mesi e sopravvivenza ad 1 e 2 anni del 42% e dell'11% (78). In uno studio di fase II, 30 pazienti con tumore biliare avanzato o metastatico sono stati trattati con infusione intra-arteriosa di Epirubicina e Cisplatino associata all'infusione sistemica di 5-FU. Il tasso di risposta è stato del 40%, con malattia stabile nel 40% e progressione nel 20%. La sopravvivenza mediana è stata di 13.2 mesi, con sopravvivenza ad 1 e 2 anni del 54% e 20%, rispettivamente (79). Uno studio di fase II su 30 pazienti con tumore inoperabile trattati con infusione intra-arteriosa di Epirubicina e Cisplatino associata a Capecitabina per via orale ha riportato risposta parziale nel 31.5%, malattia stabile nel 47.5% e progressione nel 21%. La sopravvivenza mediana è stata di 18 mesi, con sopravvivenza ad 1 anno del 74% (80). Un recente lavoro ha valutato la correlazione tra polimorfismo nucleotidico ed *outcome* dei pazienti trattati mediante infusione di Cisplatino ed Epirubicina endovena o intra-arteriosa associati a somministrazione orale di Capecitabina. La mediana di tempo libero da malattia e la sopravvivenza sono state di 4.8 mesi e 18.9 mesi. È stata rilevata significativa correlazione tra variante XRCC1-Arg399Arg e minore sopravvivenza, per cui tale polimorfismo può essere ritenuto fattore prognostico negativo (81).

c) Metastasi epatiche. Le indicazioni alla terapia intra-arteriosa sono rappresentate dal trattamento delle metastasi epatiche nei pazienti non operabili (terapia palliativa) o come terapia neoadiuvante ed adiuvante.

- Terapia palliativa intra-arteriosa. In una meta-analisi condotta su 7 studi clinici randomizzati controllati (5 di confronto FUDR in arteria verso FUDR o 5-FU sistemici e 2 tra FUDR in arteria ed un gruppo ricevente il trattamento endovenoso al bisogno), si è osservato un vantaggio significativo (p=0.0009) nella sopravvivenza per il trattamento intra-arterioso, vantaggio non osservato restringendo l'analisi ai 5 studi in cui FUDR veniva confrontato con FUDR o 5-FU sistemici. In un'altra meta-analisi, la terapia endoarteriosa con FUDR otteneva un 10% e 6% di incremento di sopravvivenza ad 1 e 2 anni rispetto alla terapia

sistemica (82,83). In uno studio clinico multicentrico, pazienti con metastasi colorettali non operabili sono stati randomizzati a ricevere il trattamento intra-arterioso singolarmente o combinato alla chemioterapia sistemica con 5-FU e Leucovorina. La sopravvivenza è risultata maggiore nei pazienti trattati con terapia combinata rispetto alla sola intra-arteriosa (mediana 20 vs 14 mesi; p=0.0033), così come la risposta (47.5% vs 41.7%; p=0.09) ed il tempo di progressione della malattia (12 vs 8 mesi; p=0.39), con bassa tossicità del trattamento combinato (84). Alcuni studi hanno dimostrato ottimi risultati del trattamento intra-arterioso in pazienti pre-trattati con più cicli di chemioterapia per via sistemica. In un recente lavoro, pazienti pre-trattati sono stati sottoposti ad infusione intra-arteriosa di Oxaliplatino, Acido Folinico e 5-FU con dimostrazione di bassa tossicità, ottimo controllo della crescita tumorale (52%: 5% risposta completa, 19% risposta parziale e 28% malattia stabile), sopravvivenza mediana di 36.1 mesi e sopravvivenza a 2 e 3 anni del 62% e 52%, rispettivamente (85).

- Terapia intra-arteriosa neoadiuvante ed adiuvante. Non ci sono studi recenti sull'impiego di terapie adiuvanti intra-arteriose dopo resezione chirurgica. In uno studio statunitense, la sopravvivenza a 3 anni si è dimostrata superiore se alla chirurgica si associava chemioterapia sistemica + intra-arteriosa rispetto alla sola chirurgia (58% vs 34%, p=0.039). In pazienti sottoposti a resezione, la successiva infusione intraepatica ha portato ad una sopravvivenza a 2 anni dell'85% (86).

Chemioembolizzazione (Trans-Arterial Chemoembolization, TACE)

La chemioembolizzazione (TACE), introdotta negli anni '70, oggi è la procedura più diffusa per il trattamento dell'epatocarcinoma (EC) in stadio intermedio non resecabile e non eleggibile per le terapie cosiddette curative (chirurgiche e percutanee quali la PEI e la RF) oltre che delle metastasi epatiche da melanoma, carcinoide e tumori neuroendocrini (87). La TACE tradizionale consiste in un'iniezione intra-arteriosa di antiblastici (Doxorubicina, Epirubicina, Mitomicina C, Cisplatino od altri), miscelati in un mezzo di contrasto oleoso (Lipiodol), associata ad embolizzazione della medesima arteria ottenuta iniettando sostanze embolizzanti permanenti o temporanee. Varianti della TACE standard, applicate in alcuni Centri, sono l'embolizzazione senza infusione del chemioterapico (TAE), la chemioterapia intra-arteriosa senza embolizzazione (TAC) e

l'infusione di Lipiodol e chemioterapico (88). Il razionale della TACE si fonda sulla peculiarità anatomica del fegato, che riceve circa il 75% del fabbisogno ematico dalla vena porta ed il 25% dell'arteria epatica. Tale rapporto si inverte nelle neoplasie maligne (specie l'EC), che ricevono il 95% del loro fabbisogno ematico dall'arteria epatica; pertanto, la TACE consente, mediante iniezione intra-arteriosa del chemioterapico nei vasi afferenti al tumore, di inviare il farmaco miratamente al tumore, risparmiando il tessuto epatico non neoplastico a prevalente perfusione portale; la selettività del trattamento è fondamentale per risparmiare danni al fegato, la cui funzione è compromessa dall'associata cirrosi. L'embolizzazione arteriosa finale è anch'essa selettiva per il tumore, inducendo ischemia dell'area neoplastica e, nello stesso tempo, bloccando il deflusso realizza un aumento del tempo di contatto col farmaco, da ore a settimane, ed un'elevata concentrazione del farmaco entro il tumore, da 10 a 100 volte rispetto all'infusione sistemica. Ne deriva una necrosi indotta dall'effetto combinato delle alte concentrazioni di farmaco e dell'ischemia, che agirebbe anche favorendo la persistenza di alcuni chemioterapici mediante un'inibizione della proteina implicata nella loro espulsione attiva dall'epatocita: per tali ragioni, i farmaci più correntemente usati sono la Epi-Doxorubicina ed il Cisplatino impiegati in associazione o come monoterapia. Il Lipiodol è scelto come *carrier* del chemioterapico per garantirne un rilascio prolungato, sia per il suo effetto embolizzante nei piccoli vasi sia perché si accumula e persiste nei sinusoidi neoplastici più a lungo che nel fegato cirrotico, anche a causa dell'assenza delle cellule di Kupffer, deputate alla sua eliminazione.

Indicazioni. Le linee guida EASL (1) e l'algoritmo stadiativo-terapeutico proposto dell'*American Association for the Study of Liver Diseases* (AASLD) (89) considerano la TACE indicata come trattamento palliativo dell'EC in pazienti in stadio intermedio della classificazione BCLC, cioè con tumore multinodulare (> di 3 noduli) o con EC monofocale > 5 cm, non suscettibile di trattamento chirurgico o percutaneo, privo di invasione vascolare o diffusione extraepatica in paziente asintomatico - *performance status* ECOG 0 - in classe di Child-Pugh A-B, (Tabella 1). La TACE è anche indicata in caso di noduli piccoli in stadio precoce (0 e A), solo se non aggredibili chirurgicamente o per via percutanea per la loro sede troppo profonda (ad esempio, in sede para-cavale) o troppo superficiale (ad esempio, quando esofitici e con controindicazioni alla chirurgia) ed a

completamento di altre metodiche, qualora persista tumore residuo, dopo alcolizzazione o termoablazione e come procedura di *down-staging* in previsione di terapie radicali. La TACE viene diffusamente utilizzata come terapia neoadiuvante "a ponte" con il trapianto di fegato per rallentare la progressione tumorale e quindi il *drop-out* durante l'attesa in lista; la TACE è indicata quando l'attesa in lista è > 6 mesi (90). Inoltre, una risposta completa alla TACE può essere usata in fase pre-trapianto come indicatore di una minore aggressività biologica tumorale, introducendo un nuovo criterio di selezione dei pazienti al trapianto (91,92). In alcuni Centri, la TACE viene anche utilizzata per ottenere un *down-staging* di tumori preliminarmente non candidabili a trapianto, espandendo le indicazioni oltre ai criteri di Milano e per ridurre la diffusione tumorale pre- e durante l'intervento. Non sono tuttavia riferite in letteratura differenze statisticamente significative di sopravvivenza dopo trapianto tra pazienti trattati con TACE e non (90).

