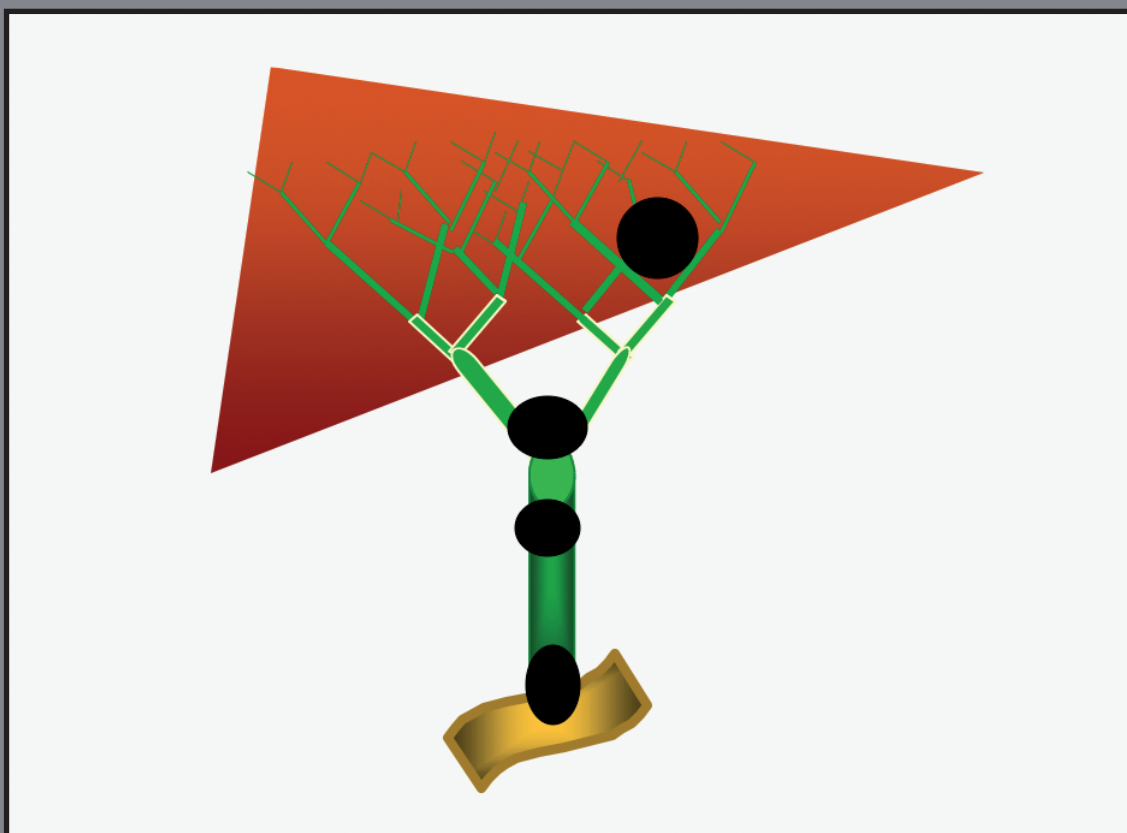




A.I.S.F.

ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO

IL COLANGIOCARCINOMA



A cura della Commissione
“Colangiocarcinoma”
dell’Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (A.I.S.F.)



A.I.S.F.

ASSOCIAZIONE ITALIANA PER LO STUDIO DEL FEGATO

IL COLANGIOCARCINOMA

A cura della Commissione
“Colangiocarcinoma”
dell’Associazione Italiana per lo Studio del Fegato (A.I.S.F.)

Finito di stampare
Maggio 2009

A cura della Commissione “Colangiocarcinoma” dell’Associazione Italiana per lo Studio del Fegato.

Composizione della commissione:

Alvaro Domenico¹ (Coordinatore), Benedetti Antonio², Bragazzi MariaConsiglia¹,
Capocaccia Riccardo³, Crocetti Emanuele⁴, Fabris Luca⁵, Fava Gianmarco²; Ferretti Stefano⁶,
Floreni AnnaRosa⁵, Grazi Gianluca⁷, Invernizzi Pietro⁸, Laghi Andrea¹, Mancino MariaGrazia¹,
Marzioni Marco², Mutignani Massimiliano⁹, Paolantonio Pasquale¹, Sonzogni Aurelio¹⁰,
Strazzabosco Mario¹¹, Stroffolini Tommaso¹².

¹ Università Sapienza di Roma;

² Università Politecnica della Marche;

³ Epidemiologia dei Tumori, Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma;

⁴ Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica, Regione Toscana, Firenze;

⁵ Università di Padova;

⁶ Registro Tumori della Provincia di Ferrara, Università di Ferrara;

⁷ Università di Bologna;

⁸ Istituto Clinico Humanitas, Milano;

⁹ Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma;

¹⁰ Ospedali Riuniti di Bergamo,

¹¹ Università Milano-Bicocca,

¹² Azienda Policlinico Umberto 1°, Roma.

* Il presente documento è stato revisionato da una commissione esterna di referees composta da: Capocaccia Livio (Roma), Di Giulio Emilio (Roma), Farinati Fabio (Padova), Ginanni Corradini Stefano (Roma), Rimassa Lorenza (Milano), Santoro Armando (Milano).

Abbreviazioni utilizzate nel testo:

| | |
|----------------|--|
| CCA: | colangiocarcinoma |
| CBP: | cirrosi biliare primitiva |
| CSP: | colangite sclerosante primitiva |
| CEA: | antigene carcinoembrionario |
| US: | ultrasonografia |
| CPRE: | colangio-pancreatografia retrograda endoscopica |
| PTC: | colangiografia percutanea trans-epatica |
| RCU: | retto colite ulcerosa |
| EBV: | Epstein Barr Virus |
| HCC: | epatocarcinoma |
| UDCA: | acido ursodessossicolico |
| IL-6: | interleuchina 6 |
| IL-8: | interleuchina 8 |
| TGF β : | transforming growth factor β |
| TNF α : | tumor necrosis factor α |
| PDGF: | platelet derived growth factor |
| IGF-1: | insulin like growth factor 1 |
| VEGF: | vascular endothelial growth factor |
| GSH: | glutazione ridotto |
| MMP: | metalloproteinasi di matrice |
| iNOS: | ossido nitrico sintetasi inducibile |
| NO: | ossido nitrico |
| NOS: | ossido nitrico sintetasi |
| COX-2: | ciclossigenasi |
| EGFR: | recettore del fattore di crescita epiteliale |
| TRAIL: | tumor necrosis factor-related apoptosis inducine ligand |
| SE: | sfinterotomia endoscopica |
| TC: | tomografia computerizzata |
| TCSM: | tomografia computerizzata spirale multistrato |
| CPRM: | colangio-pancreatografia a risonanza magnetica |
| PET-TC: | tomografia ad emissione di positroni implementata con TC |
| RM: | risonanza magnetica |
| VPP: | valore predittivo positivo |
| VPN: | valore predittivo negativo |
| FCM: | citometria a flusso |
| DIA: | analisi digitale delle immagini |
| FDG: | fluoro-18-desossiglucosio |
| TNM: | tumor-node-metastasis |
| UICC: | International Union Against Cancer |
| AJCC: | American Joint Committee on Cancer |
| DIA: | Digital image analysis |
| FISH: | Fluorescent in-situ hybridization |
| FNAC: | Fine needle aspiration citology |
| EGFR: | Recettore del fattore di crescita epiteliale |



INDICE

| | | |
|--------------------|--|-----------|
| | PREFAZIONE | 7 |
| Capitolo 1: | INCIDENZA DEL COLANGIOCARCINOMA | 9 |
| | - CCA intraepatico | 9 |
| | - CCA extraepatico | 9 |
| | - Prospettive future | 9 |
| Capitolo 2: | EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA DEL COLANGIOCARCINOMA IN ITALIA | 11 |
| | - Criterio di definizione dei casi | 12 |
| | - Andamenti dell'incidenza dei tumori delle vie biliari | 13 |
| | - Andamenti della mortalità dei tumori delle vie biliari | 13 |
| | - Considerazioni conclusive | 13 |
| Capitolo 3: | ASPETTI ANATOMO-PATOLOGICI DEL COLANGIOCARCINOMA | 19 |
| | - Diffusione neoplastica | 20 |
| | - Aspetti istopatologici | 20 |
| | - Diagnosi differenziale | 21 |
| | - Grading | 21 |
| | - Precursori del colangiocarcinoma | 22 |
| | - Prospettive future | 22 |
| Capitolo 4: | GENETICA, BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE | 25 |
| | - Disregolazione del meccanismo proliferativo dell'epitelio biliare | 25 |
| | - Disregolazione del processo apoptotico dell'epitelio biliare | 26 |
| | - Capacità invasiva e metastatica | 27 |
| | - Colestasi cronica, infiammazione e carcinogenesi biliare | 28 |
| | - Fattori genetici | 30 |
| | - Prospettive future | 32 |
| Capitolo 5: | FATTORI DI RISCHIO E FATTORI ASSOCIATI | 37 |
| | - Età | 37 |
| | - Colangite sclerosante primitiva | 37 |
| | - Clonorchis sinensis e Opistorchis viverrini | 38 |
| | - Malattie delle vie biliari | 38 |
| | - Thorotrast e derivati della diossina | 39 |
| | - HCV, HBV, Alcool, Obesità e Cirrosi | 39 |
| | - Giunzione bilio pancreatica-anomala | 40 |
| | - Pazienti con drenaggio bilio-enterico chirurgico per patologie benigne delle vie biliari | 40 |
| | - Rettocolite ulcerosa | 41 |
| | - Follow-up dei pazienti a rischio | 41 |
| | - Prospettive future | 42 |

| | | |
|---------------------|---|-----------|
| Capitolo 6: | PRESENTAZIONE CLINICA | 47 |
| Capitolo 7: | LA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO | 49 |
| | - Antigeni tumorali | 49 |
| | - Ca19-9 e CEA nel siero | 49 |
| | - Ca19-9 e CEA nella bile | 49 |
| | - Altri marcatori | 49 |
| | - Marcatori molecolari nella bile | 50 |
| | - Aneuploidia del DNA | 50 |
| | - Fattori di crescita e loro recettori | 50 |
| | - Grado di evidenza | 51 |
| | - Prospettive future | 51 |
| Capitolo 8: | TECNICHE NON INVASIVE DI IMAGING NELLA DIAGNOSI E NEL PLANNING TERAPEUTICO DEL COLANGIOCARCINOMA | 55 |
| | - Ecografia | 55 |
| | - TC spirale multistrato | 56 |
| | - Risonanza magnetica e Colangio-RM | 56 |
| | - PET-TC | 57 |
| | - Prospettive future | 58 |
| Capitolo 9: | STAGING E FATTORI PROGNOSTICI | 59 |
| | - Grado di evidenza | 63 |
| | - Prospettive future | 64 |
| Capitolo 10: | L'ENDOSCOPIA NELLA DIAGNOSTICA E TRATTAMENTO DEL COLANGIOCARCINOMA | 65 |
| | - Prospettive future | 66 |
| Capitolo 11: | LA TERAPIA FARMACOLOGICA | 69 |
| | - Radioterapia | 70 |
| Capitolo 12: | LA TERAPIA CHIRURGICA | 73 |
| | - Colangiocarcinoma intraepatico | 73 |
| | - Terapia chirurgica | 73 |
| | - Colangiocarcinoma dell'ilo | 74 |
| | - Valutazione pre-operatoria | 74 |
| | - Il drenaggio pre-operatorio | 75 |
| | - Definizione di intervento | 76 |
| | - Il volume del fegato | 76 |
| | - Resezioni vascolari | 77 |
| | - Le infezioni | 77 |
| | - Il rischio post-operatorio | 78 |
| | - Gli interventi chirurgici palliativi | 78 |
| | - Colangiocarcinoma della via biliare extra-epatica | 78 |
| | - I risultati a distanza | 78 |
| Capitolo 13: | COLANGIOCARCINOMA E TRAPIANTO DI FEGATO | 83 |

PREFAZIONE

Il CCA descritto originariamente da Durand-Fardel nel 1840 è una neoplasia maligna dell'epitelio biliare caratterizzata da una prognosi estremamente infausta e, virtualmente, da nessuna risposta ai comuni chemioterapici. Negli ultimi anni, il CCA è stato oggetto di notevole attenzione da parte della comunità medico-scientifica per una serie di dati provenienti da vari paesi che dimostrano inequivocabilmente un marcato aumento di incidenza che riguarda soprattutto la forma intraepatica e che ha indotto ad esplorare i potenziali fattori ambientali responsabili di tale aumento. In alcuni paesi quali quelli britannici, il CCA ha raggiunto nelle donne in età post-menopausale, l'epatocarcinoma in termini di incidenza per cui difficilmente si può continuare a considerarlo una neoplasia rara. Purtroppo, nella stragrande maggioranza dei casi la neoplasia appare clinicamente quando sono possibili solo terapie palliative e questo, insieme alla breve sopravvivenza, genera tra gli operatori una sensazione d'impotenza che rende obiettivamente difficili trials clinici multicentrici. Inoltre, il CCA arriva all'attenzione di diversi specialisti (internisti, oncologi, endoscopisti, chirurghi, gastroenterologi) creando una dispersione di casistica che, obiettivamente, rappresenta un ulteriore ostacolo all'esecuzione di studi multicentrici.

La commissione AISF ha lavorato nell'intento di costruire un documento basato sull'evidenza scientifica e guidato nella sua formulazione dai criteri del PNLG (Piano Nazionale delle Linee Guida) (1). Purtroppo per diversi capitoli, la letteratura disponibile è scarsa per cui è stato obiettivamente difficile fornire il grado di evidenza o la forza delle raccomandazioni. Per ogni aspetto, inoltre, abbiamo cercato di mettere in evidenza quello che è necessario fare sia a livello scientifico che medico nell'obiettivo di stimolare studi multicentrici od iniziative societarie mirate a migliorare le attuali conoscenze. Il documento contiene dati originali riguardanti l'epidemiologia del CCA in Italia, ottenuti grazie al prezioso contributo dei colleghi dell'Istituto Superiore di Sanità che hanno partecipato ai lavori della commissione. Come raccomandato dal PNLG (1), il documento è stato revisionato da una commissione di referees esterni.

Quello che vuole essere un messaggio chiave è che nel CCA più di ogni altro tumore, è impellente la necessità di strumenti efficaci per una diagnosi precoce. E', infatti, evidenza assoluta che la terapia chirurgica è risolutiva nei casi di "early cancer" con sopravvivenza a cinque anni di oltre l'80%. Purtroppo, ancora oggi, la maggior parte dei CCA viene diagnostica in fase avanzata di malattia quando qualsiasi terapia diventa inefficace.

1. www.pnlg.it

CAPITOLO 1

INCIDENZA DEL COLANGIOCARCINOMA

La rapidità evolutiva del CCA è tale che il tasso di mortalità è abbastanza sovrapponibile a quello d'incidenza. Globalmente sia l'incidenza sia la mortalità dei tumori delle vie biliari sono basse, se confrontate ad altre forme neoplastiche. Il CCA è responsabile del 10-20% delle morti per neoplasie epatobiliari. Poiché queste ultime costituiscono il 13% dei 7,6 milioni di morti annui per tutte le forme neoplastiche, si può dedurre che il numero di decessi annuali per CCA nel mondo è di circa 100.000-200.000 soggetti. Comunque la mortalità per tumori intraepatici evidenzia un'evoluzione temporale differente da quella dei tumori extraepatici.

CCA intraepatico

La mortalità per CCA intraepatico, sulla base dei dati dell'O.M.S., è in aumento in tutto il mondo. Il maggior incremento si osserva in America, in Oceania e in Europa Occidentale. Minor incremento si osserva in Europa Centrale e Settentrionale, e in estremo Oriente (Tabella 1.1). In tredici regioni del mondo in cui si era verificato un incremento nel tasso di mortalità, l'aumento è risultato percentualmente più elevato negli uomini che nelle donne. Nelle aree del mondo in cui si è osservato un decremento, esso è risultato analogo nei due sessi, o, in alcuni casi, più elevato negli uomini che nelle donne. Globalmente l'incremento percentuale è stato di 6,9 per gli uomini e 5,1 per le donne (1).

L'incremento di mortalità per tale neoplasia non sembra essere conseguente a un maggior utilizzo di esami diagnostici quali l'ecografia, la tomografia, la colangiografia e l'angiografia, in quanto queste modalità diagnostiche sono disponibili da diversi anni (2). Inoltre, negli ultimi venti anni la percentuale di CCA diagnosticati in stadio precoce di neoplasia è risultato invariato a dimostrare che non si tratta di un falso aumento di incidenza legato al miglioramento delle tecniche diagnostiche (3), che avrebbe invece comportato un maggior numero di CCA diagnosticati in fase precoce. Il progressivo incremento nell'arco di quindici anni e l'assenza di un brusco cambiamento sono elementi a sfavore di un'eventuale misclassificazione diagnostica. Un'eventuale misclassificazione avrebbe interessato ambedue i sessi e quindi sarebbe inverosimile la differenza tra i sessi che si osserva.

CCA extraepatico

In contrasto con la forma intraepatica, la neoplasia extraepatica evidenzia un tasso di mortalità stabile o in diminuzione nella maggior parte delle aree geografiche e sia negli uomini che nelle donne (Tabella 1.1). La percentuale di diminuzione globale è stata di 0,3 negli uomini e di 1,3 nelle donne. La divergente tendenza temporale in termini di mortalità delle due localizzazioni di cancro delle vie biliari riflette evidentemente differenti fattori di rischio ad esse associate.

PROSPETTIVE FUTURE

Appare evidente che, in molte nazioni, vi è un aumento progressivo di incidenza di CCA. Considerando recenti studi sperimentali che documentano il potenziale cancerogeno di numerosi agenti ambientali a carico dell'epitelio biliare, riteniamo indispensabili studi epidemiologici mirati a definire i fattori di rischio ambientali per questa neoplasia.

Tabella 1.1
VARIAZIONI TEMPORALI DELLA MORTALITA' (%) PER CARCINOMA INTRA ED EXTRAEPATICO, PER SESSO. DATI O.M.S.

| Continente | Nazione | Anni | Tumore Intraepatico | | Tumore Extraepatico | |
|-----------------|-----------|---------|---------------------|-------|---------------------|------|
| | | | M | F | M | F |
| America | Canada | 1970-97 | +7,9 | +8,8 | -1,9 | -2,8 |
| | USA | 1970-96 | + 7,3 | +8,5 | -2,5 | -2,8 |
| Oceania | Australia | 1970-95 | +12,3 | +12,0 | -1,9 | -1,9 |
| Europa | Francia | 1970-96 | +10,0 | +5,2 | -1,2 | -0,1 |
| | Germania | 1990-97 | +13,2 | +2,5 | -1,2 | -3,2 |
| | Irlanda | 1970-96 | +10,9 | +8,5 | -0,5 | -2,5 |
| | Italia | 1970-95 | +4,2 | +5,9 | +2,9 | +2,3 |
| | U.K. | 1970-96 | +8,8 | +9,6 | -3,7 | -3,1 |
| | Svezia | 1970-95 | +9,1 | +3,5 | +0,6 | -0,5 |
| Estremo Oriente | Giappone | 1970-94 | +7,4 | +0,9 | +3,2 | +2,4 |

BIBLIOGRAFIA

1. Patel T, et al. Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies. BMC Cancer. 2002; 2:10-14.
2. Kuszyk BS, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma : the role of imaging in detection and staging. Crit Rev Diagn Imaging 1997; 38:59-88.
3. Shaib Y. J, et al. J Hepatol. 2004 Mar;40(3):472-7.

CAPITOLO 2

EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA DEL COLANGIOCARCINOMA IN ITALIA

Nella patologia oncologica, le fonti di dati di popolazione con un sufficiente livello di qualità sono fondamentalmente due: i dati della mortalità ufficiale, ed i dati di incidenza dati dei registri tumori. Altri tipi di rilevazioni, come le indagini campionarie sullo stato di salute o le schede di dimissione ospedaliera, sono concordemente ritenute troppo poco specifiche o non sufficientemente validate per fornire dati epidemiologici affidabili.

I dati di mortalità sono disponibili su tutto il territorio nazionale dal 1970 al 2003. La causa di morte è codificata secondo la Classificazione Internazionale delle Malattie a quattro cifre, ed in particolare secondo la nona revisione (ICD-9) fino al 2002 e la decima revisione (ICD-10) a partire dal 2003. La ICD-9 è basata generalmente sulla sede di insorgenza del tumore. I codici di interesse sono: 155.0 (tumore primitivo del fegato) 155.1 (tumore primitivo dei dotti biliari intraepatici), 156.0 (tumore primitivo della colecisti), 156.1 (tumore primitivo dei dotti biliari extraepatici), 156.2 (ampolla di Vater), 156.8 (altre sedi specificate) e 156.9 (vie biliari, non specificate). La ICD-9 non fornisce per i tumori epatici alcuna informazione sull'istologia del tumore o sulla natura (clinica o patologica) della diagnosi. I codici ICD-10, con riferimento ai soli tumori maligni, sono: C22.0 (HCC), C22.1 (dotti biliari intraepatici), C22.2 (epatoblastoma), C22.3 (angiosarcoma del fegato), C22.4 (altri sarcomi del fegato), C22.7 (altri specificati carcinomi del fegato), C22.8-C22.9 (tumori maligni non specificati e secondari del fegato), C23.0 (colecisti), C24.0 (dotti biliari extraepatici), C24.1 (ampolla di Vater), C24.8 (lesioni sovrapposte del tratto biliare), C24.9 (vie biliari NOS). La ICD-10 fornisce quindi per i tumori epatici alcune informazioni sull'istologia della lesione. Le altre informazioni desumibili dei dati di mortalità sono l'età, il sesso, il comune di nascita, di residenza e di decesso, la data del decesso.

I dati di incidenza vengono sistematicamente rilevati dai registri e sono centralizzati nella banca dati dell'Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM), per il periodo complessivo di diagnosi 1978-2005. I seguenti registri hanno contribuito alla banca dati: Alto Adige (periodo di diagnosi 1995-2003), Biella (1995-2002), Ferrara (1991-2005), Firenze e Prato (1985-2004), Friuli Venezia Giulia (1995-2005), Genova (1986-2002), Latina (1990-2003), Macerata (1991-2000), Milano (1999-2002), Modena (1988-2005), Napoli (1996-2005), Parma (1978-2005), Ragusa (1981-2005), Reggio Emilia (1996-2005), Romagna (1986-2004), Salerno (1996-2003), Sassari (1992-2003), Siracusa (1999-2002), Sondrio (1998-2005), Torino (1985-2004), Trapani (2002-2004), Trento (1995-2004), Umbria (1994-2004), Varese (1980-2001), Veneto (1987-2003).

I registri tumori sono strutture impegnate nella raccolta di informazioni sui malati di cancro residenti in un determinato territorio. Sono necessari perché in nessuna struttura ospedaliera italiana, pubblica o privata, c'è l'obbligo di archiviare i dati relativi alla diagnosi e alla cura dei tumori. La maggior parte dei registri italiani sono registri di popolazione ovvero raccolgono i dati relativi alle malattie tumorali di tutti i residenti di un determinato territorio (può essere una singola città o un'intera regione, una provincia o il territorio di una ASL). L'importanza di legare la raccolta di dati alla residenza sta nel fatto che in questo modo la casistica raccolta non sarà selezionata, ma rifletterà la reale condizione di un territorio dove sono presenti tutte le fasce di età, tutti gli strati sociali, ecc. Le informazioni obbligatoriamente raccolte dai registri riguardano la data di diagnosi, la sede tumorale, la morfologia della lesione, la natura della diagnosi. I registri tumori non forniscono al momento attuali dati sistematici sullo stadio alla diagnosi o sul trattamento, anche se sono in corso studi pilota per

la raccolta di queste informazioni. La sede e la morfologia vengono solitamente codificati secondo la classificazione internazionale delle malattie per l'oncologia (ICDO). I dati attualmente disponibili sono codificati, o sono stati convertiti, nei codici previsti dalla terza revisione (ICDO-3) di tale classificazione. La ICDO-3 fornisce per ogni diagnosi una coppia di codici: un codice topografico per classificare la sede di insorgenza del tumore, ed uno morfologico per denotarne l'istologia e la malignità. I codici topografici sono simili ai codici ICD-10: fegato (C22.0), dotti biliari intraepatici (C22.1), colecisti (C23.0), dotti biliari extraepatici (C24.0), ampolla di Vater (C24.1), lesioni sovrapposte del tratto biliare (C24.8), vie biliari NOS (C24.9). I codici morfologici potenzialmente rilevanti sono ovviamente molto più numerosi. La Tabella 2.1 mostra ad esempio tutte le voci associate alle neoplasie del fegato e delle vie biliari all'interno della banca dati di EURO CARE. Nella classificazione ICD-O, il termine CCA è esclusivamente riferito ad un ben preciso tipo istologico (codici 8160, 8161) che dovrebbe trovarsi solo (WHO, Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System, Geneva 2000, p. 173) nelle vie biliari intraepatiche. *In questo lavoro, noi utilizzeremo il termine CCA in una accezione più generale, intendendo tutti i tumori a differenziazione epiteliale che insorgono nelle vie biliari.* Nel paragrafo successivo discuteremo le possibili alternative per una corretta applicazione di questa definizione generale ai dati codificati in base alle classificazioni internazionali.

E' importante notare che, a causa della prognosi estremamente sfavorevole, i dati di incidenza e mortalità per tutti i tumori delle vie biliari dovrebbero essere teoricamente quasi sovrapponibili. In pratica però, le due serie di dati derivano da fonti diverse, con diverse procedure di raccolta e validazione. I dati di incidenza dei registri sono generalmente considerati qualitativamente più accurati e presentano inoltre delle informazioni, istologia e modalità di diagnosi, importanti per uno studio più approfondito.

CRITERIO DI DEFINIZIONE DEI CASI

Il primo criterio da stabilire è se basare la definizione di caso sulla sola sede di insorgenza, sulla sola morfologia, o su entrambi. Patel (1,2), utilizza la prima alternativa analizzando separatamente i tumori dei dotti biliari intraepatici (HBD) e di quelli extraepatici (EHBD), tra questi ultimi includendo le neoplasie della colecisti, ed altre neoplasie specificate dei dotti biliari. West et al. (3) presentano gli andamenti di mortalità ed incidenza di tutti i tumori epatici per ciascuna sottosede identificata dalla ICD-9 e, separatamente, per alcuni gruppi morfologici: HCC (ICDO 8170), CCA (8160, 8161), adenocarcinoma NOS (8140-8144), carcinoma NOS (8010-8040), tumore NOS (8000-8005).

Alcuni recenti articoli che analizzano dati USA (4) e del registro tumori danese (5) utilizzano invece un criterio misto, che tiene conto simultaneamente sia della sede che della morfologia, ed è descritto nella Tabella 2.2. Questa definizione è tuttavia scarsamente applicabile ai dati dei registri tumori europei ed italiani in particolare. È stato infatti già mostrato (6) che tali dati presentano un elevato numero di casi con codici morfologici non specificati o scarsamente specificati, e che per lo più corrispondono a pazienti con diagnosi clinica basata su imaging o marcatori biologici.

Una terza definizione operativa che tenga conto di questo problema può essere derivata (Tabella 2.3) dalla lista di tumori rari elaborata dal progetto europeo RARECARE (7). La definizione RARECARE si basa anch'essa su sede e morfologie e risulta più comprensiva, rispetto a quella di Welzel et al., per l'inclusione di un maggior numero di tipi istologici e soprattutto, per le ragioni sopra riportate, dei tumori non o scarsamente specificati.

Il confronto tra le diverse definizioni mostra (Tabella 2.4) notevoli differenze in termini di inciden-



za. La definizione utilizzata da Welzel et al. è quella che seleziona il minor numero di casi per entrambe le sottolocalizzazioni. Il criterio puramente topografico dà i tassi di incidenza più elevati per gli IHBD, mentre il criterio RARECARE dà i valori maggiori per gli EHBD. Nell'analisi che segue sarà utilizzata la definizione RARECARE.

ANDAMENTI DELL'INCIDENZA DEI TUMORI DELLE VIE BILIARI

Sono stati calcolati i tassi di incidenza per due diversi periodi, selezionando per ciascuno di essi i dati dei registri in grado di coprire l'intero intervallo. Per il periodo 1988-2002 sono stati quindi selezionati 9 registri tumori (Firenze e Prato, Genova, Modena, Parma, Ragusa, Romagna, Torino, Varese e Veneto), mentre per il periodo più recente 1997-2005 ne sono stati selezionati 13 (Ferrara, Firenze e Prato, Friuli Venezia Giulia, Modena, Napoli, Parma, Ragusa, Reggio Emilia, Romagna, Sondrio, Torino, Trento, Umbria). L'andamento dei tassi di incidenza (standardizzati sulla popolazione europea) sono mostrati nella Figura 2.1. Le due serie temporali sono praticamente sovrapponibili per gli EHBD, che presentano un aumento di incidenza da circa 10 nel 1988, a circa 16 per milione nel 2005, pari ad un incremento di circa il 3% all'anno. Per quanto riguarda invece gli IHBD, i tassi calcolati sui 9 registri del periodo 1988-1997 mostrano un aumento più marcato (da 5 a 12, + 6% annuo), rispetto alla serie più recente basata su 13 registri (da 8 a 11, + 4% annuo).

ANDAMENTI DELLA MORTALITÀ DEI TUMORI DELLE VIE BILIARI

Sono stati inoltre calcolati (Figura 2.2) i tassi di mortalità per entrambe le localizzazioni sulla base dei dati ISTAT 1980-2002, separatamente per i diversi codici ICD-9. I valori mostrano un andamento fortemente crescente per gli IHBD, ed uno decrescente per gli EHBD. Tuttavia, va considerato che la categoria più frequente si riferisce alle vie biliari non specificate. Questo impedisce una plausibile attribuzione dei decessi alle diverse sottosedi. Il forte decremento osservato degli EHBD tra il 1994 ed i 1995 corrisponde all'introduzione presso l'ISTAT del sistema di codifica automatico. Il significato di questi dati deve quindi essere attentamente valutato a fronte dei più recenti dati dei registri tumori.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Sia i dati ISTAT che i dati dei registri, in accordo con i dati della letteratura internazionale (1-5), dimostrano un significativo aumento di incidenza del CCA in Italia che sembrerebbe essere più marcato per la forma intraepatica. E' necessario tuttavia sottolineare che, mentre per il CCA extraepatico il criterio topografico consente di definire la diagnosi in maniera inequivocabile, per la forma intraepatica il criterio topografico deve essere associato al criterio istologico e questo crea sicuramente dei biases nella elaborazione dei dati di incidenza e mortalità. Dai dati AIRTUM (Tabella 2.1), infatti, almeno il 40% dei tumori primitivi maligni del fegato viene escluso dalla diagnosi di CCA ed HCC. E' opinione comune che, quando non si evidenzia la sede primitiva extraepatica, molte neoplasie primitive del fegato ed in particolare gli adenocarcinomi siano da considerarsi CCA (6-11). Se in futuro questa opinione fosse confermata da marcatori immunoistochimici, biologici o genetici, l'incidenza del CCA intraepatico sarebbe molto superiore a quella attualmente considerata.

Nota:

Si riconosce il contributo del Working Group dell'Associazione Italiana Registri Tumori (AIRTUM), che ha fornito i dati per le analisi presentate in questo capitolo. L'AIRTUM Working Group è composto da: C. Buzzoni (Banca dati AIRTUM), M. Ponz de Leon (Registro dei tumori coloretali di Modena), C. Magnani (Registro dei tumori infantili del Piemonte), V. Gennaro (Registro mesoteliomi Liguria), D. Serraino (Registro tumori del Friuli-Venezia-Giulia), P. Zambon (Registro tumori del Veneto), F. Bellù (Registro tumori dell'Alto Adige-Tumorregister SüdTirol), A. Giacomini (Registro tumori della Provincia di Biella), S. Ferretti (Registro tumori della Provincia di Ferrara), S. Vitarelli (Registro tumori di Macerata), A.G. Russo (Registro tumori Milano), M. Federico (Registro tumori della Provincia di Modena), V. De Lisi (Registro tumori della Provincia di Parma), A. Donato (Registro tumori della Provincia di Salerno), M. Budroni (Registro tumori della Provincia di Sassari), S. Piffer (Registro tumori della Provincia di Trento), F. Falcini (Registro tumori della Romagna), F. Pannozzo (Registro tumori della Provincia di Latina), M. Fusco (Registro tumori di popolazione Regione Campania), P. Crosignani (Registro tumori Lombardia, Provincia di Varese), R. Tessandori (Registro tumori di Sondrio), L. Mangone (Registro tumori Reggiano), M. Vercelli (Registro tumori regione Liguria), E. Paci (Registro tumori Toscana), F. La Rosa (Registro tumori umbro di popolazione), F. Pannelli (Registro tumori infantili e degli adolescenti regione Marche), R. Zanetti (Registro tumori Piemonte), R. Tumino (Registro tumori della Provincia di Ragusa), P. Candela (Registro tumori Provincia di Trapani), M.P. Contrino (Registro tumori di Siracusa).

Tabella 2.1.

DISTRIBUZIONI DELLE MORFOLOGIE NELLE NEOPLASIE MALIGNHE DEL FEGATO E DELLE VIE BILIARI (SOLO TUMORI EPITELIALI), SECONDO LA CLASSIFICAZIONE ICDO-3. DATI AIRTUM 1988-2005.

| Tumore | Codice | Casi | % |
|---|--------|-------|-----|
| Neoplasia maligna | 8000 | 896 | 3.2 |
| Tumore a cellule maligne | 8001 | 614 | 2.2 |
| Tumore maligno a piccole cellule | 8002 | 1 | 0.0 |
| Tumore maligno a grandi cellule | 8003 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma | 8010 | 1.224 | 4.4 |
| Carcinoma a grandi cellule | 8012 | 7 | 0.0 |
| Carcinoma neuroendocrino a cell. Giganti | 8013 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma a cell. Giganti con fenotipo rabdoide | 8014 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma indifferenziato | 8020 | 114 | 0.4 |
| Carcinoma anaplastico | 8021 | 48 | 0.2 |
| Carcinoma pleomorfo | 8022 | 2 | 0.0 |
| Carcinoma a cellule giganti fusiformi | 8030 | 3 | 0.0 |
| Carcinoma a cellule giganti | 8031 | 3 | 0.0 |
| Carcinoma a cellule fusiformi | 8032 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma pseudosarcomatoso | 8033 | 4 | 0.0 |
| Carcinoma a cellule policlonali | 8034 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma a piccole cellule | 8041 | 27 | 0.1 |
| Carcinoma a piccole cellule fusiformi | 8043 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma non a piccole cellule | 8046 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma papillare | 8050 | 19 | 0.1 |
| Carcinoma cellulare squamoso | 8070 | 85 | 0.3 |
| Carcinoma cell. squamoso cheratinizzante | 8071 | 12 | 0.0 |
| Carcinoma cellulare squamoso a grandi cell. non cheratinizzante | 8072 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma cellulare squamoso a piccole cell. non cheratinizzate | 8073 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma cellulare adenoido squamoso | 8075 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma linfoepiteliale | 8082 | 2 | 0.0 |



| | | | |
|--|--------------|--------|--------------|
| Adenocarcinoma | 8140 | 8.638 | 31.2 |
| Adenocarcinoma scirroso | 8141 | 3 | 0.0 |
| Adenocarcinoma a diffusione superficiale | 8143 | 8 | 0.0 |
| Adenocarcinoma intestinale | 8145 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma a diffusione superficiale | 8145 | 1 | 0.0 |
| Colangiocarcinoma | 8160 | 1.186 | 4.3 |
| Cistoadenocarcinoma dei dotti biliari | 8161 | 12 | 0.0 |
| Tumore di Klatzkin | 8162 | 24 | 0.1 |
| Carcinoma epatocellulare | 8170 | 13.133 | 47.4 |
| Carcinoma epatocellulare fibrolamellare | 8171 | 58 | 0.2 |
| Carcinoma epatocellulare a cellule fusiformi | 8173 | 3 | 0.0 |
| Carcinoma epatocellulare a cellule chiare | 8174 | 33 | 0.1 |
| Carcinoma epatocellulare a cellule pleomorfe | 8175 | 2 | 0.0 |
| Epatocolangiocarcinoma | 8180 | 225 | 0.8 |
| Adenocarcinoma trabecolare | 8190 | 140 | 0.5 |
| Adenocarcinoma su polipo adenomatoso | 8210 | 15 | 0.1 |
| Adenocarcinoma tubulare | 8211 | 75 | 0.3 |
| Carcinoma solido | 8230 | 72 | 0.3 |
| Carcinoide maligno | 8240 | 57 | 0.2 |
| Carcinoma maligno a cellule argentaffini | 8241 | 1 | 0.0 |
| Mucocarcinoide maligno | 8243 | 2 | 0.0 |
| Carcinoide tubulare | 8245 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma neuroendocrino | 8246 | 32 | 0.1 |
| Adenocarcinoma alveolare | 8251 | 1 | 0.0 |
| Adenocarcinoma papillare | 8260 | 240 | 0.9 |
| Adenocarcinoma su adenoma villosa | 8261 | 33 | 0.1 |
| Adenocarcinoma villosa | 8262 | 7 | 0.0 |
| Adenocarcinoma in adenoma tubulo villosa | 8263 | 11 | 0.0 |
| Adenocarcinoma a cellule chiare | 8310 | 41 | 0.1 |
| Adenocarcinoma a cellule miste | 8323 | 5 | 0.0 |
| Adenocarcinoma follicolare di tipo trasecolare | 8332 | 1 | 0.0 |
| Cistoadenocarcinoma | 8440 | 4 | 0.0 |
| Carcinoma sclerosante non capsulato | 8450 | 4 | 0.0 |
| Adenoma della corticale surrenale | 8470 | 1 | 0.0 |
| Adenocarcinoma mucinoso | 8480 | 205 | 0.7 |
| Adenoma mucino-secerne | 8481 | 120 | 0.4 |
| Carcinoma a cell. ad anello con castone | 8490 | 86 | 0.3 |
| Carcinoma infiltrante duttale | 8500 | 17 | 0.1 |
| Carcinoma papillare intracistico | 8503 | 2 | 0.0 |
| Carcinoma papillare intracistica | 8504 | 1 | 0.0 |
| Carcinoma cellulare acinare | 8550 | 6 | 0.0 |
| Carcinoma adeno squamoso | 8560 | 126 | 0.5 |
| Carcinoma mioepiteliale | 8562 | 1 | 0.0 |
| Adenocarcinoma con metaplasia squamosa | 8570 | 5 | 0.0 |
| Adenocarcinoma con componente neuroendocrina | 8574 | 1 | 0.0 |
| Melanoma | 8720 | 2 | 0.0 |
| TUMORI EPITELIALI | 27728 | | 100.0 |

Tabella 2.2.
CLASSIFICAZIONE DEI COLANGIOCARCINOMI SECONDO WELZEL ET AL (4)

| | Sede | Morfologia |
|----------------|---------------------|--|
| Vie Biliari IH | C22.0 | 8160, 8161 |
| Vie Biliari IH | C22.1 | 8010, 8020, 8140, 8160, 8161 |
| Vie Biliari EH | C24.0 | 8010, 8020, 8041, 8070, 8140, 8144, 8160, 8161, 8260 8310, 8480, 8490, 8560. |
| Vie Biliari EH | ovunque localizzato | 8162 |

Tabella 2.3.
CLASSIFICAZIONE DEI COLANGIOCARCINOMI: RARECARE

| | Sede | Morfologia |
|----------------|---------------------|---|
| Vie Biliari IH | C22.0 | 8160, 8161 |
| Vie Biliari IH | C22.1 | 8000-8005, 8010, 8011 + 8020-8022, 8050-8084, 8140-8141, 8160, 8161, 8480-8500, 8550, 8560, 8570-8572 |
| Vie Biliari EH | C24.0 | 8000-8005, 8010, 8011 + 8020-8022, 8140-8141, 8144, 8160-8162, 8190, 8230-8231, 8260, 8310, 8480-8500, 8550, 8560, 8570-8573, 8575-8576 |
| Vie Biliari EH | ovunque localizzato | 8162 (Klatskin) |

Tabella 2.4.
INCIDENZA DEI COLANGIOCARCINOMI DELLE VIE BILIARI INTRA-EPATICHE (IH) ED EXTRA-EPATICHE (EH) SECONDO LE DIVERSE DEFINIZIONI. DATI DEI REGISTRI TUMORI ITALIANI, 1988-2005.

| Criterio di definizione | Vie Biliari IH | | Vie Biliari EH | |
|--|-----------------------|-------------|-----------------------|-------------|
| | Tasso | Casi | Tasso | Casi |
| Topografico | 0.78 | 1430 | 3.30 | 6048 |
| Topografico e morfologico (Welzel et al) | 0.72 | 1329 | 0.93 | 1706 |
| Topografico e morfologico (RARECARE) | 1.03 | 1882 | 2.12 | 3893 |



Figura 2.1
ANDAMENTI DEI TASSI DI INCIDENZA STANDARDIZZATI PER CCA DELLE VIE BILIARI INTRAEPATICHE (IEBD) ED EXTRAEPATICHE (EHBD) NELLE POPOLAZIONI OSSERVATE DA 9 REGISTRI (PERIODO 1988-2002) E DA 13 REGISTRI (PERIODO 1997-2005) ITALIANI.