Controindicazioni:

- EC ipovascolare;
- stadio di EC terminale, ovvero in presenza di metastasi extraepatiche o grave compromissione del *performance status* (ECOG > 2);
- classe C di Child-Pugh e grave compromissione epatica (encefalopatia, ascite refrattaria) o varici esofagee di voluminose dimensioni non trattate. Anche se eseguita con modalità superselettiva, la TACE può comportare comunque una riduzione del parenchima funzionante e, nell'ambito di un fegato con cirrosi avanzata, anche una minima perdita di attività può portare all'insufficienza;
- trombosi portale, neoplastica e non: tale condizione rappresenta una controindicazione relativa, basata sull'assunto che in presenza di compromissione dell'afflusso portale l'embolizzazione arteriosa priverebbe il fegato dell'unica afferenza vascolare. Tuttavia, non sono riportate un'incidenza d'insufficienza epatica acuta ed una mortalità significativamente maggiori dopo TACE in questa condizione (93). In caso di trombosi neoplastica ostruttiva del tronco portale comune, è comunque raccomandabile eseguire una procedura superselettiva (94) od una TAC (senza embolizzazione).

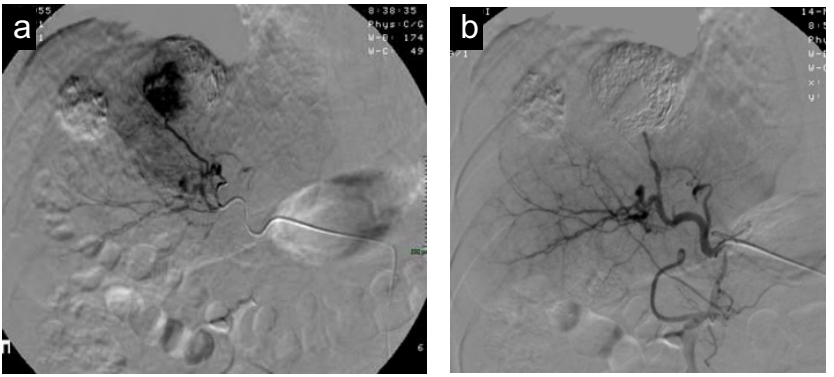
Fattori prognostici favorevoli per la TACE, in termini di conservazione della funzione epatica e di sopravvivenza, sono rappresentati da:

- dimensioni del tumore < 8-10 cm;
- numero di noduli < 9;
- sostituzione epatica < 50%;
- Albumina > 35 g/l;
- Bilirubina < 2 mg/dl (95,96).

Procedura. La TACE viene effettuata dopo una preliminare angiografia diagnostica mirata a valutare: a) la perfusione epatica, per ricercare le arterie afferenti al/ai tumore/i. Una precisa mappatura preliminare delle possibili varianti anatomiche (ad esempio, l'arteria gastrica destra ad origine dall'arteria epatica destra) e della sede dell'arteria cistica è indispensabile per prevenire le possibili complicanze della TACE legate a danni ischemici e tossici agli organi non-bersaglio (97); b) la pervietà del sistema portale e delle vene sovraepatiche, ove non valutate da una preliminare Angio-TC (per esclusione di eventuale trombosi neoplastica portale e sovraepatica e di segni di ipertensione portale); c) la presenza di circoli neoplastici parassiti extraepatici (arterie frenica inferiore, surrenale, mammaria interna, intercostali, ecc.), che possono contribuire alla vascolarizzazione dell'EC nei tumori voluminosi o a sede superficiale e che si sviluppano prevalentemente dopo i primi trattamenti.

Nel ramo segmentario afferente al tumore, se singolo o nell'arteria epatica destra o sinistra del lobo interessato dall'EC in caso di malattia multifocale, viene quindi eseguita la chemioinfusione del chemioterapico miscelato a Lipiodol (olio di semi di papavero iodato) fino a rallentamento del flusso, come documentato dal controllo radioscopico. Al termine dell'infusione viene eseguita l'embolizzazione con particelle di materiale riassorbibile o permanente (spugna di gelatina, alcool polivinilico o microsfere), fino ad ottenere l'arresto del flusso (Figura 1).

Figura 1



a) Quadro angiografico diagnostico di una TACE tradizionale: a destra si apprezza residuo di Lipiodol in un nodulo già trattato con successo da una pregressa TACE; alla sua sinistra è presente nuovo nodulo ipervascolare di circa 3 cm, da ripresa di malattia. b) Controllo finale dopo ripetizione di TACE tradizionale, con devascolarizzazione anche della seconda lesione

E' dimostrato che l'approccio selettivo (vasi segmentari o subsegmentari) o superselettivo (vasi afferenti del tumore) dell'EC fornisce i migliori risultati di necrosi della neoplasia, garantendo una minor percentuale di complicanze immediate e di insufficienza epatica (98). Nella TACE segmentaria o subsegmentaria l'occlusione provocata dall'embolizzazione si estenderebbe anche al plesso peribiliare ed alle venule portali: si ottiene un riempimento completo del nodulo in oltre il 70% (mentre nella TACE bilobare è attorno al 30%) e la percentuale di necrosi completa sarebbe del 64-83%, nettamente superiore alla TACE bilobare (circa 38%). La TACE superselettiva è stata definita *Angiographic sub-segmentectomy*, poiché nelle lesioni < 2 cm fornirebbe risultati equivalenti alla resezione chirurgica, provocando sempre una necrosi completa, con recidive ad 1 anno del 5%, inferiori alle restanti metodiche percutanee e/o chirurgiche (99).
In caso di EC multifocale con noduli disseminati ai due lobi, la TACE bilobare (per iniezione nell'arteria epatica propria), eseguita in passato, è oggi sostituita dalla TACE selettiva lobare sequenziale, effettuata in due sedute successive distanziate di un mese; il trattamento completo del fegato può richiedere sedute multiple a seconda della risposta ottenuta alla TC o RM di controllo a 30 giorni (crescita neoplastica, incompleto accumulo di Lipiodol). Mentre alcuni

Autori usano ripetere cicli di TACE con intervallo di 2-4 mesi, in analogia con i protocolli delle terapie sistemiche oncologiche, attualmente c'è concordanza sulla ripetizione del trattamento *on demand*, solo ove sia dimostrata persistenza o recidiva di tessuto neoplastico vitale alla TC o meglio alla RM, di solito eseguita a 30 giorni (100,101).

Effetti collaterali e complicanze. Fino nell'80% circa dei casi, dopo TACE si manifesta la cosiddetta "sindrome postembolizzazione", caratterizzata da dolore addominale, febbre, nausea e vomito. Di solito, i sintomi sono di modesta entità e si risolvono, dopo una media di 1.5 giorni, senza trattamento specifico. Altri effetti collaterali sono quelli sistemici dei chemioterapici utilizzati, quali: nausea, vomito, citopenia, alopecia. Il farmaco più utilizzato, la Doxorubicina, ha metabolismo epatico ed escrezione biliare e, poiché solo il 60% del farmaco è rimosso nel primo passaggio attraverso il fegato, si possono realizzare concentrazioni anche elevate a livello sistemico.

Complicanze severe (ascessi o necrosi epatiche) sono riportate nel 3-5% dei pazienti. La percentuale di mortalità a 30 giorni è dell'1-3%, con alcuni dei decessi correlati alla malattia epatica di base (51).

Risultati. L'efficacia della TACE può essere valutata mediante vari parametri, anche se l'unico valido è la sopravvivenza, mediana e percentuale ad 1, 3 e 5 anni e la sopravvivenza libera da malattia. In questo ambito, i dati della letteratura sono difficili da interpretare, per difformità tra le tecniche ed i farmaci impiegati e disomogenee popolazioni di pazienti, che spesso comprendono gli stadi più avanzati, in cui i rischi della terapia sono maggiori ed i vantaggi potenziali minori (88). Molti studi della pregressa letteratura includevano trattamenti di TACE bilobare, oggi abbandonata poiché gravata da una quota di complicanze elevata, bassa percentuale di necrosi complete con necessità di trattamenti ripetuti (102).