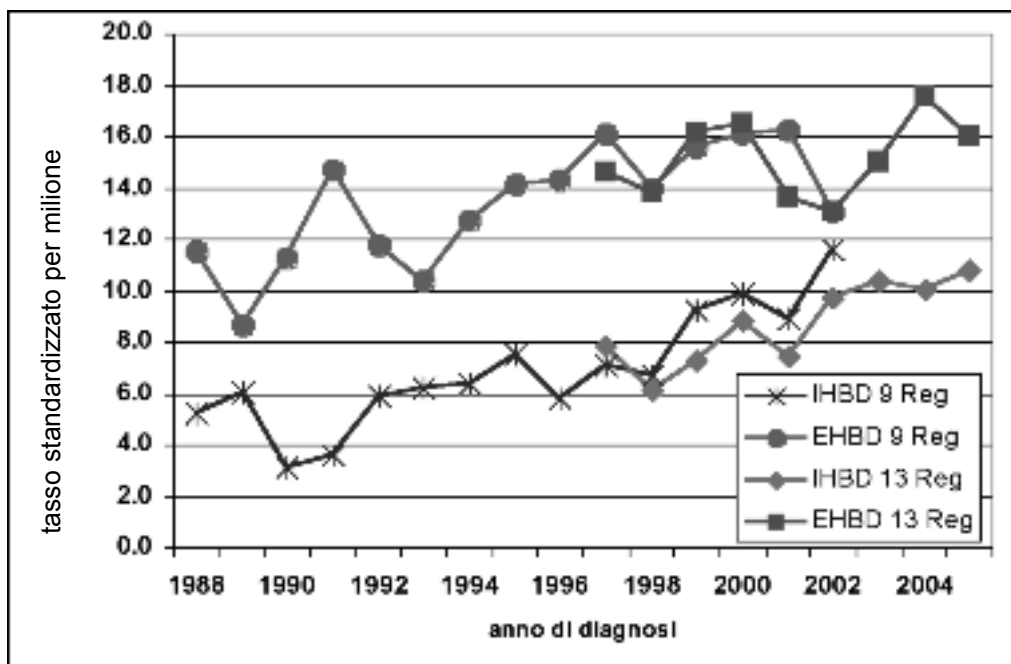
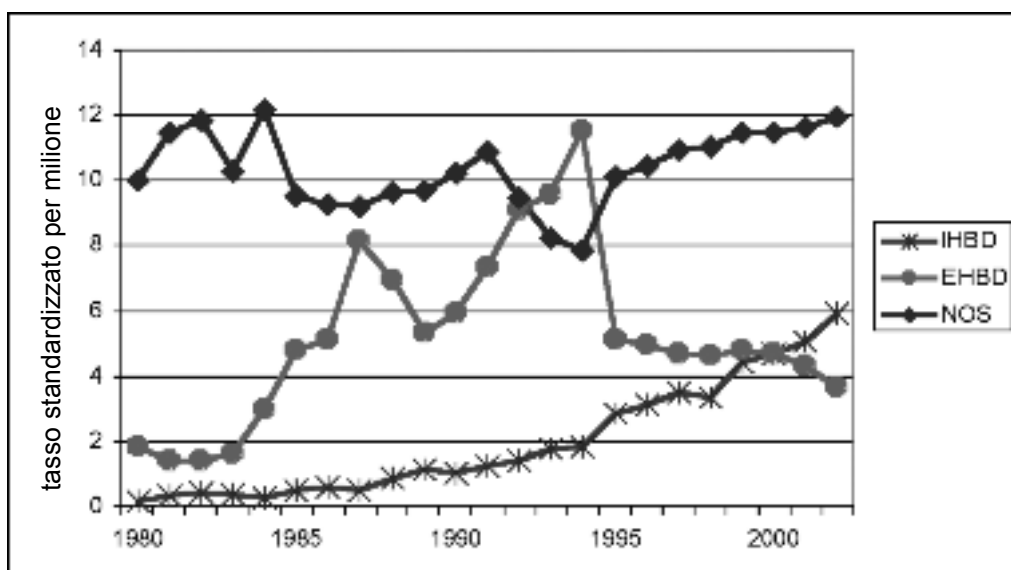


Figura 2.2.
TASSI DI MORTALITÀ DEI TUMORI DELLE VIE BILIARI IN ITALIA PER ANNO DI DECESSO NEL PERIODO 1980-2003





BIBLIOGRAFIA

1. Patel T, et al. Increasing Incidence and Mortality of Primary Intrahepatic Cholangiocarcinoma in the United States. *Hepatology* 2001; 33: 1353-1357.
2. Patel T. et al, Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies. *BMC Cancer* 2002; 2: 10-15.
3. West J, et al. Trends in the incidence of primary liver and biliary tract cancers in England and Wales 1971–2001. *British Journal of Cancer* 2006; 94: 1751 – 1758.
4. Welzel TM, et al. Impact of Classification of Hilar Cholangiocarcinomas (Klatskin Tumors) on the Incidence of Intra- and Extrahepatic Cholangiocarcinoma in the United States. *JNCI* 2006; 98: 873-875.
5. Jepsen P, et al. Incidence Rates of Intra- and Extrahepatic Cholangiocarcinomas in Denmark From 1978 Through 2002. *JNCI* 2008; 99: 895-897.
6. Burak K. et al. Incidence and risk factors for cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99(3): 523-526.
7. Angulo P. et al. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999; 30: 325 –332.
8. Khan SA et al. Cholangiocarcinoma *Lancet* 2005; 366: 1303-1314.
9. Blechacz B et al. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 2008, 1-14.
10. Gores GJ et al. Cholangiocarcinoma: is transplantation an option? For whom? *Hepatology* 2007; 47: 455-459.
11. LaRusso NF et al. Engineered measles virus as a novel oncolytic viral therapy system for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2006; 44: 746-764.

CAPITOLO 3

ASPETTI ANATOMO-PATOLOGICI DEL COLANGIOCARCINOMA

Il CCA è una neoplasia maligna primitiva derivante dall'epitelio biliare, e può essere classificato macroscopicamente in base alla sede anatomica ed al tipo di lesione, o microscopicamente a seconda delle caratteristiche istologiche (1). Il CCA può insorgere in qualsiasi regione dell'albero biliare, intra- ed extra-epatico, rispettivamente. La tipizzazione del CCA in relazione alla sua localizzazione è rilevante ai fini sia prognostici che terapeutici, e si correla parzialmente con la morfologia macro- e microscopica del tumore (2).

Seguendo questo criterio, il CCA può essere classificato come a) **intraepatico ed extraepatico** a sua volta distinguibile in b) **perilare** o di **Klatskin** (definito come tumore a partenza dalle vie biliari extraepatiche, ma situato prossimamente all'origine del dotto cistico) e c) **distale**. Seguendo questa classificazione, i tumori perilari sono i più frequenti (60%), seguiti dalle forme distali (30%) e poi dai tumori intraepatici (10%) (3).

In relazione con la sede del tumore, si possono poi distinguere lesioni morfologiche di CCA abbastanza specifiche. Infatti, le lesioni possono essere solide, oppure papillari quando la neoplasia insorge all'interno delle strutture duttali di maggior calibro. Con questo approccio, sono state riportate tre varianti tipiche di CCA, a) la forma **sclerosante** (*periductal-infiltrating*, tipicamente ilare), b) la forma **nodulare** (*mass-forming*, tipicamente intraepatica) e c) la forma **papillare** (*intraduttale*, tipicamente extraepatica) (4).

Il CCA intraepatico può formare una massa singola con o senza noduli satelliti più piccoli, generalmente nell'ambito di un parenchima epatico non cirrotico, a differenza di quanto avviene invece nell'HCC, l'altro tumore epatico di origine epiteliale. Meno frequentemente il CCA intraepatico si presenta in forma di noduli multipli. Il CCA perilare può invece causare atrofia segmentaria del fegato, e questo può portare a sovrastimare le dimensioni del tumore, e quindi a comprometterne il giudizio di resecabilità (5). Dal punto di vista macroscopico, il tumore si presenta come lesione dura, molto compatta, di colorito da bianco a marrone-chiaro, senza significative aree necrotiche. Questo aspetto è determinato dalla presenza di una ricca reazione desmoplastica che generalmente accompagna la crescita dei dotti biliari neoplastici, e che rappresenta la caratteristica peculiare di questi tumori.

La reazione desmoplastica: ruolo nella crescita e nella diffusione del tumore. Sul piano istopatologico, una delle caratteristiche più tipiche del CCA e probabilmente uno degli elementi strutturali principalmente responsabili della sua spiccata invasività, è la tendenza a formare tessuto fibro-sclerosante con la progressione della lesione (6). Questo processo è caratterizzato dallo sviluppo di una intensa reazione fibroblastica che si realizza contestualmente con l'ispessimento circonferenziale del dotto biliare. In questo modo, il CCA manifesta la sua capacità invasiva, per mezzo della quale può sia infiltrare le strutture vascolari periduttali (vena porta ed arteria epatica), che estendersi in senso prossimale lungo i dotti biliari intraepatici. Mentre la diffusione in senso distale segue le vie neurali e linfatiche, quella in senso prossimale avviene attraverso le tonache mucosa e sottomucosa (7). L'eccessiva deposizione di tessuto fibrotico che accompagna la crescita dei dotti neoplastici è stata recentemente chiamata "**stroma tumorale reattivo**" (8). A differenza dello stroma normale, che contiene pochi fibroblasti immersi in una matrice extracellulare fisiologica, lo stroma tumorale reattivo presenta un maggior numero di fibroblasti, accompagnati da un'aumentata densità capillare e da una maggior deposizione di fibrina e di collagene di tipo I. Lo stroma tumorale reattivo non è caratteristica esclusiva del CCA, ma è stato identificato anche in altre neoplasie epiteliali, quali i carci-

nomi gastrico, mammario, pancreatico, prostatico e colico. In queste forme di carcinoma, è recentemente emerso il ruolo chiave svolto da una particolare popolazione di fibroblasti attivati, denominati *carcinoma-associated fibroblasts (CAF)* (8), che verosimilmente contribuiscono alla crescita ed alla diffusione delle cellule tumorali mediante l'attivazione di meccanismi di "cross-talk" sia di tipo paracrino che autocrino. Queste cellule, che vengono identificate sulla base della loro espressione di α -actina del muscolo liscio (*α -smooth-muscle actin, α SMA*), sono infatti in grado di liberare un gran numero di fattori di crescita e chemochine che alterano profondamente il microambiente della matrice extracellulare del tumore.

DIFFUSIONE NEOPLASTICA

Il CCA è una neoplasia molto aggressiva e si diffonde rapidamente nel circostante parenchima epatico attraverso il peduncolo portale ed i dotti biliari. Il CCA perilare e quello medio-distale sfruttando direttamente le vie di continuità (pareti dei dotti biliari) e di contiguità (tessuti molli circostanti) si estendono frequentemente a fegato, colecisti, pancreas, ampolla di Vater e duodeno. Questa modalità di diffusione rende ragione del fatto che la diagnosi differenziale con i tumori originanti da queste sedi può essere molto difficile, e quindi impedirne una diagnosi di primitività soprattutto nelle forme tumorali di maggiori dimensioni. Le modalità di diffusione del CCA comprendono anche l'*infiltrazione perineurale*, presente nel 39% dei pazienti con CCA intraepatico, e sino al 75% di quelli con CCA extraepatico, come pure l'*angioinvasione* e la *linfoinvasione*, presenti sia negli intraepatici (>60%) che negli extraepatici (>70%), e meno frequenti nelle forme ilari, ma comunque sempre superiori alle capacità infiltrative dell'HCC (9,10). Le metastasi ai linfonodi loco-regionali sono più frequenti nelle forme distali (60%) rispetto a quelle perilari (28%) ed intraepatiche (29%) (3). Le metastasi a distanza per via ematica si sviluppano invece in una fase solitamente più tardiva, anche se la carcinosi peritoneale è spesso riscontrata in corso di *recurrence* post-resezione.

ASPETTI ISTOPATOLOGICI

Adenocarcinoma E' il tipo istologico più frequente (circa il 90% dei CCA) e può avere un grado molto variabile di differenziazione. Negli stadi iniziali la neoplasia è ben differenziata con aspetti tubulari. Le neoplasie che insorgono e si sviluppano all'interno dei dotti biliari hanno spesso un aspetto papillare. La reazione desmoplastica è molto marcata e presenta un caratteristico andamento: nelle aree centrali del tumore la lesione è prevalentemente sclerotica, mentre perifericamente la fibrosi appare florida con vivace reazione fibroblastica. Altra caratteristica è la produzione di muco positivo alla colorazione mucicarminio-PAS ed Alcian blu. Dal punto di vista dell'immunofenotipo, la neoplasia risulta positiva per le citocheratine 7 e 19 (CK7, CK19), per l'antigene di membrana epiteliale (EMA) e mostra una positività citoplasmatica per l'antigene carcino-embrionale (CEA). La produzione di bile da parte del tumore è sempre assente.

Carcinoma squamoso ed adenosquamoso E' un tumore caratterizzato dalla presenza di una componente squamosa; è un reperto raro, ed è gravato da una prognosi peggiore rispetto all'adenocarcinoma classico (11); probabilmente origina da una metaplasia squamosa dell'epitelio di rivestimento di una cisti biliare solitaria (12). La forma squamocellulare pura è eccezionale.

Adenocarcinoma mucinoso E' caratterizzato dalla presenza di muco extracellulare, solitamente visibile ad occhio nudo. Istologicamente si evidenziano strutture ghiandolari immerse in laghi di muco. Questo istotipo mostra un comportamento clinico particolarmente aggressivo.



Carcinoma colangiocellulare Questa neoplasia, costituita da strutture tubulari con lume ristretto, deriva probabilmente dai canali di Hering.

Carcinoma a cellule ad anello con castone Le segnalazioni di CCA costituito esclusivamente da cellule ad anello con castone sono eccezionali; normalmente aspetti di questo tipo vengono osservati nel contesto di un adenocarcinoma.

Carcinoma sarcomatoide La presenza di aree a cellule fusate di aspetto mesenchimale maligno, frammiste ad aree di carcinoma, è indicativa di una prognosi peggiore (13).

Carcinoma linfo-epitelioma like Esistono solo alcuni case-reports di tumori EBV-correlati, solitamente associati ad un adenocarcinoma.

Carcinoma a cellule chiare Le cellule neoplastiche hanno ampio citoplasma chiaro che risulta però contenere muco (positività delle colorazioni PAS e d-PAS).

Carcinoma mucoepidermoide Varietà estremamente rara, simile al tumore che insorge nelle ghiandole salivari.

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Carcinoma epatocellulare Alcuni CCA possono presentare una struttura microscopica trabecolare simile al carcinoma epatocellulare; d'altro canto, anche l'HCC può mostrare un *pattern* pseudo-ghiandolare (14). Tuttavia nel CCA si osserva marcata desmoplasia, ed i sinusoidi sono assenti. Inoltre, mentre quasi tutti i CCA sono diffusamente positivi per CK7 e CK19, i carcinomi epatocellulari sono positivi per l'antigene Hep Par 1. Esiste però la possibilità di una forma mista HCC-CCA, (generalmente CK-7 positivo) caratterizzata da un aspetto colangiolare con produzione di mucina associato ad elementi cellulari con chiara differenziazione in senso epatocitario, e viene generalmente considerato un sottotipo di HCC (7).

Adenocarcinoma metastatico La principale diagnosi differenziale del CCA è quello con l'adenocarcinoma metastatico di origine bilio-digestiva. I principali criteri per la diagnosi di CCA sono: la positività per la CK7, la negatività per la CK20 (solitamente positiva nelle neoplasie gastro-intestinali), e la presenza di focolai di adenocarcinoma *in situ* nel parenchima peri-tumorale. Il criterio clinico (assenza di primitività extra-epatica) è fondamentale per la diagnosi corretta.

Colangite sclerosante La colangite sclerosante può mostrare aspetti di sclerosi e pseudo-infiltrazione, in particolare nelle agobiopsie. I principali criteri per la diagnosi di malignità sono la severa atipia citologica dell'epitelio biliare e l'invasione perineurale. In particolare, il problema di diagnosi differenziale si pone con il CCA extraepatico nelle forme di colangite sclerosante con interessamento stenosante delle vie biliari extraepatiche. E' stata descritta l'iper-espressione di p53 nei CCA che originano dalla CSP come possibile criterio differenziativo tra il CCA extraepatico e le condizioni infiammatorie (15).

GRADING

Il CCA può essere gradato istologicamente in ben differenziato, moderatamente differenziato e scarsamente differenziato; nella maggior parte dei casi la neoplasia appare moderatamente differenziata con aspetti tubulari e cribriformi. Le forme meno differenziate mostrano strutture tubulari molto distorte ed un marcato polimorfismo cellulare.

PRECURSORI DEL CCA

Recenti evidenze sostengono il possibile sviluppo “*stepwise*” del CCA a partire da lesioni pre-cancerose. Le principali di queste sono la neoplasia intraepiteliale e la papillomatosi biliare. Tuttavia, il *timing* richiesto per sviluppare l’effettiva trasformazione maligna è ancora sconosciuto.

Neoplasia intraepiteliale E’ caratterizzata dalla presenza di anomalie dell’epitelio duttale biliare caratterizzate da: pluristratificazione nucleare, presenza di proiezioni micro-papillari, perdita della polarizzazione dell’epitelio, aumento del rapporto nucleo/citoplasma. Può essere di basso grado oppure di alto grado. Alcune evidenze sperimentali (studi di cinetica cellulare sull’attività telomerasica, focale positività per il CEA) supportano la possibilità della sequenza displasia-neoplasia nell’albero biliare alla stessa guisa di quanto descritto per l’HCC (16).

Papillomatosi biliare Si tratta di una rara condizione caratterizzata dalla presenza di vegetazioni endoluminari biliari, che istologicamente hanno i caratteri dell’adenoma tubulo-villoso e che possono mostrare tre tipi di differenziazione epiteliale, pancreatico-biliare, intestinale e gastrica. Nel 30% dei casi mostrano ipersecrezione mucinosa. Si possono osservare talora focolai di displasia epiteliale di alto grado / adenocarcinoma in situ. Il carcinoma papillare biliare ha una prognosi più favorevole rispetto all’adenocarcinoma classico, con sopravvivenza a cinque anni del 22% vs 8% (17).

PROSPETTIVE FUTURE

1. La diagnosi istopatologica del CCA è spesso difficoltosa e richiede un’accurata diagnostica differenziale, con particolare attenzione alle localizzazioni metastatiche di adenocarcinomi derivanti da altre primitività della sfera digestiva, come il pancreas, lo stomaco ed il colon. Saranno necessari studi per identificare nuovi markers diagnostici di CCA, più specifici delle citocheratine convenzionalmente utilizzate nella pratica clinica.
2. La sequenza temporale delle lesioni precancerose necessita di studi prospettici al fine di chiarire l’effettivo potenziale maligno di dette lesioni.
3. La rapida invasività del tumore promossa dallo stroma tumorale reattivo rappresenta uno degli aspetti cruciali da studiare per definire meglio le proprietà biologiche di questo tumore così aggressivo ed eventualmente per orientare nuove strategie terapeutiche.



BIBLIOGRAFIA

1. Blechacz B, et al. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 2008; 48: 308-21.
2. Nakeeb A, et al. Cholangiocarcinoma. A spectrum of intrahepatic, perihilar, and distal tumors. *Ann Surg* 1996; 224: 463-475.
3. De Oliveira ML, et al. Cholangiocarcinoma: thirty-one-year experience with 564 patients at a single institution. *Ann Surg* 2007; 245: 755-62.
4. Sasaki A, et al. Intrahepatic peripheral cholangiocarcinoma: mode of spread and choice of surgical treatment. *Br J Surg* 1998; 85: 1206-9.
5. Albores-Saavedra J, et al. Dysplasia, carcinoma in situ, and invasive carcinoma of the extrahepatic bile duct. In: Rosai J, Sobin LH, editors. *Tumors of the gallbladder, extrahepatic bile ducts and ampulla of Vater*. Washington, D.C.: AFIP; 2000. p. 191-215.
6. Gores GJ, et al. Cholangiocarcinoma: current concepts and insights. *Hepatology* 2003; 3: 961-969.
7. Ishak KG, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma and other malignant biliary tumors. In: Rosai J, Sobin LH, editors. *Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts*. Washington, D.C.: AFIP; 2001. p. 245-70.
8. Kalluri R, et al. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006; 6(5): 392-401.
9. Uenishi T, et al. Histologic factors affecting prognosis following hepatectomy for intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2001; 25: 865-9.
10. Yamaguchi K, et al. Carcinoma of the extrahepatic bile duct: mode of spread and its prognostic implications. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 1256-61.
11. Maeda T, et al. Adenosquamous carcinoma of the liver: clinicopathologic characteristics and cytokeratin profile. *Cancer* 1997; 80: 364-71.
12. Pliskin A, et al. Primary squamous cell carcinoma originating in congenital cysts of the liver. Report of a case and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 105-7.
13. Nakajima T, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma with sarcomatous change. Clinicopathologic and immunohistochemical evaluation of seven cases. *Cancer* 1993; 72: 1872-7.
14. Minervini MI, et al. Utilization of hepatocyte-specific antibody in the immunocytochemical evaluation of liver tumors. *Mod Pathol* 1997; 10: 686-92.
15. Rizzi PM, et al. p53 protein overexpression in cholangiocarcinoma arising in primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996; 38: 265-8.
16. Zen Y, et al. Biliary intraepithelial neoplasia: an international interobserver agreement study and proposal for diagnostic criteria. *Mod Pathol* 2007; 20: 701-9.
17. Albores-Saavedra J, et al. Dysplasia, carcinoma in situ, and invasive carcinoma of the extrahepatic bile duct. In: Rosai J, Sobin LH, editors. *Tumors of the gallbladder, extrahepatic bile ducts and ampulla of Vater*. Washington, D.C.: AFIP; 2000. p. 191-215.

CAPITOLO 4

GENETICA, BIOLOGIA CELLULARE E MOLECOLARE

I meccanismi molecolari implicati nello sviluppo, nella crescita e nella diffusione metastatica del CCA sono conosciuti solo parzialmente. Il progressivo aumento di incidenza e mortalità del CCA (1, 2) giustifica l'impellente bisogno di caratterizzare i meccanismi fisiopatologici coinvolti nella trasformazione neoplastica e nella proliferazione dei colangiociti maligni. Si ritiene che il processo di colangiocarcinogenesi si instauri attraverso l'alterazione dei meccanismi di controllo della risposta cellulare al danno. In particolare, ciò si riflette nella disregolazione di tre proprietà biologiche cellulari fondamentali: (i) la proliferazione, (ii) la sopravvivenza e (iii) la capacità di migrazione (3-5). Studi effettuati negli ultimi anni hanno permesso di identificare alcuni dei meccanismi alla base di tali alterazioni e come queste sembrano correlarsi con anomalie genetiche o acquisite. In questo capitolo saranno descritti i fattori biologici e i meccanismi molecolari alla base della trasformazione neoplastica dell'epitelio biliare.

DISREGOLAZIONE DEL MECCANISMO PROLIFERATIVO DELL'EPITELIO BILIARE

Un aspetto fondamentale alla base del processo di colangiocarcinogenesi è l'attivazione di un segnale di proliferazione cellulare autonomo. La proliferazione dei colangiociti maligni è favorita e costantemente stimolata da fattori mitogenici prodotti localmente dalle cellule tumorali stesse e dall'auto-attivazione di recettori cellulari specifici. Nel fegato gli epatociti, le cellule endoteliali sinusoidali, le cellule stellate e le cellule di Kupffer secernono citochine, le quali sono presenti in abbondante quantità in corso di processi infiammatori cronici.

Anche i colangiociti producono e rilasciano citochine quali l'IL-6, il TGF- β , l'IL-8, il TNF- α ed il PDGF- B chain (6), le quali interagiscono con l'epitelio biliare stesso e ne regolano l'omeostasi in maniera autocrino/paracrino.

Tali molecole giocano un ruolo importante nel processo di carcinogenesi dell'epitelio biliare. Una spiegazione di questo fenomeno può essere legata al fatto che nel corso del processo di trasformazione maligna dei colangiociti il segnale intracellulare attivato in risposta alle citochine sia alterato (5), favorendo così lo sviluppo e la crescita delle cellule di CCA (7).

FATTORI BIOLOGICI

Numerosi studi dimostrano che la secrezione di IL-6 è aumentata nel corso di infiammazione cronica dei dotti biliari (8), e che tale citochina stimola la proliferazione delle cellule di CCA tramite un meccanismo di tipo autocrino-paracrino (8).

TGF- β è una citochina coinvolta nella genesi di molte patologie delle vie biliari (7) E' stato dimostrato che il segnale mediato dal TGF- β è alterato nelle cellule di CCA (9).

Tutto ciò sarebbe imputabile sia a mutazioni del recettore del TGF- β (delezione di T β R1), sia ad alterazioni dei mediatori del segnale intracellulare (al pari di Smad4) (9). Inoltre, uno studio recente ha dimostrato che il TGF- β non è espresso dai colangiociti normali ma compare nei colangiociti in seguito a legatura del coledoco (BDL) insieme ad un aumento di mannosio 6 fosfato/insulin-like growth factor-II receptor (M6P/IGF-II), un attivatore del TGF- β latente (10). E' stato visto, quindi, che un segnale intracellulare alterato e mediato dal TGF- β può facilitare la progressione tumorale,

permettendo alle cellule di sfuggire all'effetto inibitorio del TGF- β stesso (7). Il cancro delle vie biliari è spesso accompagnato dalla presenza di un'abbondante stroma fibroso (3), e l'espressione del TGF- β 1 da parte di tale neoplasia correla con l'espressione di collagene di tipo I (11). Gli effetti del TGF- β sulla proliferazione dei colangiociti potrebbero essere regolati indirettamente dalle interazioni matrice-cellule, dato che questa citochina è un potente mediatore della reazione stromale. Inoltre, è stato dimostrato che i colangiociti maligni esprimono alti livelli di hepatocyte growth factor (HGF), sia *in vitro* che *in vivo*, i quali si associano con l'iper-attivazione e l'iper-fosforilazione di c-met (12), il recettore di superficie cellulare per l'HGF (13). Questo fenomeno suggerisce l'esistenza di un meccanismo di tipo autocrino a sostegno della crescita dei colangiociti maligni (13). È stato recentemente dimostrato che la risposta proliferativa al danno da parte dell'epitelio biliare dipende dalla stimolazione cellulare da parte di ormoni quali estrogeni, Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) e Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (14). Anche la proliferazione delle cellule di CCA è soggetta a tale stimolo. Infatti, l'esposizione ad estrogeni ed IGF-1 stimola la crescita cellulare sia direttamente che indirettamente attraverso il rilascio di VEGF da parte dei colangiociti maligni stessi (15, 16). Un altro fattore trofico importante sembra essere la leptina, che aumenta proliferazione, sopravvivenza e capacità di migrazione delle cellule di CCA (17). È stato dimostrato che la perdita di funzionalità del recettore della leptina riduce lo sviluppo del CCA *in vivo* (17).

MECCANISMI MOLECOLARI

Nello specifico, l'IL-6 attiva sia p44/p42 che p38, entrambi appartenenti alla famiglia MAPK (18), i quali, a turno, riducono l'espressione di p21 (WAF/CIP1), una proteina che controlla il ciclo cellulare (19). Recentemente è stato dimostrato che l'azione carcinogenetica dell'IL-6 dipende dall'incremento di Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1), proteina che appartiene alla famiglia antiapoptotica BCL-2 (vedi sotto) (20). Questo effetto dipende dall'aumentata attivazione di STAT3, attivata in maniera costitutiva nei colangiociti maligni e regolatrice della trascrizione di Mcl-1 (21). Queste evidenze giustificano un'azione antiapoptotica dell'IL-6 ed aprono una nuova prospettiva sull'uso degli inibitori di STAT-3 nel trattamento del CCA umano.

DISREGOLAZIONE DEL PROCESSO APOPTOTICO NELL'EPITELIO BILIARE

L'apoptosi, o morte cellulare programmata, rappresenta un evento fisiologico essenziale che gioca un ruolo critico nel mantenimento dell'omeostasi dell'epitelio biliare (22). Questo fenomeno è in genere utilizzato dall'organismo per eliminare le cellule che non sono più in grado di riparare il proprio DNA danneggiato. Una riduzione od una disregolazione dei meccanismi alla base del processo apoptotico comporta la sopravvivenza di colangiociti affetti da mutazioni del DNA, i quali nel tempo potrebbero andare incontro ad una trasformazione maligna.

MECCANISMI MOLECOLARI

Un aumento dell'espressione di Bcl-2, una mutazione di K-ras e/o una disregolazione di p53 sono stati associati con l'inibizione del processo apoptotico (23).

Bcl-2 rappresenta una superfamiglia di proteine anti-apoptotiche. Bcl-2, il prototipo di questa famiglia, è espressa nelle cellule epiteliali che rivestono i dotti ed i piccoli dotti biliari, ma non nelle cellule dei grandi dotti biliari (24). La sua attività anti-apoptotica è esplicata a livello cellulare impedendo il rilascio del citocromo-c dai mitocondri e prevenendo in questo modo l'attivazione della

caspasi-3. E' stato dimostrato come la proteina Bcl-2 sia iper-espressa nelle cellule di CCA, le quali possiedono una soglia di apoptosi significativamente maggiore comparata ai colangiociti normali (25).

Mutazioni puntiformi dell'oncogene K-ras si verificano in una vasta gamma di tumori umani, inclusi i tumori delle vie biliari.

Tali mutazioni sono state individuate nel codone 12 e vedono la sostituzione di glicina (GGT) con acido aspartico (GAT) o, meno frequentemente, con valina (TGT). Inoltre, mutazioni meno frequenti con sostituzione di GGT con GAT sono state individuate al codone 13 e, al codone 61, con sostituzione di CAA con CAC (26). Un aspetto molto interessante è dato dal fatto che l'espressione di k-ras varia in rapporto alla localizzazione della lesione neoplastica nel fegato. Infatti, le mutazioni del gene Ki-ras sono frequenti nel tumore periduttale infiltrante, mentre sono assenti nel tumore formante massa. Questo aspetto suggerisce che tale mutazione gioca un ruolo importante nel CCA che origina in prossimità dell'ilo epatico (26). Ciò farebbe supporre che i processi molecolari alla base dei due istotipi di CCA potrebbero essere differenti (26).

Il gene soppressore tumorale p53 esercita due importanti funzioni: l'induzione dell'arresto del ciclo cellulare e la riduzione dell'espressione della proteina Bcl-2, con conseguenze importanti sul processo apoptotico. Molti studi hanno rilevato un'alta incidenza della mutazione del gene p53 nei CCA intraepatici, variabile dal 20 all'80% (5). E' stato dimostrato come questa anomalia sia più frequente nei tumori formanti massa, suggerendo perciò che la mutazione di p53 sia legata allo sviluppo del CCA intraepatico originante dai piccoli dotti biliari periferici (5, 23, 26).

La senescenza cellulare porta ad un arresto della crescita dovuto ad un accorciamento dei telomeri. Nelle cellule maligne, al contrario, l'aumentata espressione dell'enzima telomerasi (23) permette di mantenere la lunghezza dei cromosomi e quindi l'attività replicativa cellulare. L'espressione della telomerasi umana è stata dimostrata essere omogenea nelle cellule di CCA intraepatico, mentre la sua espressione è eterogenea nelle lesioni displastiche delle vie biliari (27). Questo enzima è assente nei colangiociti normali e in condizione di epatoliti, suggerendo perciò che i colangiociti maligni acquisiscono l'attività telomerasica nello stato di displasia, che porta successivamente alla trasformazione maligna (27). Studi recenti hanno dimostrato che l'aumento dell'attività telomerasica è favorito dall'azione dell'IL-6 (28).

CAPACITA' INVASIVA E METASTATICA

L'alta capacità invasiva e metastatica è un'altra importante caratteristica delle cellule di CCA.

FATTORI BIOLOGICI

L'aggressività delle cellule di CCA è associata al fatto che tali cellule stimolano lo sviluppo di una ricca rete vascolare, la cui funzione è quella di sostenere i bisogni metabolici e di assicurare un adeguato supporto di ossigeno e nutrienti (3). Inoltre, nelle cellule di CCA intraepatico sono richiesti alti livelli di fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF) per mantenere un'adeguata vascolarizzazione tumorale (3, 5). Alcuni studi hanno dimostrato che l'espressione di VEGF è stimolata dal TGF- β , il quale è maggiormente espresso dalle cellule mesenchimali limitrofe e, in misura minore, dalle cellule maligne, suggerendo così un meccanismo autocrino/paracrino in grado di stimolare la produzione di VEGF necessario per la crescita tumorale (29). Il rilascio autocrino di VEGF da parte delle cellule di CCA avviene anche ad opera di fattori che stimolano la crescita cellulare, quali IGF-1 ed estrogeni (15, 16)

MECCANISMI MOLECOLARI

Terada *et al* hanno dimostrato che il CCA esprime una grande quantità di metalloproteinasi di matrice (MMP) ed è stata osservata una correlazione tra alti livelli di MMP ed una maggiore invasività tumorale (30). L'Human aspartyl (asparaginy) b-hydroxylase (HAAH) e le proteine che fanno parte della famiglia del fattore di crescita del tessuto connettivo sono anch'essi altamente espressi nelle cellule di CCA, ed i loro livelli correlano con un'aumentata capacità di motilità cellulare ed invasione neoplastica (31).

COLESTASI CRONICA, INFIAMMAZIONE E CARCINOGENESI BILIARE

Numerose evidenze scientifiche mostrano un legame molto stretto tra CCA e processo infiammatorio cronico a carico dei dotti biliari (3, 32).

FATTORI BIOLOGICI

Altri fattori in grado di regolare la crescita delle cellule di CCA sono gli acidi biliari, i quali si accumulano in corso di colestasi. L'acido desossicolico, in particolare, può stimolare il recettore del fattore di crescita epiteliale (EGFR), il quale a sua volta attiva vie intracellulari specifiche, quali la PI3-kinasi, implicate nei processi di sopravvivenza e proliferazione cellulare (33, 34). Il meccanismo tramite cui questo processo si verifica è stato recentemente definito. Werneburg *et al.* hanno dimostrato che l'attivazione di EGFR ad opera degli acidi biliari è bloccata dall'inibitore del tumor necrosis factor- α (TNF- α) e dall'inibitore della metalloproteinasi (33). L'ipotesi, perciò, è che l'attivazione dell'EGFR indotta dagli acidi biliari dipenda dall'attivazione delle metalloproteinasi, richiesta per il rilascio del TNF- α dalla membrana e che di conseguenza stimola l'EGFR (33). In aggiunta al segnale intracellulare mediato dalla PI3-kinasi, l'attivazione dell'EGFR dipendente dagli acidi biliari permette alle cellule di CCA di eludere il meccanismo di apoptosi anche promuovendo l'espressione di molecole antiapoptotiche (33). L'esposizione delle cellule di CCA all'acido desossicolico aumenta in maniera marcata l'espressione della proteina Mcl-1, e gli inibitori di Raf-1 bloccano questo incremento di Mcl-1 rendendo le cellule molto più sensibili all'apoptosi indotta da Fas (35, 36).

E' stato dimostrato che le citochine rilasciate nel corso di processi infiammatori inducono la produzione di iNOS (ossido nitrico sintetasi inducibile) nei colangiociti (37).

Tale evento provoca la trasformazione maligna di queste cellule, dal momento che l'espressione di ossido nitrico (NO) nei colangiociti contrasta i meccanismi di riparazione del DNA, favorendo così il danno e la mutagenesi della cellula (32, 38). L'NO è anche in grado di rendere immortali i colangiociti per mezzo dell'inibizione del processo apoptotico. Infatti, Torok *et al.* hanno dimostrato che quando le cellule di CCA sono transfettate con il cDNA dell'ossido nitrico sintetasi (NOS), le cellule divengono resistenti all'apoptosi indotta dall'etoposide, un evento che avviene attraverso la nitrosilazione della caspasi-9 (39). Lo sviluppo del CCA indotto dal NO è stato recentemente legato all'iper-attivazione di Notch-1 (40). Il segnale di Notch è importante nello sviluppo dell'albero biliare (41) ed è stato associato al processo di carcinogenesi pancreatico (42). Inoltre, è stato descritto come Notch-1 sia iper-espresso nei colangiociti in corso di CSP e nelle cellule di CCA, ed è co-localizzato insieme a NOS inducibile (iNOS) (42). L'espressione di Notch-1 è dipendente dalla produzione di NO, ed è perciò ridotta dopo transfezione cellulare con costrutti di iNOS antisense. Il ruolo di Notch-1 come promoter della trasformazione maligna dei colangiociti è anche giustificato dalla sua ridotta attività durante il processo apoptotico mediato da TRAIL (40).

Il legame tra infiammazione cronica e insorgenza di CCA è inoltre giustificato dal fatto che la cicloossigenasi-2 (COX-2) sembra rivestire un ruolo significativo nel promuovere la crescita dei colangiociti maligni (43). In un modello murino di adenocarcinoma delle vie biliari indotto dalla iper-espressione di ErbB-2, infatti, è presente una iper-regolazione di COX-2 (44), e nelle cellule di CCA di ratto l'iper-espressione di COX-2 stimola la crescita delle stesse cellule (44). COX-2 inoltre permette alle cellule di CCA di eludere il processo apoptotico (45), tanto che la deplezione di COX-2 inibisce la proliferazione cellulare (46). In questo ambito, l'apoptosi indotta da Fas è sostanzialmente neutralizzata nelle cellule di CCA esprimenti in maniera stabile alti livelli di COX-2 (45). Il ruolo rilevante di COX-2 nel promuovere lo sviluppo del CCA è anche confermato dal fatto che il celecoxib, ossia l'inibitore selettivo di COX-2, induce la morte cellulare per apoptosi inibendo il segnale dipendente dalla PI3-kinasi (46). Il fatto che il celecoxib sia in grado di ridurre la crescita delle cellule di CCA in un modello animale *in vivo*, giustifica il fatto che il COX-2 possa anche divenire un target per nuove strategie terapeutiche (46). Comunque, l'espressione di COX-2 correla con il grado di differenziazione tumorale, essendo maggiore nelle forme ben differenziate (47). L'espressione di COX-2 è moderatamente bassa nei colangiociti ottenuti da fegati affetti da cirrosi biliare primitiva (CBP), mentre i colangiociti ottenuti da fegati affetti da CSP mostrano un'immunoreattività molto intensa (47). In una recente review, A. Sirica ha mostrato che tale discrepanza tra CBP e CSP potrebbe spiegare la maggiore incidenza di CCA nei pazienti affetti da CSP rispetto a quelli con CBP (47). Inoltre, il processo di carcinogenesi dell'epitelio biliare promosso da iNOS-NO avviene attraverso l'azione di COX-2 (40). Sia iNOS che COX-2 sono stati identificati nei colangiociti murini immortalizzati (40), ed è stato visto come l'inibizione di iNOS era seguita da una ridotta espressione dell'mRNA e della proteina di COX-2 (40). Questi dati sono molto suggestivi, in particolare se si considera la presenza di un'alta immunoreattività per iNOS nei dotti biliari di pazienti affetti da CSP.