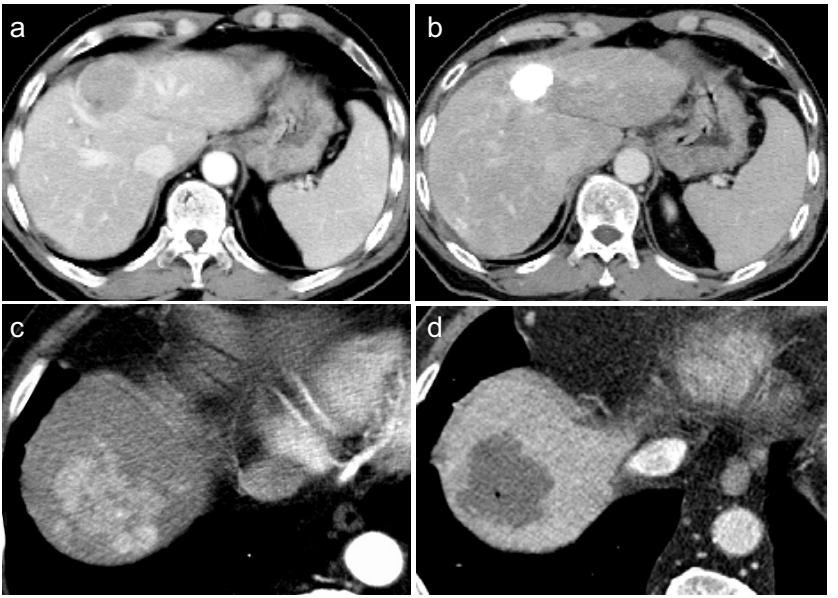
Risposta al trattamento. I criteri di valutazione utilizzati sono la risposta biologica (riduzione dell'α-fetoproteina, AFP) e la risposta obiettiva (radiologica) tumorale in termini di dimensioni del nodulo tumorale, secondo i criteri monodimensionali RECIST, che hanno sostituito i criteri WHO. Da una revisione dei risultati della letteratura (88), basandosi sui criteri WHO i tassi di risposta si attestano su una mediana del 38% (40 ± 20). E' da rilevare che i soli criteri dimensionali si sono dimostrati non idonei a valutare la risposta dell'EC ai trattamenti, poiché la necrosi, anche completa, della neoplasia non sempre si esprime con riduzione dimensionale, mentre si associa ad una

riduzione della componente vascolare dell'EC, dimostrata con TC-RM dinamica con mezzo di contrasto. Pertanto, l'EASL (1,89,103) raccomanda di utilizzare, per la stima della risposta, la valutazione dimensionale solo del tessuto vitale residuo, che si manifesta come area di tessuto ipervascolare in fase arteriosa dello studio TC o RM dinamico: tali criteri sono stati recentemente ridefiniti come criteri "mRECIST" e prevedono di misurare il maggior diametro del tessuto vitale residuo, escludendo le porzioni tumorali necrotiche (104). La valutazione della necrosi rilevata sul campione chirurgico dei fegati resecati od espiantati dimostra percentuali di necrosi completa dopo TACE del 44 ± 30%, variabile a seconda della selettività della procedura (88,105).

Sopravvivenza. La TACE applicata in pazienti con EC in stadio BCLC intermedio, pur non venendo considerata radicale e curativa, ha dimostrato in due studi prospettici controllati (106,107) ed in due meta-analisi (108,109) di incrementare la sopravvivenza in modo significativo, rispetto alla sola terapia di supporto, da una media di 16 a 22 mesi (108). In letteratura, i valori medi di sopravvivenza a 1, 2 e 3 anni sono del 63%, 44% e 31%, rispettivamente, con un trend di miglioramento negli anni più recenti (88). Uno studio su 8.510 pazienti trattati con TACE ha riportato una sopravvivenza mediana di 34 mesi, con tassi a 1, 3 e 5 anni rispettivamente dell'82%, 47% e 26% (87). Esistono a tutt'oggi poche prove definitive della superiorità in termini di sopravvivenza della TACE completa rispetto alla TAE, ad eccezione di alcuni studi randomizzati condotti su pochi casi (108). Ciò indicherebbe che il principale responsabile degli effetti del trattamento sia il danno ischemico. Un recente studio randomizzato (110) di confronto tra TACE e semplice TAE con microsfere tuttavia dimostrerebbe un'azione additiva positiva del chemioterapico aggiunto all'ischemia: nello studio vengono riportate migliori risposte a 6 mesi (rispettivamente del 73% e del 55%) ed una significativa riduzione di recidive locali a 6 e 12 mesi. I dati contenuti negli studi citati enfatizzano ulteriormente l'importanza della tecnica esecutiva e del *timing* della TACE, del numero delle procedure da eseguirsi su ogni singolo paziente, oltre che dell'accurata selezione dei pazienti. I fattori che incidono sulla sopravvivenza globale sono, infatti, legati sia allo stadio di malattia (dimensione e numero delle lesioni), che condiziona la possibile risposta alla terapia, sia allo stato di compenso epatico ed alle condizioni generali del paziente.

Limiti della TACE sono rappresentati dalla sua minor efficacia nell'ottenere una necrosi completa ed una maggior quota di recidive locali rispetto ai trattamenti ablativi locali; pertanto, l'orientamento recente è quello di combinare le tecniche ablative percutanee alla TACE. Le percentuali di recidive a 1, 2 e 3 anni sono rispettivamente dell'ordine del 25%, 55% e 67% in molteplici studi. I fattori prognostici che incrementano il rischio di recidiva sono legati al numero di noduli, alle dimensioni totali, ai valori di AFP e quindi, in generale, allo stadio di malattia, in particolare alla presenza di trombosi portale. Hanno valore prognostico anche la sede del tumore, che incide sulla probabilità di occlusione completa dei vasi nutritizi, e la percentuale di captazione di Lipiodol. In genere, l'intensità e la completezza dell'accumulo-captazione di Lipiodol nel tumore rilevato alla TC un mese dopo TACE (Figura 2a, b) è direttamente correlata con la percentuale di necrosi completa, come dimostrato in controlli chirurgici: l'area di deposito compatto ("a sasso") di Lipiodol corrisponderebbe a necrosi completa ottenuta (101,111) ed è predittivo per miglior sopravvivenza a 1 anno e minor quota di recidive locali (112).

Figura 2



a,b) Studio TC in fase portale prima (a) ed 1 mese dopo TACE tradizionale (b) con accumulo "a sasso" del Lipiodol nel nodulo. c,d) Studio TC in fase arteriosa prima (c) ed 1 mese dopo DEB-TACE (d). Risposte complete all'*imaging* in entrambi i casi.

Trattamenti combinati

La prima combinazione è stata TACE e PEI, che ha permesso di ottenere risultati superiori a quelli ottenuti con le singole terapie (113). La TACE preliminare alla PEI provoca necrosi, che permette una maggior diffusione e maggiori volumi di alcool; inoltre, induce un vallo fibroso peritumorale che migliora la ritenzione dell'alcool nella lesione e riduce il *washout* (114). La combinazione di TACE e PEI è stata valutata in due studi randomizzati (113,115): nel primo, il trattamento combinato di EC di grosse dimensioni (3-8 cm), comparato con TACE ripetute, ha dimostrato migliore sopravvivenza globale e libera da malattia, con meno effetti collaterali sulla funzione epatica. Una singola seduta di TACE combinata a PEI equivale a 5 sedute di sola TACE. Nel secondo studio (113), l'utilità della terapia combinata nel piccolo EC è stata comparata con sedute di sola PEI: la combinazione TACE-PEI riduce il numero delle sedute di PEI (media 3.8 rispetto a

5.3 sessioni) e la quota di recidive a 2 anni (35% vs 65%), comportando, per i piccoli EC (< 2 cm), un significativo beneficio di sopravvivenza a 3 anni (100% vs 62% con sola PEI).
La più recente associazione con la termoablazione (RF) ha come razionale la sinergia tra l'effetto dei farmaci citotossici e la riduzione del flusso indotte dalla TACE, che potenzia l'insulto termico della RF (116). Questa combinazione ha dimostrato efficacia su tumori sia inferiori sia superiori a 3 cm (117). In genere, la TACE precede la RF al fine di sfruttare l'effetto dell'ischemia. Un recente studio prospettico randomizzato di TACE+RF verso solo TACE o solo RF ha dimostrato un miglioramento della sopravvivenza dell'80% in pazienti trattati con l'associazione delle metodiche, senza aumento della morbilità e mortalità collegate alle procedure (118).