Sono stati effettuati vari studi al fine di definire i fattori coinvolti nel processo di colestasi e di infiammazione che possono regolare l'espressione di COX-2 nei colangiociti (48). Gli oxisteroli, i metaboliti ossidati del colesterolo, sono prodotti in corso di processi infiammatori (48) e sono in grado di modulare l'espressione genica interagendo con vari recettori intracellulari, compresi i recettori nucleari (48). Il loro possibile ruolo nel processo di carcinogenesi biliare è stato suggerito dall'osservazione che questi composti sono presenti nella bile in corso di colestasi (49). A questo proposito Yoon *et al.* hanno mostrato che quando le cellule di CCA umano sono esposte *in vitro* agli oxisteroli presentano un'aumentata espressione di COX-2 (48).

Questi dati rivestono un significato molto importante, anche in termini di prospettive terapeutiche. Il glutatione ridotto (GSH) rappresenta la principale difesa intracellulare contro lo stress ossidativo in corso di infiammazione (50). La funzione del GSH è quella di mantenere le proteine e altre molecole allo stato ridotto e di partecipare al processo di detossificazione di molti composti (50). Il GSH è sintetizzato dai colangiociti, i quali possono anche assorbire il GSH di origine epatocitaria direttamente dalla bile (23). Alcuni studi hanno dimostrato come i livelli di GSH siano ridotti nella bile in corso di colestasi indotta sperimentalmente e nell'epitelio biliare in corso di malattie biliari croniche (50). Perciò, alterazioni dei livelli di GSH nei colangiociti possono influire sul processo di apoptosi, e anche favorire un danneggiamento del DNA (23).

MECCANISMI MOLECOLARI

C'è un crescente interesse intorno al ligando TRAIL, ossia il "tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand" (36).

Tale fattore induce in maniera selettiva la morte cellulare tramite apoptosi solo nelle cellule maligne senza manifestare alcuna tossicità nei confronti dei tessuti normali (36). Perciò il fattore TRAIL potrebbe rappresentare un'alternativa terapeutica nuova e molto promettente per combattere i tumori delle vie biliari (36). Le cellule di CCA sono resistenti all'apoptosi indotta da TRAIL (36) e Mcl-1 è la molecola che più di altre è coinvolta nel determinare tale resistenza. Quando l'espressione di Mcl-1 è bloccata da specifici small-interfering RNA (siRNA) o da una trasfezione stabile con Mcl-1-small-hairpin-RNA, le cellule di CCA divengono sensibili all'apoptosi indotta da TRAIL (36). Questo aspetto acquista molta importanza poiché quando approcci simili sono utilizzati per neutralizzare altre molecole della superfamiglia antiapoptotica di Bcl-2, le cellule non mostrano alcuna suscettibilità verso TRAIL confermando perciò il ruolo sostanziale di Mcl-1 nel contribuire alla resistenza delle cellule di CCA alla morte cellulare (36).

Gli effetti degli acidi biliari nel regolare lo sviluppo del CCA sono anche più complessi. La fosforilazione di EGFR indotta dagli acidi biliari stimola anche la cascata di MAPK ed induce un'aumentata attivazione di ERK1/2, p38 e JNK (35). L'aumentata attività di ERK1/2 e p38 è poi responsabile dell'aumentata espressione di COX-2 (35). E' perciò evidente che gli acidi biliari promuovono la carcinogenesi dell'epitelio biliare attivando una vasta gamma di eventi intracellulari. La loro abilità di indurre l'aumento dell'espressione di COX-2 può anche suggerire che gli acidi biliari possano esercitare un ruolo importante nella genesi del CCA anche in assenza di patologie infiammatorie predisponenti. Membri differenti della vasta famiglia degli acidi biliari potrebbero indurre effetti diversi nei colangiociti maligni. Infatti, recentemente è stato dimostrato come l'acido taurooursodesossicolico inibisce la crescita delle cellule di CCA umano attraverso meccanismi dipendenti da Ca^{2+} -, PKC- α , e MAPK (51).

ErbB-2 e Met sono proto-oncogeni che giocano un ruolo importante nella capacità di invasione e metastatica di molti tipi di neoplasie (52). Varie linee cellulari di CCA mostrano una marcata iper-espressione di ErbB-2 (47, 53). In particolare, l'espressione di Met è aumentata nelle fasi precoci della genesi del CCA, mentre ErbB-2 sembra svolgere un ruolo importante nello sviluppo e nella progressione di questa neoplasia (53). E' stato dimostrato che entrambi, ErbB-2 e Met, inducono la formazione di COX-2 (54). In aggiunta all'effetto diretto, ErbB-2 stimola la produzione di COX-2 formando un complesso con una subunità del recettore dell'interleuchina-6 (IL-6). Questo aspetto suggerisce un legame molto stretto tra il segnale mediato da IL-6 ed ErbB-2 (3, 55). Questo è ragionevole, in quanto è stato dimostrato che la stessa IL-6 è in grado di aumentare la trascrizione di COX-2 (3, 56). L'incrementata espressione di ErbB-2 nei colangiociti maligni induce l'attivazione di una serie di eventi intracellulari che mantengono la crescita e la sopravvivenza cellulare. Questo è anche confermato da uno studio recente che ha dimostrato che quando i colangiociti normali di ratto posti in coltura sono trasfettati con l'oncogene neu (omologo di ErbB-2 umano), sono sottoposti ad una trasformazione maligna che riproduce fortemente le caratteristiche molecolari del CCA umano (57).

FATTORI GENETICI

Il meccanismo di colangiocarcinogenesi passa attraverso "errori" che si verificano in alcuni geni che, accumulandosi, portano alla crescita incontrollata delle cellule tumorali. Questi "errori" possono essere secondari a modificazioni geniche a seguito di semplici mutazioni, le quali portano ad

una perdita o ad un acquisto di funzione da parte di geni chiave nei processi di controllo dell'apoptosi e della progressione del ciclo cellulare, oppure in alterazioni epigenetiche che coinvolgono le regioni promotori di geni chiave alterandone la specifica espressione (58).

Infiammazione e colestasi creano un ambiente che favorisce un danneggiamento del DNA attraverso alterazioni nel meccanismo di controllo e riparazione del DNA stesso, o attraverso modificazioni di espressione di geni chiave. Basandosi su questi presupposti alcune colangiopatie croniche, tra cui la CSP, favoriscono lo sviluppo del CCA.

Mutazioni puntiformi di K-Ras e p-53 sono state riscontrate in un sottogruppo di CCA (frequenze fino al 54% e all' 80% dei casi rispettivamente).

Alla famiglia Ras appartengono proteine coinvolte nella trasduzione del segnale, la cui alterazione porta a difetti nel controllo del ciclo cellulare e della differenziazione cellulare. Un accumulo della proteina p53, dovuta a mutazione del gene che la codifica, è presente tuttavia in molte altre neoplasie (59) (vedi paragrafo "Disregolazione del processo apoptotico dell'epitelio biliare"). Fra gli altri numerosi geni che possono risultare alterati, uno dei più frequenti è il proto-oncogene c-erbB-2, membro della famiglia degli "epidermal growth factor receptors", che risulta attivato in molti CCA e la cui presenza sembra essere correlata ad una maggiore invasività di tale neoplasia (60) (vedi paragrafo "Colestasi cronica, infiammazione e carcinogenesi biliare").

La trasformazione neoplastica dell'epitelio biliare non è dovuta solo ad alterazioni nella struttura di geni chiave ma è accompagnata anche da alterazioni epigenetiche (ipermetilazione, alterazioni degli istoni). La metilazione dei residui di citosina del promotore di un gene oncosoppressore porta alla non-trascrizione di quel gene. Questo meccanismo è risultato essere presente a livello del CCA a carico dei promotori di geni quali:

- cyclin-dependent kinase inhibitor2A (p16INK4A), gene oncosoppressore presente sul cromosoma 9 il cui promotore risulta metilato con frequenza variabile dal 17% all'83% a seconda degli studi. L'inattivazione del gene conseguente alla metilazione provoca un incontrollato accesso alla fase S del ciclo cellulare. Questa alterazione sembra associata con CCA a maggiore invasività vascolare e quindi prognosi peggiore.
- Ras effector homologue gene (RASSF1A), gene situato sul cromosoma 3 con attività oncosoppressiva, implicato nella patogenesi di molte neoplasie e riscontrato soprattutto nei CCA extraepatici, con frequenza di ipermetilazione fino all'80%.
- Human mutL homologue 1 (hMLH1), anch'esso presente sul cromosoma 3, gene implicato nei meccanismi di riparazione del DNA durante la proliferazione, il cui promotore risulta ipermetilato con una frequenza che arriva al 45% dei casi.

Molti altri geni (Tabella 4.1) sono stati analizzati e risultano metilati in alcuni casi di CCA.

Poco si conosce ancora, invece, sulle alterazioni epigenetiche a carico degli istoni, meccanismo attivo e ben noto nella genesi di altri tipi di neoplasie.

Studi di genetica condotti in pazienti affetti da CCA indicano che alterazioni di geni deputati al controllo del metabolismo e al trasporto di xenobiotici o di geni che regolano il processo infiammatorio possono determinare una suscettibilità individuale all'insorgenza di tale neoplasia. Tra questi, la famiglia di geni coinvolti nel metabolismo dei carcinogeni riveste un ruolo fondamentale. La maggior parte dei carcinogeni sono sottoposti ad attivazione da parte di enzimi di fase I attraverso una reazione ossidativa. Una reazione successiva di detossificazione con l'introduzione di un gruppo idrofilico (ad esempio glutatione o gruppi acetili) nei composti carcinogenetici si verifica ad opera di enzimi di fase II. La superfamiglia del citocromo P450 (CYP) costituisce la maggioranza degli enzimi di fase I, mentre il glutatione S-transferasi (GSTs) e l'N-acetyl-transferasi (NATs) sono i componenti principali della famiglia di enzimi di fase II.

Anche se ancora non è completamente chiaro il meccanismo, sembra che alcuni polimorfismi di questi geni abbiano un ruolo importante nella colangiocarcinogenesi in sottogruppi di popolazioni esposti a particolari carcinogeni ambientali.

Un'altra famiglia di geni che sembra coinvolta nell'insorgenza del CCA è quella dei geni che regolano il metabolismo dei folati, essenziali per la sintesi del DNA.

Tra questi, gli enzimi 5,10-metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR) e timidilato sintetasi.

Varianti genotipiche porterebbero ad una riduzione di attività dell'MTHFR con conseguente danno del DNA cellulare ed aumentata incidenza di CCA (61).

Infine, anche i geni associati al meccanismo di citotossicità sono correlati allo sviluppo di CCA. Le cellule natural killer (NK) sono componenti dell'immunità innata che giocano un ruolo chiave nel meccanismo di sorveglianza dei tumori nell'uomo. Recentemente è stata dimostrata un'associazione tra polimorfismo del recettore G2D delle cellule NK e rischio di insorgenza di CCA nei pazienti affetti da CSP (62).

CELLULE STAMINALI E CCA

La patogenesi del CCA risiede nell'accumulo di alterazioni genetiche ed epigenetiche coinvolgenti i colangiociti che, a seguito dell'infiammazione cronica, si trovano in una condizione di proliferazione reattiva. Tuttavia, così come per l'HCC anche per il CCA cominciano ad emergere evidenze sulla possibile origine di questa neoplasia dalle cellule staminali residenti attivate in corso di infiammazione cronica. Nomoto K. et al. (63) hanno dimostrato un'abberrante espressione di p63 e c-kit, markers di staminalità, in CCA insorgenti su fegato cirrotico suggerendo l'origine del CCA da cellule progenitrici (HPC) localizzate nei canali di Hering/duttuli biliari, dove le HPC rappresentano la componente cellulare predominante di un compartimento costantemente attivato e proliferante in corso di danno epatico cronico. Diverso è il discorso per l'HCC-CCA, una rara neoplasia maligna primitiva del fegato le cui cellule coesprimono caratteristiche fenotipiche e genotipiche comuni a cellule di HCC e CCA. Diversi studi hanno infatti dimostrato l'espressione dei markers tipici di HPC (CK7, CK19, OV6, OV1, CD34, C-kit, flt-3, Thy-1) in oltre il 90% di epato-CCA analizzati a suggerire l'origine di questa neoplasia dalla trasformazione neoplastica delle HPC (64-66).

PROSPETTIVE FUTURE

Le conoscenze relative alla fisiopatologia del CCA vanno progressivamente aumentando. Gli obiettivi di ricerca del prossimo futuro dovrebbero quindi concentrarsi su come trasformare tali conoscenze in vantaggio diretto per il paziente. Da questo punto di vista si possono intravedere possibili sviluppi riguardanti la prevenzione, la diagnosi precoce e la terapia.

Le strategie per una migliore identificazione di soggetti a rischio potrebbero certamente beneficiare delle nuove conoscenze fisiopatologiche. Ne sono un esempio i dati recenti riguardo alla capacità discriminante di diagnosticare lesioni ostruttive maligne delle vie biliari da parte del dosaggio dell'IGF-1 nella bile (67).

Un altro aspetto importante è quello di identificare profili genetici di pazienti a rischio di insorgenza di CCA. È stato recentemente dimostrato che il controllo della proliferazione delle cellule dell'epitelio biliare dipende dal rilascio locale di peptidi oppioidi endogeni (68). Tali meccanismi però sono completamente sovvertiti nel CCA, dove si osserva una perdita di funzionalità dei recettori a carattere inibitorio mentre quelli stimolatori sono iper-attivati (69). Queste osservazioni lasciano ipotizzare che un'alterazione su base genetica di tali meccanismi di controllo potrebbe identificare



un profilo di rischio aumentato per insorgenza di neoplasie biliari. Le conoscenze fisiopatologiche potrebbero aprire spazi anche per nuovi approcci terapeutici. È stato proposto infatti l'impiego sia di inibitori di COX-2 sia di molecole antiangiogeniche per limitare la progressione del CCA (58). Alcuni studi hanno generato dati importanti e promettenti ma sono necessari trials clinici da effettuarsi sull'uomo per validare questi risultati.

BIBLIOGRAFIA

1. Shaib YH, et al. Rising incidence of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a true increase? *J Hepatol* 2004;40:472-477.
2. Shaib Y, et al. The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004;24:115-125.
3. Lazaridis KN, et al. Cholangiocarcinoma. *Gastroenterology*. 2005;128:1655-1667.
4. Fava G, et al. Molecular pathology of biliary tract cancers. *Cancer Lett* 2007;250:155-167.
5. Berthiaume EP, et al. The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis*. 2004;24:127-137.
6. Grappone C, et al. Expression of platelet-derived growth factor in newly formed cholangiocytes during experimental biliary fibrosis in rats. *J Hepatol*. 1999;31:100-109.
7. Yamagiwa Y, et al. Cytokine Regulation of Cholangiocyte Growth. In: Alpini G, Alvaro D, Marzioni M, LeSage G, LaRusso NF, eds. *The Pathophysiology of Biliary Epithelia*. Georgetown, TX: Landes Bioscience, 2004; 227-234.
8. Okada K, et al. Interleukin-6 functions as an autocrine growth factor in a cholangiocarcinoma cell line. *J Gastroenterol Hepatol*. 1994;9:462-467.
9. Yazumi S, et al. Disrupted transforming growth factor-beta signaling and deregulated growth in human biliary tract cancer cells. *Int J Cancer*. 2000;86:782-789.
10. Saperstein LA, et al. Transforming growth factor-beta 1 and mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor-II receptor expression during intrahepatic bile duct hyperplasia and biliary fibrosis in the rat. *Hepatology* 1994;19:412-417.
11. Chen Y, et al. Critical role of type IV collagens in the growth of bile duct carcinoma. *In vivo and in vitro* studies. *Pathol Res Pract* 2001;197:585-596.
12. Socoteanu MP, et al. c-Met targeted therapy of cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008;14:2990-2994.
13. Lai GH, et al. Unique epithelial cell production of hepatocyte growth factor/scatter factor by putative precancerous intestinal metaplasias and associated "intestinal-type" biliary cancer chemically induced in rat liver. *Hepatology*. 2000;31:1257-1265.
14. Alvaro D, et al. Proliferating cholangiocytes: a neuroendocrine compartment in the diseased liver. *Gastroenterology* 2007;132:415-431.
15. Alvaro, et al. Estrogens and insulin-like growth factor 1 modulate neoplastic cell growth in human cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 2006;169:877-888.
16. Mancino A, et al. Estrogens stimulate the proliferation of human cholangiocarcinoma by inducing the expression and secretion of vascular endothelial growth factor. *Dig Liver Dis* 2008.
17. Fava G, et al. Leptin enhances cholangiocarcinoma cell growth. *Cancer Res* 2008;68:6752-6761.
18. Park J, et al. Inhibition of interleukin 6-mediated mitogen-activated protein kinase activation attenuates growth of a cholangiocarcinoma cell line. *Hepatology* 1999;30:1128-1133.
19. Tadlock L, et al. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase signaling in transformed growth of a cholangiocarcinoma cell line. *Hepatology*. 2001;33:43-51.
20. Yoon JH, et al. Bile acids inhibit Mcl-1 protein turnover via an epidermal growth factor receptor/Raf-1-dependent mechanism. *Cancer Res*. 2002;62:6500-6505.
21. Isomoto H, et al. Interleukin 6 upregulates myeloid cell leukemia-1 expression through a STAT3 pathway in cholangiocarcinoma cells. *Hepatology*. 2005;42:1329-1338.
22. Torok NJ, et al. Apoptosis of Biliary Epithelial Cells. In: Alpini G, Alvaro D, Marzioni M, LeSage G, LaRusso NF, eds. *The Pathophysiology of Biliary Epithelia*. Georgetown, TX: Landes Bioscience, 2004; 219-226.
23. Okuda K, et al. Cholangiocarcinoma: recent progress. Part 2: molecular pathology and treatment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17:1056-1063.
24. Skopelitou A, et al. Topographical immunohistochemical expression of bcl-2 protein in human liver lesions. *Anticancer Res*. 1996;16:975-978.

25. Harnois DM, et al. Bcl-2 is overexpressed and alters the threshold for apoptosis in a cholangiocarcinoma cell line. *Hepatology*. 1997;26:884-890.
26. Ohashi K, et al. Ki-ras mutations and p53 protein expressions in intrahepatic cholangiocarcinomas: relation to gross tumor morphology. *Gastroenterology*. 1995;109:1612-1617.
27. Ozaki S, et al. In situ nucleic acid detection of human telomerase in intrahepatic cholangiocarcinoma and its pre-neoplastic lesion. *Hepatology*. 1999;30:914-919.
28. Yamagiwa Y, et al. Interleukin-6 decreases senescence and increases telomerase activity in malignant human cholangiocytes. *Life Sci*. 2006;78:2494-2502.
29. Benckert C, et al. Transforming growth factor beta 1 stimulates vascular endothelial growth factor gene transcription in human cholangiocellular carcinoma cells. *Cancer Res*. 2003;63:1083-1092.
30. Terada T, et al. Expression of immunoreactive matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in human normal livers and primary liver tumors. *Hepatology*. 1996;23:1341-1344.
31. Maeda T, et al. Antisense oligodeoxynucleotides directed against aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase suppress migration of cholangiocarcinoma cells. *J Hepatol*. 2003;38:615-622.
32. Jaiswal M, et al. Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism. *Cancer Res* 2000;60:184-190.
33. Werneburg NW, et al. Bile acids activate EGF receptor via a TGF-alpha-dependent mechanism in human cholangiocyte cell lines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2003;285:G31-36. Epub 2003 Feb 2026.
34. Lipson KE, et al. Inhibition of platelet-derived growth factor and epidermal growth factor receptor signaling events after treatment of cells with specific synthetic inhibitors of tyrosine kinase phosphorylation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;285:844-852.
35. Yoon JH, et al. Bile acids induce cyclooxygenase-2 expression via the epidermal growth factor receptor in a human cholangiocarcinoma cell line. *Gastroenterology*. 2002;122:985-993.
36. Taniai M, et al. Mcl-1 mediates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance in human cholangiocarcinoma cells. *Cancer Res*. 2004;64:3517-3524.
37. Spirli C, et al. Cytokine-stimulated nitric oxide production inhibits adenylyl cyclase and cAMP-dependent secretion in cholangiocytes. *Gastroenterology* 2003;124:737-753.
38. Jaiswal M, et al. Nitric oxide in gastrointestinal epithelial cell carcinogenesis: linking inflammation to oncogenesis. *Am J Physiol* 2001;281:G626-634.
39. Torok NJ, et al. Nitric oxide inhibits apoptosis downstream of cytochrome C release by nitrosylating caspase 9. *Cancer Res* 2002;62:1648-1653.
40. Ishimura N, et al. Inducible nitric oxide synthase upregulates cyclooxygenase-2 in mouse cholangiocytes promoting cell growth. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;287:G88-95.
41. Louis AA, et al. Hepatic jagged1 expression studies. *Hepatology*. 1999;30:1269-1275.
42. Miyamoto Y, et al. Notch mediates TGF alpha-induced changes in epithelial differentiation during pancreatic tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2003;3:565-576.
43. Brown JR, et al. COX-2: a molecular target for colorectal cancer prevention. *J Clin Oncol*. 2005;23:2840-2855.
44. Kiguchi K, et al. Constitutive expression of ErbB-2 in gallbladder epithelium results in development of adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2001;61:6971-6976.
45. Nzeako UC, et al. COX-2 inhibits Fas-mediated apoptosis in cholangiocarcinoma cells. *Hepatology* 2002;35:552-559.
46. Zhang Z, et al. Celecoxib-induced apoptosis in rat cholangiocarcinoma cells mediated by Akt inactivation and Bax translocation. *Hepatology* 2004;39:1028-1037.
47. Endo K, et al. ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions. *Hepatology*. 2002;36:439-450.
48. Yoon JH, et al. Oxysterols induce cyclooxygenase-2 expression in cholangiocytes: implications for biliary tract carcinogenesis. *Hepatology*. 2004;39:732-738.
49. Haigh WG, et al. Identification of oxysterols in human bile and pigment gallstones. *Gastroenterology*. 2001;121:118-123.
50. Celli A, et al. Glutathione depletion is associated with decreased Bcl-2 expression and increased apoptosis in cholangiocytes. *Am J Physiol*. 1998;275:G749-757.
51. Alpini G, et al. Tauroursodeoxycholate inhibits human cholangiocarcinoma growth via Ca²⁺-, PKC-, and MAPK-dependent pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;286:G973-982.