Nuove prospettive

DEB-TACE
La TACE con *Drug Eluting Beads* (DEB-TACE) utilizza microsfere embolizzanti permanenti caricabili con chemioterapici mediante un meccanismo di scambio ionico ed a lento rilascio di farmaco: in tal modo, con un unico agente è possibile sia veicolare il farmaco sia realizzare l'embolizzazione vascolare. Le microsfere composte di PVA e caricate con Doxorubicina, (dose media 50-75 mg) hanno dimensioni ben calibrate, comprese tra 40 e 1.200 μm, scelte dall'operatore in base al calibro dei vasi neoplastici. I risultati migliori si sono ottenuti con le *DC-Beads*, che permettono un rapido caricamento del farmaco ed un rilascio prevedibile e prolungato del chemioterapico all'interno del tumore, con netta riduzione della concentrazione sistemica del chemioterapico e, quindi, degli effetti tossici rispetto alla TACE tradizionale (119). Un ulteriore vantaggio della DEB-TACE è l'assente radiopacità delle microsfere, che consente un'ottima valutazione alla TC post-procedura dell'eventuale ipervascolarizzazione arteriosa residua, mentre la TACE tradizionale è gravata dal mascheramento dell'*enhancement* del tumore residuo in TC (Figura 2). Anche la percentuale di risposte (all'*imaging*, secondo i criteri EASL) sono soddisfacenti (120,121): nello studio di Malagari et al. (121), si è ottenuta una risposta oggettiva del 60% dopo il primo trattamento e dell'80% e 70% in cicli successivi. Studi randomizzati di confronto tra DEB-TACE e TACE tradizionale su

pazienti in Child-Pugh A e B, con ECOG 0-1 (122) hanno confermato risposte attorno al 60% senza differenze significative, ma con un trend a favore della DEB-TACE, che appare più efficace nei pazienti più compromessi (in Child-Pugh B, ECOG 1, con tumore più esteso o recidivante). Gli effetti tossici epatici e sistemici sono molto attenuati nella DEB-TACE.

***Radioembolizzazione o SIRT* (*Selective Internal Radiation Therapy*)**

L'iniezione intra-arteriosa selettiva di coniugati radioattivi consente di eseguire una radioterapia dell'EC a dosi terapeutiche antitumorali (> 100 Gy) senza danneggiare il parenchima epatico circostante, che, già a dosi di 30-40 Gy, può sviluppare la *Radiation-Induced Liver Disease* (RILD), sindrome caratterizzata da epatomegalia dolorosa e ascite. In passato, è stato impiegato il Lipiodol marcato con ^{131}I, che ha mostrato scarsi effetti collaterali ed una buona efficacia, con percentuali di risposta media del 50% (17-92%), tuttavia con ridotta efficacia per noduli > 6 cm (123). Questa procedura richiede una lunga ospedalizzazione (10-14 giorni) in ambiente protetto, a causa dell'emivita del ^{131}I, con protezione della tiroide. Uno studio randomizzato ha dimostrato quote di risposta analoghe alla TACE convenzionale, senza differenze significative nella sopravvivenza, tranne che nei pazienti più avanzati e con trombosi portale, dove i risultati sono migliori (124). Inferiore, invece, risulta l'incidenza di effetti collaterali (125).

Più recentemente, sono state introdotte microsfere embolizzanti permanenti costituite di materiale inerte: resina (SIRSphere) o vetro (TheraSphere) caricate con ^{90}Y, radionuclide beta-emittente puro, con emivita fisica di 64 ore. Il loro piccolo calibro (20-30 μm) le rende adeguate per l'embolizzazione dei capillari del microcircolo neoplastico; intrappolate in modo permanente nel microcircolo patologico, le microsfere radioattive, grazie al raggio di penetrazione media del ^{90}Y di 2.5 mm, provocano una radioesposizione selettiva del tumore fino a 15.000 Rad (150 Gy), con minima esposizione del parenchima epatico circostante. Tale terapia associa l'effetto della TAE all'invio di un'alta dose di radioterapia direttamente al tumore. L'algoritmo di trattamento è simile alla TACE e prevede una preliminare stadiazione della malattia epatica mediante TC o RM, completati da volumetria delle lesioni e del parenchima sano, per la stima dosimetrica necessaria per il trattamento. In fase preliminare sono eseguiti un'angiografia epato-mesenterica, per identificare varianti

vascolari ed eventualmente embolizzare l'arteria gastroduodenale o le afferenze ad organi non-bersaglio gastrointestinali e, successivamente, una scintigrafia con macroaggregati di albumina marcati con ^{99}Tc iniettati per via intra-arteriosa. Questa consente di predire la distribuzione delle microsfere di ^{90}Y al momento del trattamento e di escludere la presenza di uno *shunt* epato-polmonare di entità > 20%, che esporrebbe al rischio di polmonite attinica (126,127). La SIRT è indicata nel trattamento dell'EC come alternativa alla TACE, specie nei tumori ipovascolari o molto voluminosi od in presenza di trombosi portale segmentaria o lobare (128), in pazienti con funzione epatica conservata (bilirubina < 2 mg) e delle metastasi epatiche non resecabili, specie da tumori colorettali o neuroendocrini.

La radioembolizzazione con ^{90}Y dell'EC ha mostrato quote di risposta secondo i criteri EASL molto superiori alla TACE (fino al 90%), con rare recidive locali. I confronti su fegato espiantato riportano necrosi complete istologiche fino al 75% delle lesioni (129). La radioembolizzazione con ^{90}Y si candida come trattamento elettivo nei pazienti con EC in stadio BCLC avanzato (localmente), di grandi dimensioni, anche associato a trombosi portale, avendo dimostrato quote di sopravvivenza mediana in questa popolazione tra i 14 e i 17 mesi (128). Sono in corso studi clinici di associazione della SIRT con i recenti farmaci biologici quali il Sorafenib.

Gli effetti collaterali comprendono l'usuale sindrome post-embolizzazione ma con sintomi attenuati rispetto alla TACE tradizionale e più rare complicanze a carico di colecisti, stomaco, pancreas e polmoni.

BIBLIOGRAFIA

PEI

1. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, Beaugrand M, Lencioni R, Burroughs AK, Christensen E, Pagliaro L, Colombo M, Rodés J. EASL Panel of Experts on HCC: Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona 2000 EASL Conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol 2001 Sep*; *35:421-430 PubMed PMID:11592607*
2. Bouza C, López-Cuadrad T, Alcázar R, Saz-Parkinson Z, Amate JM. Meta-analysis of percutaneous radiofrequency ablation versus ethanol

injection in hepatocellular carcinoma. *BMC Gastroenterology 2009 May; 9:31 PubMed PMID:19432967*

3. Mahnken H, Bruners P, Günther RW. Local ablative therapies in HCC percutaneous ethanol injection and radiofrequency ablation. *Dig Dis 2009; 27:148-156 PubMed PMID:19546553*
4. Lencioni R, Crocetti L, Della Pina MC, Cioni D. Percutaneous image-guided radiofrequency ablation of liver tumors. *Abdom Imaging 2009 Sep-Oct; 34:547-556 PubMed PMID:19030918*
5. Padma S, Martinie JB, Iannitti DA. Liver tumor ablation: percutaneous and open approaches. *J Surg Oncol 2009 Dec; 100(8):619-34 PubMed PMID:20017157*
6. Lencioni RA, Allgaier HP, Cioni D, Olschewski M, Deibert P, Crocetti L, Frings H, Laubenberger J, Zuber I, Blum HE, Bartolozzi C. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radio-frequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. *Radiology 2003 Jul; 228(1):235-40 PubMed PMID:12759473*
7. Lin SM, Lin CJ, Lin CC, Hsu CW, Chen YC. Radiofrequency ablation improves prognosis compared with ethanol injection for hepatocellular carcinoma < or = 4. *Gastroenterology 2004 Dec; 127:1714-1723 PubMed PMID:15578509*
8. Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, Ishikawa T, Koike Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation versus ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology 2005 Jul; 129:122-130 PubMed PMID:1601294*
9. Lin SM, Lin CJ, Lin CC, Hsu CW, Chen YC. Randomised controlled trial comparing percutaneous radiofrequency thermal ablation, percutaneous ethanol injection, and percutaneous acetic acid injection to treat hepatocellular carcinoma of 3 cm or less. *Gut 2005 Aug; 54(8):1151-6 PubMed PMID:16009687*
10. Brunello F, Veltri A, Carucci P, Pagano E, Ciccone G, Moretto P, Sacchetto P, Gandini G, Rizzetto M. Radiofrequency ablation versus ethanol injection for early hepatocellular carcinoma: A randomized controlled trial. *Scand J Gastroenterol 2008; 43:727-735 PubMed PMID:18569991*
11. Orlando A, Leandro G, Olivo M, Andriulli A, Cottone M. Radiofrequency thermal ablation vs. percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: metanalysis of randomized controlled trials. *Am J Gastroenterol 2009 Feb; 104:514-524 PubMed PMID: 19174803*

RF

12. Solbiati L, Goldberg SN, Ierace T, Livraghi T, Meloni F, Dellanoce M, Sironi S, Gazelle GS. Hepatic metastases: percutaneous radio-frequency

ablation with cooled-tip electrodes. *Radiology 1997 Nov; 205:367-373 PubMed PMID: 9356616*