52. Aishima SI, et al. c-erbB-2 and c-Met expression relates to cholangiocarcinogenesis and progression of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Histopathology*. 2002;40:269-278.
53. Sirica AE, et al. Cyclooxygenase-2 and ERBB-2 in cholangiocarcinoma: potential therapeutic targets. *Semin Liver Dis* 2002;22:303-313.
54. Sirica AE. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy. *Hepatology* 2005;41:5-15.
55. Qiu Y, et al. Requirement of ErbB2 for signalling by interleukin-6 in prostate carcinoma cells. *Nature*. 1998;393:83-85.
56. Park YG, et al. Effects of TGF-beta, TNF-alpha, IL-beta and IL-6 alone or in combination, and tyrosine kinase inhibitor on cyclooxygenase expression, prostaglandin E2 production and bone resorption in mouse calvarial bone cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36:2270-2280.
57. Lai GH, et al. erbB-2/neu transformed rat cholangiocytes recapitulate key cellular and molecular features of human bile duct cancer. *Gastroenterology*. 2005;129:2047-2057.
58. Blechacz B, et al. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 2008;48:308-321.
59. Boberg KM, et al. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: K-ras mutations and Tp53 dysfunction are implicated in the neoplastic development. *J Hepatol* 2000;32:374-380.
60. Zheng J, et al. Expression of c-erbB-2 proto-oncogene in extrahepatic cholangiocarcinoma and its clinical significance. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007;6:412-415.
61. Ko KH, et al. Polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T) and thymidylate synthase enhancer region (TSER) as a risk factor of cholangiocarcinoma in a Korean population. *Anticancer Res* 2006;26:4229-4233.
62. Melum E, et al. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis is associated with NKG2D polymorphisms. *Hepatology* 2008;47:90-96.
63. Nomoto K, Tsuneyama K, Cheng C, Takahashi H, Hori R, Murai Y et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma arising in cirrhotic liver frequently expressed p63-positive basal/stem-cell phenotype. *Pathol Res Pract* 2006; 202: 71–76.
64. Roskams T. Liver stem cells and their implication in hepatocellular and cholangiocarcinoma. *Oncogene* (2006) 25, 3818–3822
65. Zhang F. et al. Combined hepatocellular cholangiocarcinoma originating from hepatic progenitor cells: immunohistochemical and double-fluorescence immunostaining evidence. . *Histopathology*. 2008 Jan;52(2):224-32.
66. Kim H, et al. Primary liver carcinoma of intermediate (hepatocyte-cholangiocyte) phenotype. *J Hepatol*. 2004 Feb;40(2):298-304.
67. Alvaro D, et al. Serum and biliary insulin-like growth factor I and vascular endothelial growth factor in determining the cause of obstructive cholestasis. *Ann Intern Med* 2007;147:451-459.
68. Marzioni M, et al. Endogenous opioids modulate the growth of the biliary tree in the course of cholestasis. *Gastroenterology* 2006;130:1831-1847.
69. Marzioni M, et al. Human cholangiocarcinoma development is associated with dysregulation of opioidergic modulation of cholangiocyte growth. *Dig Liver Dis* 2009; In press

Tabella.4.1
GENI METILATI IN ALCUNI CASI DI COLANGIOCARCINOMA

| GENE | FUNZIONE |
|--------------|-----------------------------|
| p 16 INK4a | Regolazione ciclo cellulare |
| P 14 ARF | Regolazione ciclo cellulare |
| P 15 INK4b | Regolazione ciclo cellulare |
| 14-3-3 sigma | Regolazione ciclo cellulare |
| Semaphorin3B | Oncosoppressore |
| p 73 | Oncosoppressore |
| RassF1A | Oncosoppressore |
| hMLH1 | Riparazione errori DNA |
| MGMT | Metiltransferasi |
| GSTP1 | Inattivatore carcinogeni |
| SOCS-3 | Inibizione infiammazione |
| EGFR | Fattore di crescita |
| E-caderina | Adesione cellulare |



CAPITOLO 5

FATTORI DI RISCHIO E FATTORI ASSOCIATI

La letteratura comprende studi osservazionali, studi caso-controllo o di confronto con i dati di incidenza su popolazione generale. Inoltre, si tratta quasi sempre di campioni poco numerosi in singoli centri. Premessi i limiti suddetti, questi studi hanno identificato una serie di fattori di rischio (Tabella 5.1) anche se, nel singolo paziente, al momento della diagnosi, questi fattori sono identificabili solo in una minore percentuale di casi. Evidenze scientifiche solide dimostrano come fattori di rischio accertati la CSP, Epatoliti, *Opisthorchis viverrini*, malformazioni biliari e Thorotrast mentre le evidenze non sono ancora solide per HCV, HBV, Cirrosi, drenaggi bilio-enterici chirurgici, tossine ambientali (diossina e derivati, cloruro di polivinile), giunzione bilio-pancreatica anomala, calcoli colecistica, diabete ed obesità. Tutti i fattori di rischio finora identificati comportano una condizione di infiammazione delle vie biliari e/o colestasi. Riguardo al sesso, vi è solo una lieve predominanza nel sesso maschile.

ETA'

In occidente, il CCA colpisce quasi esclusivamente soggetti di età superiore a 65 anni (livello di prova I). Questo non vale per il CCA incidente su CSP dove la fascia d'età colpita è 30-50 anni (livello di prova I).

COLANGITE SCLEROSANTE PRIMITIVA

Sebbene non associata alla maggioranza dei casi di CCA, la CSP costituisce il principale fattore di rischio per il CCA nelle popolazioni occidentali, come definito da studi multicentrici o di coorte mirati a valutare la storia naturale della CSP (livello di prova I). Questi studi hanno evidenziato un'incidenza cumulativa variabile dal 6 al 23%. In casistiche autoptiche o nei fegati trapiantati con CSP la prevalenza di CCA è del 30-42%. Circa il 50% dei casi di CCA sono diagnosticati contemporaneamente alla diagnosi di CSP o entro un anno dalla diagnosi, con un'incidenza al follow-up, dopo un anno dalla diagnosi di CSP di 0.5/1.5%/anno. Lo studio che comprende la casistica più numerosa è uno studio multicentrico europeo (5 centri partecipanti) che ha riguardato 394 pazienti con CSP ed un follow-up di diciotto anni (mediana). Su 48 casi di CCA registrati, la metà sono stati diagnosticati entro dodici mesi dalla diagnosi di CSP e 13 casi in pazienti indirizzati al trapianto di fegato (1). Non c'è stata correlazione con la durata della CSP perché la maggioranza dei CCA sono stati diagnosticati entro i primi due anni dall'iniziale diagnosi di CSP. La RCU associata a CSP comportava un rischio aggiuntivo correlato alla durata della malattia. In uno studio di coorte condotto alla Mayo Clinic (2), 161 pazienti con CSP sono stati seguiti con un lungo follow-up (mediana di 11.5 anni). 11 pazienti svilupparono CCA (6.8%) con un rate annuale pari a 0.6%. Confrontato con l'incidenza nella popolazione generale il rischio relativo di CCA in CSP è stato di 1,560 ($p < 0.0001$). Al contrario dello studio multicentrico europeo, nessuna associazione è stata trovata con la coesistenza di RCU né con la sua durata. In uno studio svedese condotto su una coorte di 58 pazienti con CSP, il 17% ha sviluppato CCA in un tempo medio di otto anni dalla diagnosi di CSP, con un range variabile da uno a venticinque anni (3). Il trattamento della CSP con UDCA è stato associato alla riduzione del rischio in alcuni studi (4, 5) ma non in altri (6,7). Un recente studio olandese (8) ha investigato 211 pazienti con CSP reclutati dal 1980 al 2006. Il rischio di CCA dopo dieci o venti anni è risultato pari al 9% e la coesistenza di IBD non modificava il rischio. Al contrario, la IBD

comportava un rischio di sviluppo di carcinoma colo-rettale del 14% a dieci anni e del 31% a venti anni ($p=0,008$ vs rischio in assenza di IBD pari al 2%).

Tutti gli studi concordano sul fatto che il sesso maschile, l'età avanzata, la cirrosi, storia di displasia o carcinoma del colon-retto, consumo di alcool a dosi elevate (> 80 g/die) ed il fumo di sigaretta aumentano il rischio di CCA nei soggetti con CSP (livello di prova V).

CLONORCHIS SINENSIS E OPISTORCHIS VIVERRINI

L'infestazione epatica da *Opisthorchis viverrini* è un fattore di rischio accertato mentre l'evidenza è ancora dubbia per *Clonorchis sinensis*. Riguardo a *Opisthorchis viverrini*, l'evidenza è basata su casistiche ospedaliere, studi su popolazione che hanno correlato in varie aree geografiche, l'incidenza del CCA con la prevalenza del parassita e, su pochi studi caso-controllo (livello di prova I). Tutti gli studi concordano sull'aumento di incidenza di CCA nei pazienti infettati da *Opisthorchis viverrini* sia nei confronti della popolazione generale che dei controlli non infettati. In Thailandia, è stato dimostrato come l'infestazione epatica da *Opisthorchis viverrini* aumenta di ben 5 volte il rischio di CCA (maschi $>$ donne) e che 2/3 dei casi diagnosticati erano in pazienti infettati dal parassita (9, 10). Non c'è nessuna evidenza che l'eradicazione del parassita possa essere di beneficio nel decorso della neoplasia. Riguardo a *Clonorchis sinensis*, i primi studi originano da Hong Kong dove attualmente questa parassitosi è rara. Al contrario *Clonorchis sinensis* è ancora un grosso problema in Corea, dove in uno studio caso-controllo, la positività del parassita nelle feci comporta un rischio relativo di 2.7 rispetto ai controlli (11). I pochi studi su *Clonorchis sinensis* riguardano la stessa area geografica e, pertanto, l'evidenza che questo parassita possa considerarsi un fattore di rischio definitivo dovrebbe essere confermata da studi in altre aree geografiche.

MALATTIE DELLE VIE BILIARI

I dati derivano da studi osservazionali o su piccole coorti che riguardano pazienti con cisti del coledoco, adenoma dei dotti biliari, papillomatosi, amartomatosi (complesso di von Meyenburg), malattia di Caroli e fibrosi epatica congenita. In piccole coorti l'incidenza di CCA in individui con cisti coledociche (tutti i tipi della classificazione di Todani), ammontava al 14-15% e il rischio di CCA aumentava con l'età di presentazione iniziale (12-15) (livello di prova III). Lo studio con casistica più numerosa riguarda 42 pazienti con cisti coledociche seguiti con lungo follow-up (mediana 15 anni) con 3 casi di CCA diagnosticati (9.7%) (16). I pazienti con malattia di Caroli presentano un rischio globale del 10-15% (12-14) (livello di prova III). Un altro fattore di rischio identificato nei paesi orientali è l'epatolitosi i cui pazienti affetti presentano un'incidenza di CCA pari al 10% (17) (livello di prova III). Riguardo alla calcolosi biliare colecistica vi sono tre studi recenti che dimostrano l'associazione con lo sviluppo di CCA (livello di prova III). Il primo è uno studio multicentrico europeo caso-controllo (18) (153 pazienti e 1421 controlli) che ha dimostrato un'associazione significativa tra CCA, calcolosi colecistica (odds ratio = 2.49) e BMI $>$ 30 (odds ratio = 4.68) con un lieve aumento di rischio per consumo di alcool di 40-80 grammi/die. In uno studio condotto in Giappone su 101,868 soggetti con un lungo follow-up (1,200,386 persona-anno), sono stati diagnosticati 235 nuovi casi di tumore delle vie biliari (93 colecisti e 142 extra-epatici). Un aumentato rischio di CCA è stato associato alla calcolosi colecistica (Odds ratio = 2.12) ed al BMI $>$ 30. Uno studio su popolazione condotto a Shanghai ha investigato 627 pazienti con tumore delle vie biliari (368 colecisti, 191 extra-epatico e 68 ampollare), 1037 con calcolosi colecistica e 959 controlli sani.

I soggetti con calcoli (principalmente pigmentari) presentavano tumore delle vie biliari extraepatiche con un Odds Ratio di 8 rispetto ai soggetti senza calcoli e l'Odds ratio è stato di 4 per i tumori ampollari (19). In sostanza, la calcolosi colecistica si può considerare con buona evidenza un fattore associato al CCA extraepatico sebbene 2 studi riguardano casistiche orientali dove è alta la prevalenza di calcolosi pigmentaria per cui è difficile stabilire se il rischio è determinato dalla calcolosi o dalle alterazioni biochimiche della bile favorevoli allo sviluppo dei calcoli pigmentari.

THOROTRAST E DERIVATI DELLA DIOSSINA

Sin dal 1970 sono stati riportati casi di CCA in soggetti esposti al Thorotrast, un radiocontrasto usato tra gli anni 50 e 60 (livello di prova IV). Da allora sono stati descritti centinaia di casi (20). Riguardo alle tossine ambientali (diossina e derivati, cloruro di polivinile) esistono evidenze sperimentali basate sulla possibilità di indurre in animali da laboratorio lo sviluppo di CCA ed esistono dati epidemiologici che dimostrano che nelle aree la cui popolazione vive vicino ad inceneritori, che rilasciano nell'ambiente queste sostanze, esiste un'augmentata incidenza di CCA (21).

HCV, HBV, ALCOOL, OBESITÀ E CIRROSI

Nella maggior parte dei casi si tratta di studi caso/controllo o di confronto con i dati di incidenza sulla popolazione generale che hanno investigato le condizioni associate al CCA. Uno studio prospettico giapponese che ha riguardato 600 pazienti HCV-Ab positivi (22) con un follow-up medio di 7.2 anni ha mostrato un'incidenza di CCA pari al 2.3%. In uno studio danese condotto su 11.605 pazienti cirrotici di varia eziologia identificati dai registri nazionali e confrontati con i dati di incidenza su popolazione si è dimostrato che i pazienti con HCV o HBV (follow-up mediano 6 anni) avevano un rischio di incidenza di CCA 10 volte superiore alla popolazione generale (23). È ovvio che trattandosi di pazienti cirrotici, i fattori confondenti sono numerosi ed è impossibile discernere il rischio derivante da HCV o HBV rispetto a quello di avere la cirrosi epatica. In uno studio caso-controllo che ha riguardato 535 CCA intraepatici, 549 extra-epatici e 102,782 controlli sani identificati dal database del Surveillance, Epidemiology and End Results-Medicare, oltre ai fattori già conosciuti, anche cirrosi biliare, cirrosi virale, colelitiasi, tireotossicosi e pancreatite cronica sono risultati significativamente associati al CCA (24). Condizioni associate esclusivamente al CCA intraepatico sono risultate l'obesità, malattia epatica cronica su base alcolica, HCV-Ab positività ed il fumo di sigaretta (24). L'associazione con obesità e fumo di sigaretta è stata recentemente confermata in uno studio britannico condotto utilizzando i dati del General Practice Research Database (372 CCA, 55 tumori vie biliari non specificati, 5760 controlli). In questo studio, l'obesità o il fumo aumentavano di 1,5 volte il rischio di CCA (25). In uno studio caso-controllo condotto in Cina, (26) solamente la positività per HbsAg e l'epatolitiiasi, ma non la positività per HCV-Ab, sono risultati statisticamente associati (analisi multivariata) al CCA. In uno studio caso-controllo italiano (27) condotto su 370 pazienti con tumore primitivo del fegato sono stati identificati 26 (7%) CCA intraepatici confrontati con 1824 controlli sani "matched" per età, sesso e sede di ospedalizzazione. Solo la positività per HCV-Ab e la epatolitiiasi sono risultati significativamente associati al CCA intraepatico. Infine, in uno studio condotto al MD Anderson Cancer Center tra 1992 ed il 2002 gli autori hanno identificato 246 casi (83 CCA intraepatici e 163 extra-epatici) confrontati con 236 controlli. I risultati hanno dimostrato che la cirrosi epatica e l'infezione cronica da HCV sono significativamente associati al CCA intra-epatico ma non all'extra-epatico mentre il consumo di notevoli dosi di alcol (> 80 g/die) è associato ad entrambe le forme di CCA (28).

In sostanza la letteratura disponibile pone cirrosi epatica, HCV, HBV, fumo, ed alte dosi di alcool come probabili (ma non definitivi) fattori associati soprattutto per il CCA intraepatico (livello di prova III). Attualmente esistono solo osservazioni suggerenti obesità ed insulino-resistenza come potenziali fattori di rischio ma l'evidenza è ancora da dimostrare.

GIUNZIONE BILIO-PANCREATICA ANOMALA

Normalmente, coledoco e dotto pancreatico convergono nella parete duodenale in un tratto comune di circa 4 mm. Una giunzione bilio-pancreatica di lunghezza di 8-15 mm è stata dimostrata nell' 1.5-3% di casistiche autoptiche. E' disponibile un solo studio (29) che ha valutato in che percentuale di pazienti con CCA è presente un'anomala giunzione bilio-pancreatica. 37 casi consecutivi di CCA, 21 di cancro colecistico e 220 controlli sono stati esaminati. Un'anomala giunzione bilio-pancreatica è stata trovata (lunghezza ≥ 8 mm) in 44.8% pazienti con CCA in confronto al 6.2% dei controlli ($p < 0.01$) (livello di prova III).

PAZIENTI CON DRENAGGIO BILIO-ENTERICO CHIRURGICO PER PATOLOGIE BENIGNE DELLE VIE BILIARI

Lo studio più importante è stato condotto in Italia (30) (livello di prova V). 1003 pazienti consecutivi sottoposti a sfinteroplastica transduodenale, coledocoduodenostomia ed epaticodigiunostomia per patologie benigne (calcoli, stenosi ecc.) sono stati seguiti per 129.6 mesi (follow-up medio). Sono stati riscontrati 55 (5.5%) casi di CCA insorto da 132 a 218 mesi dopo l'intervento. L'incidenza di CCA è risultata di 5.8% per sfinteroplastica transduodenale, 7.6% in coledocoduodenostomia e 1.9% in epaticodigiunostomia. 40/55 pazienti con CCA avevano presentato durante il follow-up colangiti ricorrenti che sono risultati l'unico fattore significativamente associato allo sviluppo di CCA (analisi multivariata). Un secondo studio giapponese (livello di prova V) ha riguardato 108 pazienti consecutivi sottoposti a sfinteroplastica transduodenale per patologie benigne. 8 casi (7.4%) di CCA sono stati diagnosticati durante il follow-up con un intervallo variabile da uno a venti anni dopo l'intervento. Nei casi di CCA, la bile era infetta da vari microorganismi in 7/8 casi ed in tutti i casi la biopsia epatica dimostrò una condizione di colangite cronica (31), apparendo pertanto importante nello sviluppo di CCA la componente infettiva.

Per quanto riguarda la SE, alcuni studi hanno escluso un'aumentata incidenza di CCA (32, 33). In particolare, i pazienti sottoposti a CPRE per patologie benigne delle vie biliari hanno una aumentata incidenza di tumori maligni del fegato, del pancreas e delle vie biliari ma l'esecuzione della sfinterotomia non modificherebbe il rischio di CCA (33). Al contrario, uno studio recente condotto su dati ottenuti dai registri danesi (34) dimostrerebbe un significativo aumento di rischio. Nello studio (34) sono stati valutati 10.690 pazienti sottoposti a CPRE + SE (dal 1997 al 2003) confrontati con pazienti sottoposti a CPRE ma senza sfinterotomia. Nel gruppo sottoposto a sfinterotomia, dopo aggiustamenti per età sesso e fattori di rischio, l'incidenza di CCA era significativamente aumentata nei due-quattro anni successivi all'intervento. Tuttavia, l'aumento di incidenza tendeva a diminuire con il tempo tanto che dal quinto anno in poi non vi erano differenze significative tra i due gruppi a suggerire che molti CCA erano già presenti al momento della CPRE ma diagnosticati successivamente. Anche in questo studio quindi, mancherebbe un rapporto causa-effetto tra sfinterotomia e sviluppo di CCA. Pertanto non vi è evidenza al momento che la SE comporti un rischio per lo sviluppo di CCA.



RETTOCOLITE ULCEROSA

Non vi sono evidenze a sostegno della RCU come fattore di rischio per lo sviluppo di CCA. Gli unici studi presenti in letteratura sono studi osservazionali e, nella maggior parte dei casi, lo sviluppo di CCA è stato descritto in pazienti con coesistenza di RCU e CSP.

FOLLOW-UP DEI PAZIENTI A RISCHIO

Ai fini della diagnosi precoce di CCA, non esistono linee-guida né conferenze di consenso per le modalità di follow-up e sorveglianza dei pazienti affetti da CSP o da altre patologie considerate fattori di rischio (35-37). Soprattutto per la CSP, questo rappresenta un problema clinico importante, anche perché studi clinici recenti suggeriscono che i pazienti con CSP e piccolo CCA trattati con radio-chemioterapia prima del trapianto epatico hanno una buona sopravvivenza (30). D'altra parte, la chirurgia radicale è applicabile solo quando la diagnosi di CCA viene posta in fase iniziale. Pertanto è fondamentale identificare una strategia che consenta la diagnosi precoce di CCA. Sebbene diversi modelli prognostici siano stati proposti per i pazienti con CSP, nessuno si è dimostrato utile nel predire quali pazienti svilupperanno CCA. Non esiste nessun accertato marker diagnostico specifico per il CCA. Il Ca19-9 è stato dimostrato di scarsa accuratezza diagnostica e soprattutto non consente una diagnosi precoce. Un recente workshop americano sulla CSP (31) ha evidenziato la necessità di linee guida per la sorveglianza dei pazienti con CSP ed in particolare per quelli ad alto rischio di sviluppare CCA (età avanzata, cirrosi, forti fumatori e bevitori) e per quelli in lista di attesa di trapianto. Sono stati proposti numerosi markers sierici o biliari e diverse metodiche di imaging od invasive in corso di CPRE ma nessuno preso singolarmente ha un'accuratezza diagnostica tale da poter essere considerato metodo ideale per seguire i pazienti a rischio e, attualmente, non ci sono dati prospettici che supportano controlli seriati di imaging per la sorveglianza nei pazienti. Recentemente, Charatchoenwitthaya P. et al. (38) hanno valutato retrospettivamente la performance diagnostica del CA 19-9 sierico nell'identificare il CCA in 230 pazienti con CSP seguiti per sette anni (23 CCA diagnosticati). Ad un cut-off ottimale di 20 U/ml, la sensibilità è stata del 78%, la specificità del 67%, il VPP del 23%, ed il VPN del 96%. Più alti valori di cut-off diminuivano la sensibilità e consentivano la diagnosi di CCA solo in stadi avanzati di malattia. Quando è stata valutata la combinazione di CA 19-9 con le tecniche di immagine, TC, RM, CPRM o CPRE si è avuta migliore sensibilità (~ 100%) ma una bassa specificità (~ 40%), mentre CA 19-9+Ecografia hanno mostrato una specificità intermedia (62%) con una buona sensibilità (91%). Prendendo in considerazione, le proprietà, i costi e la disponibilità della metodica, la combinazione CA 19-9 (cut-off value of 20 U/mL)+ Ecografia eseguita ad intervalli di dodici mesi è stata proposta come strategia raccomandabile per lo screening/sorveglianza del CCA nei pazienti con CSP. Tuttavia c'è da considerare che la proposta è basata su 23 casi di CCA identificati di cui solo 14 durante la sorveglianza dei pazienti con CSP. E' evidente quindi che ulteriori trials clinici prospettici sono necessari per validare questa proposta (38).

Quello che sta emergendo è una modalità di screening o sorveglianza multimodale basata sulla combinazione di varie tecniche (per i dettagli sulle metodiche diagnostiche si rimanda al capitolo 8) (35-37). Recentemente è stato proposto (30) il protocollo riportato nella Figura 5.1 per la sorveglianza dei pazienti con CSP che, però, manca di validazione e pertanto si deve considerare una proposta basata sull'opinione di esperti (livello di prova V).

PROSPETTIVE FUTURE

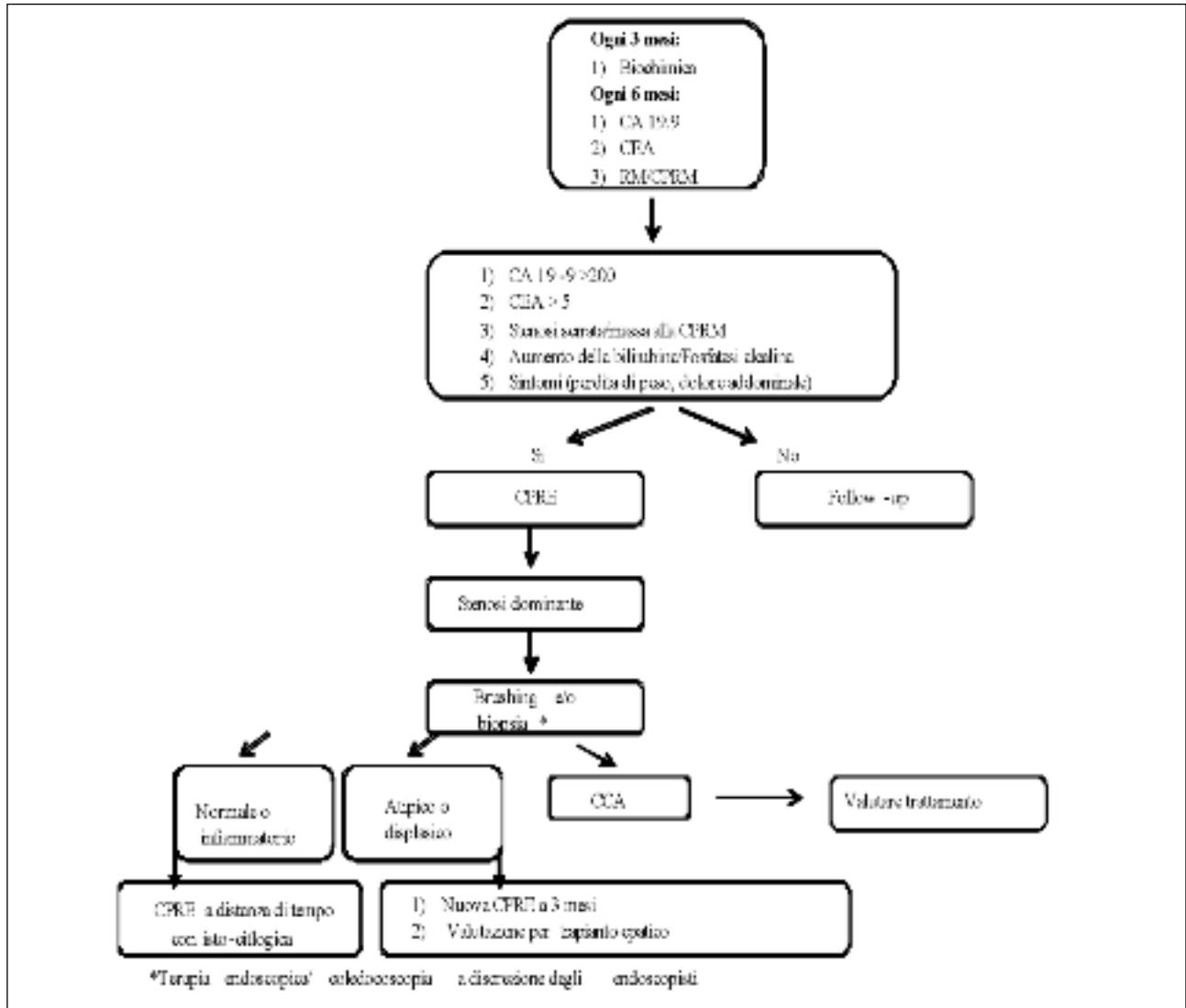
Sebbene nella maggior parte dei pazienti, al momento della diagnosi, non ci sono fattori di rischio identificabili, esistono ben definite categorie a rischio di sviluppare CCA e su questi pazienti è pressante la definizione, mediante studi multicentrici, di strategie di sorveglianza possibilmente non invasive. Sarebbe auspicabile identificare un marker genetico, biochimico o molecolare da poter essere utilizzato nello screening su popolazione o su categorie a rischio, allo scopo di diagnosticare il CCA in stadi precoci tali da essere candidabili alla chirurgia curativa.

Tabella 5.1

FATTORI DI RISCHIO

| |
|--|
| <p>Età >65 anni</p> <p>Colangite sclerosante primitiva</p> <p>Opisthorchis viverrini, Clonorchis sinensis</p> <p>Cisti coledociche</p> <p>Epatoliti, calcoli coledocici solo per CCA extra-epatico</p> <p>Thorotrast, derivati della diossina</p> <p>Adenomi biliari e papillomatosi biliare</p> <p>Malattia di Caroli</p> <p>Fumo di sigaretta (rischio aumentato in pazienti con CSP)</p> <p>Cirrosi</p> <p>Infezione da HCV o HBV</p> <p>Obesità, diabete, insulino-resistenza</p> <p>Giunzione bilio-pancreatica anomala</p> <p>Drenaggio bilio-enterico chirurgico</p> |
|--|

Figura 5.1
ALGORITMO DI SORVEGLIANZA DEI PAZIENTI CON CSP.



BIBLIOGRAFIA

1. Boberg K.M. et al. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: risk factors and clinical presentation. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37(10): 1205-11.
2. Burak K. et al. Incidence and risk factors for cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99(3): 523-6
3. Broomé U. *Hepatology*. 1995 Nov;22(5):1404-8
4. Pardi DS. Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 2003;124:889-893
5. Stiehl A. Development of dominant bile duct stenoses in patient with primary sclerosing cholangitis treated with ursodeoxycholic acid: outcome after endoscopic treatment. *J Hepatol* 2002;36:151-156
6. Olsson R, et al. High-dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis: a 5-year multicenter, randomized controlled study. *Gastroenterology* 2005;129:1464-1472
7. Brandsaeter B, et al. Liver transplantation for primary sclerosing cholangitis; predictors and consequences of hepatobiliary malignancy. *J Hepatol* 2004;40 815-822
8. Claessen MM, et al. High lifetime risk of cancer in primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 2009; 50(1): 158-164.
9. Parkin D.M. et al. Liver cancer in Thailand. I. A case control study of cholangiocarcinoma. *Int J Cancer* 91; 48: 323-228
10. Watanapa, et al. Liver fluke-associated cholangiocarcinoma. *British Journal Surgery* 2002; 89; 962-970
11. Shin HR, et al. Hepatitis B and C virus, *Clonorchis sinensis* for the risk of liver cancer: a case-control study in Pusan, Korea. *Intern J Epidemiology* 1996: 25: 933-944
12. Robertson JF et al. Choledochal cyst : a 33-year review. *Br J Surg*. 1988;75:799-801
13. De Vries JS, et al. Choledochal cysts: age of presentation, symptoms, and late complications related to Todani's classification. *J Pediatr Surg*. 2002;11:1568-1573
14. Pisano G, et al. Cholangiocarcinoma in a type III choledochal cyst. *Aust N Z J Surg*. 1991; 61: 855-857.
15. Voyles CR, et al. Carcinoma in choledochal cysts: age-related incidence. *Arch Surg*. 1983;118: 986-988.
16. Su CH, et al. Hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Br J Surg*. 1997;84:969-973
17. Ahrens et al. Risk factors for extrahepatic biliary tract carcinoma in men: medical conditions and lifestyle: results from a European multicentre case-control study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Aug;19(8):623-30
18. Ishiguro S, et al. Risk factors of biliary tract cancer in a large-scale population-based cohort study in Japan (JPHC study): with special focus on cholelithiasis, body mass index, and their effect modification. *Cancer Causes Control*. 2008 Feb;19(1):33-41. Epub 2007 Sep 30
19. Hsing AW et al. Gallstones and the risk of biliary tract cancer: a population based study in China. *Br J Cancer*. 2007 Dec 3;97(11):1577-82
20. Ito Y, et al. Pathomorphologic characteristics of 102 cases of thorotrast-related hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, and hepatic angiosarcoma. *Cancer*. 1988;62:1153-1162
21. Natl Toxicol Program Tech Rep Ser. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of a Mixture of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) (CAS No. 1746-01-6), 2,3,4,7,8-Pentachlorodibenzofuran (PeCDF) (CAS No. 57117-31-4), and 3,3',4,4',5-Pentachlorobiphenyl (PCB 126) (CAS No. 57465-28-8) in Female Harlan Sprague-Dawley Rats (Gavage Studies). 2006 Sep;(526):1-180
22. Kobayashi M, et al. Incidence of primary cholangiocellular carcinoma of the liver in Japanese patients with hepatitis C virus-related cirrhosis. *Cancer*. 2000;88:2471-2477
23. Sorensen HT, et al. Risk of liver and other types of cancer in patients with cirrhosis: a nationwide cohort study in Denmark. *Hepatology* 1998; 28: 921-925
24. Welzel TM et al. Risk factors for intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a population-based case-control study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 Oct;5(10):1221-8.
25. Grainge MJ et al. The antecedents of biliary cancer: a primary care case-control study in the United Kingdom. *British Journal of Cancer* (2009) **100**, 178-180.
26. Yamamoto S, et al. Hepatitis C virus infection as a likely etiology of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Cancer Sci*. 2004;95:592-595
27. Donato F, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatitis C and B virus infection, alcohol intake, and hepatolithiasis: a case-control study in Italy. *Cancer Causes Control*. 2001;12:959-964



28. Shaib YH, et al. Risk Factors for Intrahepatic and Extrahepatic Cholangiocarcinoma: A Hospital-Based Case–Control Study. *American J Gastroenterology* 102; 5: 1016 – 1021.
29. Roukounakis NE, et al. Association of an abnormal pancreaticobiliary junction with biliary tract cancers. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2000; 13(1): 11–13
30. Tocchi A. et al. Late development of bile duct cancer in patients who had biliary-enteric drainage for benign disease: a follow-up study of more than 1,000 patients. *Ann Surgery* 2001; 234(2): 210-214
31. Kakamada K. et al. Late development of bile duct cancer after sphincteroplasty: a ten- to twenty-two-year follow-up study. *Surgery* 1997; 121(5): 488-492
32. Costamagna G, et al. Endoscopy. Long-term follow-up of patients after endoscopic sphincterotomy for choledocholithiasis, and risk factors for recurrence. *Clin Gastroenterol Hepatology* 2008; 6 (9): 1049-1053.
33. Strömberg C. et al. Endoscopic sphincterotomy and risk of malignancy in the bile ducts, liver, and pancreas. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008 Sep;6(9):1049-53
34. Mortensen FV et al, Endoscopic sphincterotomy and long-term risk of cholangiocarcinoma: a population-based follow-up study. *J Natl Cancer Inst*. 2008; 21;100(10): 745-750
35. Gores GJ, et al. Cholangiocarcinoma: is transplantation an option? For whom? *Hepatology* 2007; 47(4):455-9
36. La Russo N, et al. Primary sclerosing cholangitis: summary of a workshop. *Hepatology* 2006; 44:746-764.
37. Yachimski P, et al. Cholangiocarcinoma: natural history, treatment, and strategies for surveillance in high-risk patients. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42:178–190
38. Charatcharoenwitthaya P, et al. Utility of serum tumor markers, imaging, and biliary cytology for detecting cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 2008; 48: 1106-1117

CAPITOLO 6

PRESENTAZIONE CLINICA

Nella maggior parte dei casi i sintomi compaiono in stadio avanzato di malattia (1-7). L'età di insorgenza è progressivamente più elevata dalla forma intraepatica a quella peri-ilare a quella medio-distale (1-7). La sintomatologia dipende dalla sede della neoplasia e dalle dimensioni della stessa. Il 90% dei CCA extra-epatici esordisce con ittero senza dolore mentre la colangite rappresenta il sintomo di esordio in meno del 10% dei casi. Occorre ricordare come in circa il 10-20% dei casi (1-7) la diagnosi è casuale, verificandosi a seguito di indagini eseguite per routine od altre ragioni. Al momento della diagnosi, come atteso, l'entità dell'ittero è più marcata nella forma medio-distale o ilare rispetto a quella intra-epatica (1-7). L'ostruzione biliare unilaterale con ostruzione vascolare causa il complesso "atrofia-ipertrofia" con prominenza all'esame obiettivo del lobo epatico risparmiato. È stato dimostrato come in 27 casi su 30 il complesso "atrofia-ipertrofia" è associato all'ostruzione del ramo portale affluente che rappresenta verosimilmente la causa dell'atrofia del lobo epatico interessato (8). Raramente, il CCA extra-epatico esordisce con una sindrome paraneoplastica (diabete, ipoglicemia, ipercalcemia da aumento del paratormone, porfiria cutanea tarda, tromboflebiti migranti, acantosi nigricans, ecc.) (1-7). Il CCA intraepatico esordisce con sintomi tipici della massa occupante spazio nel fegato (dolenzia) o con sintomi aspecifici come malessere, sudorazioni notturne, cachessia (1-7).

Riguardo al CCA incidente in pazienti con CSP, in uno studio condotto su 370 pazienti seguiti fino a 24 anni di follow-up sono stati osservati 48 CCA di cui il 25% risultava inoperabile al momento della diagnosi (9). Le modalità di presentazione erano rappresentate da: riscontro incidentale al momento del trapianto (22% dei casi), diagnosi durante il follow-up radiologico od endoscopico (CPRE) nel 18% dei casi, work-up o lista d'attesa per trapianto (20% dei casi). In 22/48 pazienti è stato possibile il trapianto o la chirurgia mentre i rimanenti 26 pazienti sono stati sottoposti esclusivamente ad interventi palliativi. Nel tentativo di identificare i fattori predisponenti allo sviluppo di CCA, Boberg et al. (10) hanno confrontato la presentazione clinica e la storia naturale di pazienti con CSP che sviluppano o no CCA durante il follow-up. In una casistica di 394 pazienti con CSP, quelli che sviluppavano il CCA (n= 46) si distinguevano per una più elevata frequenza di ittero, prurito, dolore addominale e fatica al momento della diagnosi di CSP ed a livello biochimico per più elevati valori di bilirubina e più bassi valori di albumina e parametri coagulativi. Né gli episodi di colangite né la perdita di peso rappresentano elementi significativamente più frequenti in chi svilupperà CCA. In questo ed altri lavori si sottolinea come la diagnosi di CCA si verifica spesso nel follow-up dei pazienti (radiologico o con CPRE), durante la fase di attesa per trapianto, in corso di interventi chirurgici (es. colecistectomia) o, come reperto occasionale, nel fegato espantato. È importante sottolineare come la comparsa di una stenosi dominante nel corso del follow-up rappresenti un motivo per sospettare l'insorgenza di CCA e per sottoporre il paziente alle indagini opportune.