13. Rossi S, Di Stasi M, Buscarini E, Quaretti P, Garbagnati F, Squassante L, Paties CT, Silverman DE, Buscarini L. Percutaneous RF interstitial thermal ablation in the treatment of hepatic cancer. *AJR 1996 Sep; 167:759-768 PubMed PMID:8751696*
14. Rossi S, Buscarini E, Garbagnati F, Di Stasi M, Quaretti P, Rago M, Zangrandi A, Andreola S, Silverman D, Buscarini L. Percutaneous treatment of small hepatic tumors by an expandable RF needle electrode. *AJR 1998 Apr; 170:1015-1022 PubMed PMID:9530052*
15. Kim S, Rhim H, Kim YS, Koh BH, Cho OK, Seo HS, Kim Y. Radiofrequency thermal ablation of hepatic tumors: Pitfalls and challenges. *Abdominal Imaging 2005 Nov-Dec*; *30:727-733 PubMed PMID:16252153*
16. Weisbrod AJ, Atwell TD, Callstrom MR, Farrell MA, Mandrekar JN, Charboneau JW. Percutaneous radiofrequency ablation with a multiple-electrode switching generator system. *J Vasc Interv Radiol 2007 Dec*; *18:1528-1532 PubMed PMID: 18057287*
17. Dodd GD III, Frank MS, Aribandi M, Chopra S, Chintapalli KN. Radiofrequency thermal ablation: computer analysis of the size of the thermal injury created by overlapping ablations. *Am J Roentgenol 2001 Oct*; *177:777-782 PubMed PMID:11566672*
18. Hope WW, Arru JM, McKee JQ, Vrochides D, Aswad B, Simon CJ, Dupuy DE, Iannitti DA. Evaluation of mulitprobe radiofrequency technology in a porcine model. *HPB (Oxford) 2007*; *9:363-367 PubMed PMID:18345320*
19. Allgaier HP, Deibert P, Zuber I, Olschewski M, Blum HE. Percutaneous radiofrequency interstitial thermal ablation of small hepatocellular carcinoma. *Lancet 1999; 353(9165):1676-7 PubMed PMID:10335793*
20. Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S Meloni F, Solbiati L, Gazelle GS. Small hepatocellular carcinoma: treatment with radio-frequency ablation versus ethanol injection. *Radiology 1999 Mar; 210:655-661 PubMed PMID:10207464*
21. Curley SA, Izzo F, Delrio P, Ellis LM, Granchi J, Vallone P, Fiore F, Pignata S, Daniele B, Cremona F. Radiofrequency ablation of unresectable primary ad metastatic hepatic malignancies: results in 123 patients. *Ann Surg 1999 Jul; 230:1-8 PubMed PMID:10400029*
22. Curley SA, Izzo F, Ellis LM, Nicolas Vauthey J, Vallone P. Radiofrequency ablation of hepatocellular cancer in 110 patients with cirrhosis. *Ann Surg 2000 Sep; 232:381-91 PubMed PMID:10973388*
23. Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of

medium and large lesions. *Radiology 2000 Mar*; *214(3):761-8 PubMed PMID:10715043*
24. Rossi S, Garbagnati F, Lencioni R, Allgaier HP, Marchianò A, Fornari F, Quaretti P, Tolla GD, Ambrosi C, Mazzaferro V, Blum HE, Bartolozzi C. Unresectable hepatocellular carcinoma: percutaneous radiofrequency thermal ablation after occlusion of tumor blood supply. *Radiology 2000 Oct*; *217:119-26 PubMed PMID:11012432*
25. Lu DS, Yu NC, Raman SS, Limanond P, Lassman C, Murray K, Tong MJ, Amado RG, Busuttil RW. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: treatment success as defined by histologic examination of the explanted liver. *Radiology 2005 Mar; 234:954-960 PubMed PMID:15681691*
26. Rodriguez-Sanjuan JC, Gonzalez F, Juanco C, Herrera LA, López-Bautista M, González-Noriega M, García-Somacarrera E, Figols J, Gómez-Fleitas M, Silván M. Radiological and pathological assessment of hepatocellular carcinoma response to radiofrequency. A study on removed liver after transplantation. *World J Surg 2008 Jul; 32:1489-94 PubMed PMID:18373117*
27. Cho YK, Kim JK, Kim MY, Rhim H, Han JK. Systematic review of randomized trials for hepatocellular carcinoma treated with percutaneous ablation therapies. *Hepatology 2009 Feb; 49:453-459 PubMed PMID:19065676*
28. Lencioni R, Cioni D, Crocetti L, Franchini C, Pina CD, Lera J, Bartolozzi C. Early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhosis: long-term results of percutaneous image-guided radiofrequency ablation. *Radiology 2005 Mar; 234:961-967 PubMed PMID:15665226*
29. Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer 2005 Mar; 103:1201-1209 PubMed PMID:15690326*
30. Cabassa P, Donato F, Simeone F, Grazioli L, Romanini L. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: long-term experience with expandable needle electrodes. *Am J Roentgenol 2006 May; 185:S316-321 PubMed PMID:16632694*
31. Choi D, Lim HK, Rhim H, Kim YS, Lee WJ, Paik SW, Koh KC, Lee JH, Choi MS, Yoo BC. Percutaneous radiofrequency ablation for early-stage hepatocellular carcinoma as a first line treatment: long-term results and prognostic factors in a large single institution series. *Eur Radiol 2007 Mar; 17:684-692 PubMed PMID:17093964*
32. Lencioni R, Crocetti L. Image-guided thermal ablation of hepatocellular carcinoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology 2008 Jun; 66:200-207 PubMed PMID:18304832*
33. Llovet JM, Vilana R, Brù C, Bianchi L, Salmeron JM, Boix L, Ganau S, Sala M, Pagès M, Ayuso C, Solé M, Rodés J, Bruix J, Barcelona Clínic

Liver Cancer (BCLC) Group. Increased risk of tumor seeding after percutaneous radiofrequency ablation for single hepatocellular carcinoma. *Hepatology 2001 May; 33:1124-9 PubMed PMID:11343240*

34. Goldberg SN, Gazelle GS, Solbiati L, Livraghi T, Tanabe KK, Hahn PF, Mueller PR. Ablation of liver tumors using percutaneous RF therapy. *Am J Roentgenol 1998 Apr; 170(4):1023-8 PubMed PMID:9530053*
35. Jiao LR. Percutaneous radiofrequency thermal ablation for liver tumours. *Lancet 1999 Jul 31; 354(9176):427-8 PubMed PMID:10437901*
36. Siperstein AE, Berber E, Ballern N, Parikh RT. Survival after radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: 10-year experience. *Ann Surg 2007 Oct; 246:559-565 PubMed PMID:17893492*
37. de Baere T, Elias D, Dromain CP, Din MG, Kuoch V, Ducreux M, Boige V, Lassau N, Marteau V, Lasser P, Roche A. Radiofrequency ablation of 100 hepatic metastases with a mean follow-up of more than 1 year. *Am J Roentgenol 2000; 175(6):1619-25 PubMed PMID:11090390*
38. Livraghi T, Solbiati L, Meloni MF, Gazelle GS, Halpern EF, Goldberg SN. Treatment of focal liver tumor with percutaneous radio-frequency ablation: complication encountered in a multicenter study. *Radiology 2003; 226:441-51 PubMed PMID:12563138*
39. Solbiati L, Livraghi T, Goldberg SN, Ierace T, Meloni F, Dellanoce M, Cova L, Halpern EF, Gazelle GS. Percutaneous radio-frequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer: long-term results in 117 patients. *Radiology 2001; 221:159-166 PubMed PMID:11568334*
40. Lencioni R, Crocetti L, Cioni D, Della Pina C, Bartolozzi C. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatic colorectal metastases. Technique, indications, results, and new promises. *Invest Radiol 2004 Nov; 39:689-697 PubMed PMID:15486530*
41. Gillams AR, Lees WR. Radio-frequency ablation of colorectal liver metastases in 167 patients. *Eur Radiol 2004 Dec; 14:2261-2267 PubMed PMID:15599547*
42. Berber E, Pelley R, Siperstein AE. Predictors of survival after radiofrequency thermal ablation of colorectal cancer metastases to the liver: a prospective study. *J Clin Oncol 2005 Mar; 23:1358-1364 PubMed PMID:15684312*
43. Jakobs TF, Hoffmann RT, Trumm C, Reiser MF, Helmberger TK. Radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: mid-term results in 68 patients. *Anticancer Res 2006 Jan-Feb; 26:671-680 PubMed PMID:16739337*
44. Sorensen SM, Mortensen FV, Nielsen DT. Radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: long-term survival. *Acta Radiol 2007 Apr; 48:253-258 PubMed PMID:17453491*
45. Machi J, Oishi AJ, Sumida K Sakamoto K, Furumoto NL, Oishi RH, Kylstra JW. Long-term outcome of radiofrequency ablation for unresectable liver metastases from colorectal cancer: evaluation of

prognostic factors and effectiveness in first- and second-line management. *Cancer J 2006 Jul-Aug; 12:318-326 PubMed PMID:16925977*

46. Veltri A, Sacchetto P, Tosetti I, Pagano E, Fava C, Gandini G. Radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: small size favorably predicts technique effectiveness and survival. *Cardiovasc Intervent Radiol 2008 Sep-Oct; 31:948-956 PubMed PMID:18506519*
47. Shiina S. Image-guided percutaneous ablation therapies for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol 2009; 44(Suppl 19):122-31 PubMed PMID:19148806*
48. Mulier S, Mulier P, Ni Y, Miao Y, Dupas B, Marchal G, De Wever I, Michel L. Complications of radiofrequency coagulation of liver tumors. *Br J Surg 2002 Oct; 89:1206-22 PubMed PMID:12296886*

Termoablazione con laser (LITT, Laser Interstitial Thermoablation Therapy)

49. Germer C, Isbert CM, Albrecht D, Ritz JP, Schilling A, Roggan A, Wolf KJ, Müller G, Buhr H. Laser-induced thermotherapy for the treatment of liver metastasis: correlation of gadolinium-DTPA-enhanced MRI with histomorphologic findings to determine criteria for follow-up monitoring. *Surg Endosc 1998 Nov; 12:1317-1325 PubMed PMID:9788855*
50. Nolsoe CP, Torp-Pedersen S, Burcharth F, Horn T, Pedersen S, Christensen NE, Olldag ES, Andersen PH, Karstrup S, Lorentzen T et al. Interstitial hyperthermia of colorectal liver metastases with a US-guided Nd-YAG laser with a diffuser tip: a pilot clinical study. *Radiology 1993 May; 187:333-337 PubMed PMID:8475269*
51. Dodd GD, Soulen, MC , Kane RA, Livraghi T, Lees WR, Yamashita Y, Gillams AR, Karahan OI, Rhim H. Minimally invasive treatment of malignant hepatic tumors: at the threshold of a major breakthrough. *Radiographics 2000 Jan-Feb; 20:9-11 PubMed PMID:10682768*
52. Giorgio A, Tarantino L, de Stefano G, Farella N, Catalano O, Cusati B, Del Viscovo L, Alaia A, Caturelli E. Interstitial laser photocoagulation under ultrasound guidance of liver tumors: results in 104 treated patients. *Eur J Ultrasound 2000 Jun; 11:181-8 PubMed PMID:10874193*
53. Pacella CM, Bizzarri G, Magnolfi F, Cecconi P, Caspani B, Anelli V, Bianchini A, Valle D, Pacella S, Manenti G, Rossi Z. Laser thermal ablation in the treatment of small hepatocellular carcinoma: results in 74 patients. *Radiology 2001 Dec; 221:712-20 PubMed PMID:11719667*
54. Vogl TJ, Straub R, Eichler K, Woitaschek D, Mack MG. Malignant liver tumors treated with MR imaging-guided laser-induced thermotherapy: experience with complications in 899 patients (2520 lesions). *Radiology 2002 Nov; 225:367-77 PubMed PMID:1240956*

Termoablazione con microonde (MT, Microwave Thermoablation)

55. Seki T, Wakabayashi M, Nakagawa T, Itho T, Shiro T, Kunieda K, Sato M, Uchiyama S, Inoue K. Ultrasonically guided percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinoma. *Cancer 1994 Aug; 74:817-25 PubMed PMID:8039109*
56. Lu MD, Chen JW, Xie XY, Liu L, Huang XQ, Liang LJ, Huang JF. Hepatocellular carcinoma: US-guided percutaneous microwave coagulation therapy. *Radiology 2001 Oct; 221:167-72 PubMed PMID:11568335*
57. Dong B, Liang P, Yu X, Su L, Yu D, Cheng Z, Zhang J. Percutaneous sonographically guided microwave coagulation therapy for hepatocellular carcinoma: results in 234 patients. *Am J Roentgenol 2003 Jun; 180:1541-7 PubMed PMID:12760916*
58. Shibata T, Iimuro Y, Yamamoto Y, Maetani Y, Ametani F, Itoh K, Konishi J. Small hepatocellular carcinoma: comparison of radio-frequency ablation and percutaneous microwave coagulation therapy. *Radiology 2002; 223:331-7 PubMed PMID:1199753*

Crioablazione

59. Seifert JK, Springer A, Baier P, Junginger T. Liver resection or cryotherapy for colorectal liver metastases: a prospective case control study. *Int J Colorectal Dis 2005; 20(6):507-20 PubMed PMID:15973545*
60. Orlacchio A, Bazzocchi G, Pastorelli D, Bolacchi F, Angelico M, Almerighi C, Masala S, Simonetti G. Percutaneous cryoablation of small hepatocellular carcinoma with US guidance and CT monitoring: initial experience. *Cardiovasc Intervent Radiol 2008 May-Jun; 31(3):587-94 PubMed PMID: 18236104*

Ultrasuoni ad alta intensità focalizzati (HIFU, High Intensity Focused Ulrasound)

61. Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology 2005 May; 235:659-667 PubMed PMID:15858105*
62. Li YY, Sha WH, Zhou YJ, Nie YQ. Short and long term efficacy of high intensity focused ultrasound therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol 2007 Dec; 22:2148-2154 PubMed PMID:18031373*
63. Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zhu H, Bai J, Zou JZ, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular

carcinoma. *Ann Surg Oncol 2004 Dec; 11(12):1061-9 PubMed PMID:15545506*

64. Zhang L, Zhu H, Jin C, Zhou K, Li K, Su H, Chen W, Bai J, Wang Z. High-intensity focused ultrasound (HIFU): effective and safe therapy for hepatocellular carcinoma adjacent to major hepatic veins. *Eur Radiol 2009 Feb; 19(2):437-445 PubMed PMID:18795303*

Infusioni Intra-arteriose

65. Grosso M, Zanon C, Mancini A, Garruso M, Gazzera C, Anselmetti GC, Veglia S, Gandini G. Percutaneous implantation of a catheter with subcutaneous reservoir for intraarterial regional chemotherapy: technique and preliminary results. *Cardiovasc Intervent Radiol 2000 May-Jun; 23(3):202-10 PubMed PMID:10821895*
66. Fiorentini G, Rossi S, Dentico P, Bernardeschi P, Calcinai A, Bonechi F, Cantore M, Guadagni S, De Simone M. Irinotecan hepatic arterial infusion chemotherapy for hepatic metastases from colorectal cancer: a phase II clinical study. *Tumori 2003 Jul-Aug; 89:382-384 PubMed PMID:14606639*
67. Fiorentini G, Rossi S, Dentico P, Meucci F, Bonechi F, Bernardeschi P, Cantore M, Guadagni S, De Simone M. Oxaliplatin hepatic arterial infusion chemotherapy for hepatic metastases from colorectal cancer: a phase I-II clinical study. *Anticancer Res 2004 May-Jun; 24:2093-6 PubMed PMID:15274406*
68. Weiss L, Harlos JP, Hartveit F, Maartmann-Moe H, Svendsen E. Metastatic pattern from cancers of the pancreas: an analysis of 558 autopsies. *Reg Cancer Treat 1992; 4:265-271*
69. Cantore M, Fiorentini G, Bassi C, Molani L, Aitini E, Morandi C. Intra-arterial chemotherapy for stage III/IV pancreatic cancer. *Dig Surg 1997; 14:113-118 PubMed PMID:16334117*
70. Cantore M, Pederzoli P, Cornalba G, Fiorentini G, Guadagni S, Miserocchi L, Frassoldati A, Ceravolo C, Smerieri F, Muchmore JH. Intra-arterial chemotherapy for unresectable pancreatic cancer. *Ann Oncol 2000 May; 11(5):569-573 PubMed PMID:10907950*
71. Cantore M, Fiorentini G, Luppi G, Rosati G, Caudana R, Piazza E, Comella G, Ceravolo C, Mirerocchi L, Mambrini A, Del Freo A, Zamagni D, Aitini E, Marangolo M. Randomized trial of Gemcitabine versus FLEC regimen given intra-arterially for patients with unresectable pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res 2003 Dec; 22(Suppl 4):51-57 PubMed PMID:16767907*
72. Cantore M, Fiorentini G, Luppi G, Rosati G, Caudana R, Piazza E, Comella G, Ceravolo C, Miserocchi L, Mambrini A, Del Freo A, Zamagni D, Rabbi C, Marangolo M. Gemcitabine versus FLEC regimen given intra-arterially to patients with unresectable pancreatic cancer: a prospective, randomized phase III trial of the Italian Society

for Integrated Locoregional Therapy in Oncology. *J Chemother 2004 Dec; 16(6):589-94 PubMed PMID:15700852*

73. Mambrini A, Sanguinetti F, Pacetti P, Caudana R, Iacono C, Guglielmi A, Guadagni S, Del Freo A, Fiorentini G, Cantore M. Intra-arterial infusion of 5-fluorouracil, leucovorin, epirubicin and carboplatin (FLEC regimen) in unresectable pancreatic cancer: results of a ten-year experience. *In Vivo 2006 Nov-Dic; 20(6A):751-5 PubMed PMID:17203761*
74. Mambrini A, Bassi C, Pacetti P, Torri T, Iacono C, Ballardini M, Orlandi M, Guadagni S, Fiorentini G, Cantore M. Prognostic factors in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma treated with intra-arterial chemotherapy. *Pancreas 2008 Jan; 36(1):56-60 PubMed PMID:18192882*
75. Cantore M, Serio G, Pederzoli P, Mambrini A, Iacono C, Pulica C, Capelli P, Lombardi M, Torri T, Pacetti P, Pagani M, Fiorentini G. Adjuvant intra-arterial 5-fluoruracil, leucovorin, epirubicin and carboplatin with or without systemic gemcitabine after curative resection for pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol 2006 Oct; 58(4):504-8 PubMed PMID: 16633830*
76. Mambrini A, Pacetti P, Del Freo A, Seta RD, Pezzuolo D, Torri T, Orlandi M, Tartarini R, Cantore M. Gemcitabine-capecitabine plus intra-arterial epirubicin-cisplatin in pretreated pancreatic cancer patients: a phase I study. *Anticancer Res 2009 May; 29(5):1547-9 PubMed PMID:19443364*
77. Cantore M, Rabbi C, Guadagni S, Zamagni D, Aitini E. Intra-arterial hepatic chemotherapy combined with continuous infusion of 5-fluorouracil in patients with metastatic cholangiocarcinoma. *Ann Oncol 2002 Oct; 13(10):1687-1688 PubMed PMID:12377661*
78. Mambrini A, Fiorentini G, Pennucci C, Muttini MP, Manni A, Del Freo A, Zamagni D, Rabbi C, Sanguinetti F, Cantore M. Intra-arterial hepatic chemotherapy combined with systemic infusion of 5-FU in patients with advanced biliary tract cancers. *ASCO annual meeting 2004; abstract 4197*
79. Cantore M, Mambrini A, Fiorentini G, Rabbi C, Zamagni D, Caudana R, Pennucci C, Sanguinetti F, Lombardi M, Nicoli N. Phase II study of hepatic intraarterial epirubicin and cisplatin, with systemic 5-fluorouracil in patients with unresectable biliary tract tumors. *Cancer 2005 Apr; 103(7):1402-7 PubMed PMID:15726542*
80. Mambrini A, Guglielmi A, Pacetti P, Iacono C, Torri T, Auci A, Nicoli N, Orlandi M, Guadagni S, Fiorentini G, Cantore M. Capecitabine plus hepatic intra-arterial epirubicin and cisplatin in unresectable biliary cancer: a phase II study. *Anticancer Res 2007 Jul-Aug; 27(4C):3009-13 PubMed PMID:17695488*

81. Pacetti P, Giovannetti E, Mambrini A, Nannizzi S, Orlandi M, Tartarini R, Del Freo A, Del Tacca M, Danesi R, Cantore M. Single nucleotide polymorphisms and clinical outcome in patients with biliary tract carcinoma treated with epirubicin, cisplatin and capecitabine. *Anticancer Research 2009 May; 29:1835-1840 PubMed PMID:19443413*
82. The Meta-Analysis group in cancer. Reappraisal of hepatic arterial infusion in the treatment of nonresectable liver metastases from colon cancer. *J Natl Cancer Inst 1996 Mar; 78:1639-1645 PubMed PMID:8614003*
83. Harmanthas A, Rotstein LE, Langer B. Regional versus systemic chemotherapy in the treatment of colorectal carcinoma metastatic to the liver. *Cancer 1996 Oct; 78:1639-1645 PubMed PMID:8859174*
84. Fiorentini G, Cantore M, Rossi S, Vaira M, Tumolo S, Dentico P, Mambrini A, Bernardeschi P, Turrisi G, Giovanis P, Guadagni S, Valori V, De Simone M. Hepatic arterial chemotherapy in combination with systemic chemotherapy compared with hepatic arterial chemotherapy alone for liver metastases from colorectal cancer: results of a multi-centric randomized study. *In Vivo 2006 Nov-Dec; 20(6A):707-9 PubMed PMID:17203750*
85. Del Freo A, Fiorentini G, Sanguinetti F, Muttini MP, Pennucci C, Mambrini A, Pacetti P, Della Seta R, Lombardi M, Torri T, Cantore M. Hepatic arterial chemotherapy with oxaliplatin, folinic acid and 5-fluorouracil in pre-treated patients with liver metastases from colorectal cancer. *In Vivo 2006 Nov-Dec; 20(6A):743-6 PubMed PMID:17203759*
86. Kemeny N, Fata F. Hepatic-arterial chemotherapy. *Lancet Oncol 2001 Jul; 2(7):418-28 PubMed PMID:11905736*

TACE

87. Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Kojiro M, Makuuchi M, Yamaoka Y; Liver Cancer Study Group of Japan. Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients. *Gastroenterology 2006; 131(2):461-9 PubMed PMID:16890600*
88. Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol 2007 Jan-Feb; 30(1):6-25 PubMed PMID:17103105*
89. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology 2005; 42(5):1208-1236 PubMed PMID:16250051*
90. Lesurtel M, Müllhaupt B, Pestalozzi BC, Pfammatter T, Clavien PA. Transarterial chemoembolization as a bridge to liver transplantation

for hepatocellular carcinoma: an evidence-based analysis. *Am J Transplant 2006 Nov; 6(11):2644-50 PubMed PMID:16939518*

91. Belghiti J, Carr BI, Greig PD, Lencioni R, Poon RT. Treatment before liver transplantation for HCC. *Ann Surg Oncol 2008 Apr; 15(4):993-1000 PubMed PMID:18236111*
92. Otto G, Herber S, Heise M, Lohse AW, Mönch C, Bittinger F, Hoppe-Lotichius M, Schuchmann M, Victor A, Pitton M. Response to transarterial chemoembolization as a biological selection criterion for liver transplantation in hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl 2006 Aug; 12(8):1260-7 PubMed PMID:16826556*
93. Georgiades CS, Hong K, D'Angelo M, Geschwind JF. Safety and efficacy of transarterial chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma and portal vein thrombosis. *J Vasc Interv Radiol 2005; 16(12):1653-59 PubMed PMID:16371532*
94. Katsumori T, Fujita M, Takahashi T, Satoh O, Ichijima S, Nakamura T, Morishita H, Ohno K, Nakano Y, Maeda T. Effective segmental chemoembolization of advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombus in the portal vein. *Cardiovasc Intervent Radiol 1995 Jul-Aug; 18(4):217-21 PubMed PMID:8581900*
95. Ueno K, Miyazono N, Inoue H et al. Transcatheter arterial chemoembolization therapy using iodized oil for patients with unresectable hepatocellular carcinoma: evaluation of three kinds of regimens and analysis of prognostic factors. *Cancer 2000; 88:1574-81 PubMed PMID:10738215*
96. Vogl TJ, Trapp M, Schroeder H, Mack M, Schuster A, Schmitt J, Neuhaus P, Felix R. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: volumetric and morphologic CT criteria for assessment of prognosis and therapeutic success-results from a liver transplantation center. *Radiology 2000 Feb; 214(2):349-57 PubMed PMID:10671580*
97. Lee KH, Sung KB, Lee DY, Park SJ, Kim KW, Yu JS. Transcatheter Arterial Chemoembolization for hepatocellular carcinoma: anatomic and hemodynamic considerations in the hepatic artery and portal vein. *Radiographics 2002 Sep-Oct; 22(5):1077-91 PubMed PMID:12235337*
98. Takayasu K, Muramatsu Y, Maeda T, Iwata R, Furukawa H, Muramatsu Y, Moriyama N, Okusaka T, Okada S, Ueno H. Targeted transarterial oily chemoembolization for small foci of hepatocellular carcinoma using a unified helical CT and angiography system: analysis of factors affecting local recurrence and survival rates. *Am J Roentgenol 2001 Mar; 176(3):681-8 PubMed PMID:11222205*
99. Iwamoto S, Sanefuji H, Okuda K. Angiographic subsegmentectomy for the treatment of patients with small hepatocellular carcinoma. *Cancer 2003 Feb 15; 97(4):1051-6 PubMed PMID:12569605*

100. Ernst O, Sergent G, Mizrahi D, Delemazure O, Paris JC, L'Hermine C. Treatment of hepatocellular carcinoma by transcatheter arterial chemoembolization: comparison of planned periodic chemoembolization and chemoembolization based on tumor response. *Am J Roentgenol 1999;172(1):59-64 PubMed PMID:9888740*
101. Takayasu K, Arii S, Matsuo N, Yoshikawa M, Ryu M, Takasaki K, Sato M, Yamanaka N, Shimamura Y, Ohto M. Comparison of CT findings with resected specimens after chemoembolization with iodized oil for hepatocellular carcinoma. *Am J Roentgenol 2000 Sep; 175(3):699-704 PubMed PMID:10954453*
102. Chan AO, Yuen MF, Hui CK, Tso WK, Lai CL. A prospective study regarding the complications of transcatheter intraarterial lipiodol chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer 2002 Mar 15; 94(6):1747-52 PubMed PMID:11920537*
103. Bruix J, Llovet JM. Prognostic assessment and evaluation of the benefits of treatment. *J Clin Gastroenterol 2002; 35:S138-S142 PubMed PMID:12394217*
104. Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis 2010; 30(10):52-60 PubMed PMID:20175033*
105. Riaz A, Lewandowski RJ, Kulik L, Ryu RK, Mulcahy MF, Baker T, Gates V, Nayar R, Wang E, Miller FH, Sato KT, Omary RA, Abecassis M, Salem R. Radiologic-pathologic correlation of hepatocellular carcinoma treated with chemoembolization. *Cardiovasc Intervent Radiol 2009 Dec 5 (Epub ahead of print)*
106. Lo CM, Ngan H, Tso WK, Liu CL, Lam CM, Poon RT, Fan ST, Wong J. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization: a multicenter randomized trial. *Hepatology 2002 May; 35(5):1164-71 PubMed PMID:11981766*
107. Llovet JM, Real MI, Montaña X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Solà R, Rodés J, Bruix J; Barcelona Liver Cancer Group. Arterial embolization or chemoembolization versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Lancet 2002 May 18; 359(9319):1734-9 PubMed PMID: 12049862*
108. Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: chemoembolization improves survival. *Hepatology 2003 Feb; 37(2):429-42 PubMed PMID:12540794*
109. Cammà C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, Trevisani F, Andreone P, Craxì A, Cottone M. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology 2002 Jul; 224(1):47-54 PubMed PMID:12091661*

110. Malagari K, Pomoni M, Kelekis A, Pomoni A, Dourakis S, Spyridopoulos T, Moschouris H, Emmanouil E, Rizos S, Kelekis D. Prospective Randomized Comparison of Chemoembolization with Doxorubicin-Eluting Beads and Bland Embolization with BeadBlock for Hepatocellular Carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol 2009 Nov 24; (Epub ahead of print)*
111. Imaeda T, Yamawaki Y, Seki M, Goto H, Iinuma G, Kanematsu M, Mochizuki R, Doi H, Saji S, Shimokawa K. Lipiodol retention and massive necrosis after lipiodol-chemoembolization of hepatocellular carcinoma; correlation between computed tomography and histopathology. *Cardiovasc Intervent Radiol 1993 Jul-Aug; 16(4):209-13 PubMed PMID:8402781*
112. Ebied OM, Federle MP, Carr BI, Pealer KM, Li W, Amesur N, Zajko A. Evaluation of responses to chemoembolization in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer 2003 Feb 15; 97(4):1042-50 PubMed PMID:12569604*
113. Koda M, Murawaki Y, Mitsuda A, Oyama K, Okamoto K, Idobe Y, Suou T, Kawasaki H. Combination therapy with transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous ethanol injection compared with percutaneous ethanol injection alone for patients with small hepatocellular carcinoma: a randomized control study. *Cancer 2001 Sep 15; 92(6):1516-24 PubMed PMID:11745230*
114. Kamada K, Kitamoto M, Aikata H, Kawakami Y, Kono H, Imamura M, Nakanishi T, Chayama K. Combination of transcatheter arterial chemoembolization using cisplatin-lipiodol suspension and percutaneous ethanol injection for treatment of advanced small hepatocellular carcinoma. *Am J Surg 2002 Sep; 184(3):284-90 PubMed PMID:12354601*
115. Bartolozzi C, Lencioni R, Caramella D, Vignali C, Cioni R, Mazzeo S, Carrai M, Maltinti G, Capria A, Conte PF. Treatment of large HCC: transcatheter arterial chemoembolization combined with percutaneous ethanol injection versus repeated transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology 1995 Dec; 197(3):812-8 PubMed PMID:7480761*
116. Goldberg SN, Gazelle GS, Mueller PR. Thermal ablation therapy for focal malignancy: a unified approach to underlying principles, techniques and diagnostic imaging guidance. *AJR 2000 Feb; 174:323-331 PubMed PMID:10658699*
117. Vogl TJ, Naguib NN, Nour-Eldin NE, Rao P, Emami AH, Zangos S, Nabil M, Abdelkader A. Review on transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma: palliative, combined, neoadjuvant, bridging, and symptomatic indications. *Eur J Radiol 2009 Dec; 72(3):505-16 PubMed PMID:18835117*

118. Cheng BQ, Jia CQ, Liu CT, Fan W, Wang QL, Zhang ZL, Yi CH. Chemoembolization combined with radiofrequency ablation for patients with hepatocellular carcinoma larger than 3 cm: a randomized controlled trial. *JAMA 2008 Apr 9; 299(14):1669-77 PubMed PMID:18398079*
119. Varela M, Real MI, Burrel M, Forner A, Sala M, Brunet M, Ayuso C, Castells L, Montañá X, Llovet JM, Bruix J. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol 2007 Mar; 46(3):474-81 PubMed PMID:17239480*
120. Poon RT, Tso WK, Pang RW, Ng KK, Woo R, Tai KS, Fan ST. A phase I/II trial of chemoembolization for hepatocellular carcinoma using a novel intra-arterial drug-eluting bead. *Clin Gastroenterol Hepatol 2007 Sep; 5(9):1100-8 PubMed PMID:17627902*
121. Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E, Kelekis A, Hall B, Dourakis S, Delis S, Gouliamos A, Kelekis D. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol 2008 Mar-Apr; 31(2):269-80 PubMed PMID:17999110*
122. Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, Pitton M, Sergent G, Pfammatter T, Terraz S, Benhamou Y, Avajon Y, Gruenberger T, Pomoni M, Langenberger H, Schuchmann M, Dumortier J, Mueller C, Chevallier P, Lencioni R; PRECISION V Investigators. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol 2010 Feb; 33(1):41-52 PubMed PMID:19908093*
123. Lau WY, Lai EC, Leung TW, Yu SC. Adjuvant intra-arterial iodine-131-labeled lipiodol for resectable hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial-update on 5-year and 10-year survival. *Ann Surg 2008 Jan; 247(1):43-48, PubMed PMID:18156922*
124. Marelli L, Shusang V, Buscombe JR, Cholongitas E, Stigliano R, Davies N, Tibballs J, Patch D, Meyer T, Burroughs AK. Transarterial injection of (131)I-lipiodol, compared with chemoembolization, in the treatment of unresectable hepatocellular cancer. *J Nucl Med 2009 Jun; 50(6):871-7 PubMed PMID:19443599*
125. Raoul JL, Guyader D, Bretagne JF, Heautot JF, Duvauferrier R, Bourguet P, Bekhechi D, Deugnier YM, Gosselin M. Prospective randomized trial of chemoembolization versus intra-arterial injection of 131I-labeled-iodized oil in the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology 1997 Nov; 26(5):1156-61 PubMed PMID:9362356*
126. Salem R, Thurston KG. Radioembolization with 90Yttrium microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and

secondary liver malignancies. Part 1: technical and methodologic considerations. *J Vasc Interv Radiol 2006 Aug; 17(8):1251-78 PubMed PMID:16923973*

127. Salem R, Thurston KG. Radioembolization with 90Yttrium microspheres: a state-of-the-art brachytherapy treatment for primary and secondary liver malignancies. Part 2: special topics. *J Vasc Interv Radiol 2006 Sep; 17(9):1425-39 PubMed PMID:16990462*
128. Kulik LM, Carr BI, Mulcahy MF, Lewandowski RJ, Atassi B, Ryu RK, Sato KT, Benson A 3rd, Nemcek AA Jr, Gates VL, Abecassis M, Omary RA, Salem R. Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis. *Hepatology 2008 Jan; 47(1):71-81 PubMed PMID:18027884*
129. Riaz A, Kulik L, Lewandowski RJ, Ryu RK, Giakoumis Spear G, Mulcahy MF, Abecassis M, Baker T, Gates V, Nayar R, Miller FH, Sato KT, Omary RA, Salem R. Radiologic-pathologic correlation of hepatocellualar carcinoma treated with internal radiation using Yttrium 90 microspheres. *Hepatology 2009 Apr; 49(4):1185-93 PubMed PMID:19133645*