In un'analisi retrospettiva (Mayo Clinic) di 230 pazienti con CSP screenati per il CCA (n= 23 CCA identificati in sette anni di follow-up mediano), gli autori (11) hanno confrontato, al momento della diagnosi di CSP, tutti i sintomi ed i dati di laboratorio tra i pazienti con CSP che avevano sviluppato il CCA nel follow-up rispetto agli altri. Purtroppo, nessun sintomo o dato di laboratorio consentiva di prevedere l'insorgenza di CCA in una fase aggredibile chirurgicamente. Più alti livelli dei parametri biochimici di colestasi consentivano di identificare quei pazienti che sviluppavano CCA in fase tardiva e non operabile e questo, ovviamente è di scarsa utilità clinica. La conclusione, quindi,

è che non ci si può basare sui dati clinici o biumorali di presentazione clinica per identificare il sottogruppo di CSP a maggiore rischio di sviluppo di CCA, da sottoporre a più stretta sorveglianza.

BIBLIOGRAFIA

1. Burak K, et al. Incidence and risk factors for cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 2004; 99(3): 523-6
2. Angulo P, et al. Primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999;30:325 –32
3. Khan SA, et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005 Oct 8;366(9493):1303-14
4. Blechacz B, et al. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 2008, 1-14
5. Gores GJ, et al. Cholangiocarcinoma: is transplantation an option? For whom? *Hepatology* 2007; 47(4): 455-459
6. LaRusso N, et al. Primary sclerosing cholangitis: summary of a workshop. *Hepatology* 2006; 44: 746-764.
7. Yachimski P, et al. Cholangiocarcinoma: natural history, treatment, and strategies for surveillance in high-risk patients. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 178–190
8. Hann LA et al. Clinical manifestations and diagnosis of cholangiocarcinoma. *AJR Am J Roentgenol.* 1996; 167(4):1017-1021
9. Morris-Stiff G Cholangiocarcinoma complicating primary sclerosing cholangitis: a 24-year experience. *Dig Surg.* 2008; 25(2): 126-32
10. Boberg KM, et al. Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: risk factors and clinical presentation. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37(10): 1205-11
11. Charatcharoenwitthaya P, et al. Utility of serum tumor markers, imaging, and biliary cytology for detecting cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 2008; 48: 1106-1117

CAPITOLO 7

LA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

La diagnostica di laboratorio del CCA è per la maggior parte dei casi di scarsa utilità per identificare le forme precoci, anche se recentemente sono stati utilizzati molti potenziali marcatori che necessitano di studi prospettici e su ampie casistiche (1).

ANTIGENI TUMORALI

Ca 19-9 e CEA nel siero

Il **Ca 19-9** determina glicoproteine circolanti ad alto peso molecolare legate ad epitopi sialilati come la sialosil-fucosil-lattotetraosio (Lewis). I livelli di normalità dipendono quindi dal fenotipo Lewis che nel 70% della popolazione è assente. Inoltre il Ca 19-9 non è specifico per CCA, ma si trova alterato in ostruzioni biliari, colangiti, tumori del pancreas, del colon-retto, dello stomaco e dell'apparato ginecologico (Tabella 7.1).

Il cut-off utilizzato è variabile (da 20 a 180); la sensibilità varia dal 53 al 92%; la specificità varia dal 63 al 98%. Il VPP è considerato solo in 4 lavori su 12 e varia dal 16 al 91%; lo stesso si può dire del VPN che varia dal 63 al 90%.

Il livello di evidenza globale indica una bassa accuratezza, anche considerando un cut-off di 100.

Ramage et al (2) hanno proposto il seguente score nel follow-up della CSP: $Ca19-9 + [CEA \times 40]$: con un cut-off superiore a 400 si ha una sensibilità del 66%, una specificità dell' 85%, un VPP del 100% e un VPN dell'88%. Lo score di Ramage comunque non ha trovato una applicazione pratica. In particolare, Bjorsson et al (3) applicando lo score ad una popolazione di CCA hanno segnalato una sensibilità del 33%, specificità dell' 85%, VPP del 29% e un VPN dell'88%.

Il Ca19-9 se combinato con una metodica di imaging (ecografia, TAC o RMN addominale) fornisce una sensibilità molto alta; 91%,100% e 96% rispettivamente, una specificità piuttosto bassa (62%, 38% e 37%), un VPP ancora inferiore (23%, 22% e 24%) e un VPN molto alto (98%, 100% e 98%) (4).

Il **CEA**: è una glicoproteina del peso molecolare di 180-200 KD composta per il 60% da carboidrati. E' usato come marker per la diagnosi di carcinoma, in particolare per quello del colon-retto.

Il valore di cut-off è pressoché uniforme in tutti gli studi; la sensibilità varia dal 33 al 68%, la specificità dal 79 al 100%, il VPP è rispettivamente 29-94% (in 3 studi su 7) e il VPN 55-88%.

Ca19-9 e CEA nella bile

Il campionamento biliare (Tabella 7.3) è sempre problematico perché limitato a pazienti in cui si esegue una procedura invasiva, perché non è facilmente ripetibile, perché è influenzato dal momento in cui si esegue il campionamento (prima o dopo posizionamento del drenaggio, presenza o meno di calcoli nelle vie biliari).

Altri marcatori

Oltre ai marcatori indicati nella Tabella 7.4, altri marcatori investigati sono:

CYFRA-21-1: (frammento solubile di citocheratina 19): distingue il CCA in fase avanzata rispetto all'HCC.

RCAS1: si può ricercare nel siero o su tessuto con immunocistochimica. Nel siero avrebbe una specificità maggiore di CEA e Ca19-9 (5).

DCP (des-a-carbossiprotrombina) : di difficile applicazione perchè risente del deficit di sintesi di vitamina K eventualmente presente.

Fibronectina: ha una bassa sensibilità e specificità; c'è una migliore accuratezza quando si utilizza il rapporto fibronectina/sali biliari. La fibronectina è elevata anche in malattie biliari benigne e in malattie pancreatiche.

IL-6: citochina proinfiammatoria, si trova elevata in diverse condizioni di tipo infiammatorio e tumorale. In un lavoro i livelli medi di IL-6 sono risultati più elevati nel CCA rispetto ad altre condizioni (6).

Tripsinogeno-2 e tripsinogeno 2- α 1antitripsina: sono elevati in condizioni benigne e maligne del pancreas, in CCA ed altri tumori del tubo digerente: non hanno alcuna utilità.

Pancreatic polipeptide (PP): rilasciato dalle cellule PP delle isole pancreatiche, aumenta in maniera aspecifica nel CCA e quindi non è di alcuna utilità.

Lattato: aumenta in maniera aspecifica nel siero e nella bile di pazienti con CCA, quindi non ha alcuna utilità nella pratica clinica.

MARCATORI MOLECOLARI NELLA BILE

I più studiati sono il **k-ras** e il **p53** in campioni ottenuti con varie tecniche: brushing, aspirazione, drenaggio biliare, biopsie. I risultati sono scoraggianti perché nonostante l'alta frequenza di dimostrazione di questi marcatori nel CCA, la specificità è bassa, (sono altrettanto frequenti in linfomi, lesioni metastatiche, K pancreas) come pure sono altrettanto frequenti i falsi positivi.

Inattivatori del locus INK4a/ARF: il locus INK4a/ARF contiene 2 geni soppressori tumorali, il p16^{INK4a} e il p14^{ARF}. Il primo agisce mediante la down-regolazione di proteine ciclino-dipendenti che inibiscono la loro interazione con la ciclica D1. p14^{ARF} inducendo l'arresto di G1 e stabilizzando l'interazione di p53 con MDM2.

Klump et al (7), analizzando campioni di bile, hanno trovato un'aberrante metilazione di p16INK4a e p14^{ARF} nel 54 e 46% dei pazienti con CCA, dimostrando anche una specificità del 94 e 97% nei confronti di patologie non maligne. Gli autori stessi comunque sollecitano di essere cauti nell'interpretazione dei dati perché lo studio è retrospettivo.

ANEUPLOIDIA DEL DNA

E' stata valutata mediante FCM o DIA su campioni ottenuti da brushing endoscopico. Con tecnica DIA si migliora la sensibilità e la concordanza con la citologia. Comunque gli studi sono limitati ed includono uno scarso numero di pazienti.

FATTORI DI CRESCITA E LORO RECETTORI

Su et al (8) hanno segnalato picchi elevati di bFGF e PDGF e un'aumentata espressione di HER2/Neu in pazienti con CCA. Questi valori erano significativamente più elevati rispetto ad altri gruppi di controllo (cancri dell'ampolla, della colecisti, del pancreas e altre condizioni benigne).

IGF1 e VEGF sono stati valutati su siero e bile in 29 pazienti con CCA, 19 con K pancreas e 25 con patologia benigna delle vie biliari. La concentrazione biliare di IGF1 era significativamente più elevata nel CCA rispetto ad altre condizioni. In contrasto la concentrazione di VEGF era simile nei 3 gruppi. I valori sierici erano invece simili e non differenziavano il CCA (9).

GRADO DI EVIDENZA

Il livello di evidenza dell'utilità diagnostica degli esami di laboratorio è basso per tutti i parametri considerati singolarmente e valutati sia nel siero che nella bile. Qualche considerazione meritano due punti: 1) la combinazione di parametri di laboratorio insieme ad una o più metodiche di imaging; 2) l'impiego dei marcatori tumorali nel follow-up di pazienti a rischio. Occorrono studi prospettici possibilmente multicentrici per assicurare un'adeguata numerosità del campione.

PROSPETTIVE FUTURE

E' evidente che nessun marker sierico o biliare ha ancora sufficiente accuratezza diagnostica da poter essere proposto per lo screening su popolazione o per il follow-up dei pazienti a rischio. E' quindi assolutamente necessario identificare un marker genetico, biochimico o molecolare mirato alla diagnosi di CCA in stadio precoce.

Tabella 7.1

ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DEL CA 19-9 NEL SIERO DI PAZIENTI CON CCA

| Autore | N.pz | Cut-off | Sensibilità | Specificità | VPP | VPN |
|-----------------------|-------------|----------------|--------------------|--------------------|------------|------------|
| | | | % | % | % | % |
| Lindberg | 28 | 100 | 67 | 89 | 91 | 63 |
| Siqueira | 44 | 180 | 67 | 98 | - | - |
| Chalasani | 27 | 100 | 75 | 80 | - | - |
| Patel | 36 | 100 | 53 | - | - | - |
| Kim | 152 | 37 | 73 | 63 | - | - |
| Bjornsson | 18 | 37(200) | 63 (38) | 50 (81) | 16 (38) | 90 (91) |
| Ramage | 15 | 100 | 60 | 91 | - | - |
| Buffet | 14 | 40 | 92 | 72 | 84 | 85 |
| Nichols | 9 | 100 | 89 | 86 | - | - |
| Kuusela | 14 | 37 | 76 | 74 | - | - |
| Ker | 18 | 37 | 61 | 72 | - | - |
| Charatcharoenwitthaya | 23 (in CSP) | 20 | 78 | 67 | 23 | 96 |

Tabella 7.2
ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DEL CEA NEL SIERO DI PAZIENTI CON CCA

| Autore | N.pz | Cut-off | Sensibilità % | Specificità % | VPP % | VPN % |
|---------------|-------------|----------------|--------------------------|--------------------------|------------------|------------------|
| Lindberg | 28 | 5 | 56 | 89 | 88 | 59 |
| Siqueira | 44 | 5.2 | 68 | 82 | - | - |
| Bjorsson | 18 | 5 | 33 | 85 | 29 | 88 |
| Ramage | 15 | 5 | 53 | 86 | - | - |
| Buffet | 14 | 5 | 50 | 95 | 94 | 55 |
| Nichols | 9 | 5 | 38 | 100 | - | - |
| Kuusela | 14 | 3 | 59 | 79 | - | - |

Tabella 7.3
ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DEL DOSAGGIO DI CA 19-9 E CEA NELLA BILE (RIASSUNTO DI SEI STUDI PUBBLICATI)

| | Sensibilità | Specificità | VPP | VPN |
|--------|--------------------|--------------------|------------|------------|
| Ca19-9 | 46-61% | 60-70% | 37-67% | 50-74% |
| CEA | 67-84% | 33-80% | 31-72% | 59-84% |

Tabella 7.4
ACCURATEZZA DIAGNOSTICA DI ALTRI MARCATORI PROTEICI IN COMPARAZIONE CON IL CA 19.9

| | |
|--------------|--|
| CA 50 | Comparabile |
| CA 242 | Sensibilità minore, specificità più alta |
| CA 195 | Comparabile |
| CA 125 | Sensibilità minore, specificità più alta |
| DU-PAN 2 | Sensibilità minore, specificità alta (ma di limitata utilità perché presente anche in lesioni benigne) |



BIBLIOGRAFIA

1. Nehls O, et al. Serum and bile markers for cholangiocarcinoma. *Sem Liver Dis* 2004; 24: 139-154.
2. Ramage JK, et al. Serum tumor markers for the diagnosis of cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1995; 19: 501-508.
3. Bjorsson E, et al. CA19-9 and CEA are unreliable markers for cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis.
4. Charatcharoenwitthaya P, et al. Utility of serum tumor markers, imaging, and biliary cytology for detecting cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis.
5. Watanabe H, et al. Clinical significance of serum RCAS1 levels detected by monoclonal antibody 22-1-1 in patients with cholangiocellular carcinoma. *J Hepatol* 2003; 39: 559-563.
6. Goydos JS, et al. Marked elevation of serum interleukin-6 in patients with cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 1998; 227: 398-404.
7. Klump B, et al. Promoter methylation of INK4a/ARF as detected in bile-significance for differential diagnosis in biliary disease. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1773-1778.
8. Su W-C, et al. Expression of oncogene products HER2/neu and ras and fibrosis-related growth factors bFGF, TGF-beta and PDGF in bile from biliary malignancies and inflammatory disorders. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1387-1392.
9. Alvaro D, et al. Serum and insulin-like growth factor I and vascular endothelial growth factor in determining the cause of obstructive cholestasis. *Ann Int Med* 2007; 147: 451-459.

CAPITOLO 8

TECNICHE NON INVASIVE DI IMAGING NELLA DIAGNOSI E NEL PLANNING TERAPEUTICO DEL COLANGIOCARCINOMA

Lo scopo di questo capitolo è quello di fornire un'analisi rapida delle informazioni circa l'efficacia delle tecniche di imaging nella diagnosi e nella stadiazione del CCA attraverso una revisione della letteratura e di individuare i punti di maggior criticità della tecnologia attuale nell'iter diagnostico del CCA.

Le tecniche di imaging non invasivo utilizzate nella diagnosi e nello staging del CCA sono rappresentate dalla diagnostica US, dalla RM, dalla TCSM; più recentemente anche la PET-CT è stata proposta da alcuni autori nella stadiazione del CCA e nella diagnosi di CCA in pazienti con CSP (1,2). Le suddette metodiche di imaging presentano notevoli differenze in termini di costi, di disponibilità di apparecchiature sul territorio e quindi di accessibilità alla tecnologia. In particolare queste valutazioni sono maggiormente evidenti per la PET-CT.

Inoltre tutte le metodiche sopra descritte non presentano valori di sensibilità soddisfacenti nella identificazione precoce del CCA. Questo dato è determinato da una peculiarità di crescita del CCA che nelle fasi iniziali non è di tipo radiale ma longitudinale lungo l'epitelio biliare, motivo per cui è possibile evidenziare delle vere e proprie lesioni espansive solo tardivamente. Per lo stesso motivo anatomicopatologico il CCA tende a determinare stenosi dei dotti biliari anche in assenza di grossolane lesioni espansive.

La conferma della presenza di una lesione neoplastica alla base di una stenosi biliare evidenziata con tecniche di imaging e la sua caratterizzazione istologica è infine da considerarsi indispensabile ai fini di una diagnosi definitiva di CCA anche quando le metodiche di imaging forniscano elementi diagnostici altamente suggestivi. La raccolta del tessuto è affidata a metodiche diagnostiche invasive quali la PTC o la CPRE (1-2).

Verranno di seguito analizzate rapidamente le performance diagnostiche delle metodiche di imaging non invasive.

ECOGRAFIA

L'ecografia transaddominale rappresenta l'indagine di primo livello nella valutazione dei pazienti con ittero per la valutazione del diametro dei dotti biliari, del parenchima epatico e della patologia litiasica biliare.

Nella maggior parte dei casi il CCA non è identificabile direttamente come una lesione espansiva di rilevanza ultrasonografica. Tuttavia l'US può mostrare dei segni indiretti nella maggior parte dei pazienti con stenosi biliare in pazienti con CCA (3).

Nelle stenosi distali la US mostra una dilatazione sia delle vie biliari intraepatiche sia della via biliare principale mentre nelle stenosi prossimali si osserverà una dilatazione esclusiva dei dotti intraepatici (1-3).

L'identificazione e la definizione della sede del CCA possono essere suggerite dalla brusca variazione di calibro di un dotto biliare dilatato.

Basandosi sulle migliori evidenze della letteratura l'US ha una capacità di individuare la presenza di una stenosi biliare nell'89% dei pazienti con ittero ostruttivo, con una sensibilità nella individuazione della sede della stenosi di circa il 94%(1-3).

Al contrario, la sensibilità e la specificità di caratterizzare la natura maligna della stenosi e di indi-

viduare la lesione espansiva è molto variabile anche in relazione alla qualità delle apparecchiature ecografiche ed alla esperienza dell'operatore.

Quindi la US è una metodica adatta come test di prima linea, nella valutazione del paziente con ittero ostruttivo, nell'individuare la presenza di una stenosi biliare basandosi spesso su criteri indiretti quali la dilatazione dei dotti biliari; la US è anche in grado di stabilire in maniera soddisfacentemente accurata la sede della stenosi biliare soprattutto nelle lesioni intraepatiche (4).

I benefici della US sono limitati dalle scarse performance nell'identificazione della lesione espansiva e dall'esperienza dell'operatore.

Inoltre la capacità della US di identificare la stenosi biliare è ridotta nei pazienti con cirrosi epatica e CSP.

L'utilizzo delle tecniche doppler permette una valutazione della pervietà della vena porta e delle vene sovraepatiche.

Recentemente alcuni autori hanno proposto l'utilizzo di mezzi di contrasto ecografici di seconda generazione nella valutazione dei pazienti con CCA dimostrando un incremento dei valori di accuratezza diagnostica. Ad ogni modo il livello di evidenza di tali esperienze è piuttosto basso in considerazione dello scarso numero di pazienti valutati sinora con tale approccio (5-7).

TC SPIRALE E MULTISTRATO

La TCSM è la metodica di secondo livello utilizzata più comunemente nell'individuazione e nello staging del CCA.

La TCSM consente l'identificazione della stenosi biliare e la valutazione della presenza di lesioni secondarie epatiche.

La TCSM fornisce informazioni circa l'estensione del CCA ed i rapporti con le strutture vascolari. La TC permette inoltre di identificare le linfadenopatie locoregionali.

L'utilizzo di Scanner TCSM allo stato dell'arte che rende possibile l'acquisizione di immagini volumetriche del parenchima epatico offre benefici nella valutazione dei criteri di reseccabilità del CCA, in particolare nel valutare il grado di infiltrazione vascolare (8-9).

Esistono infatti evidenze in letteratura circa l'incremento del VPN di reseccabilità del CCA; da valori di 60% utilizzando TC spirali a singolo strato, sino a valori del 92% utilizzando TCSM a 16 strati (2, 8,9).

RISONANZA MAGNETICA E COLANGIO RM

L'introduzione della RM, integrata con l'acquisizione di sequenze di Colangio-RM, ha migliorato le performance diagnostiche nello staging e nel planning terapeutico del CCA epatico (10).

La RM del fegato, integrata con la colangio-RM eseguita su apparecchiature ad alta intensità di campo, fornisce immagini di tipo colangiografico in maniera non invasiva in modo da determinare con precisione la sede e l'estensione della stenosi, ed è in grado di valutare l'albero biliare a monte ed a valle della stenosi biliare. Inoltre, acquisendo uno studio con somministrazione dinamica di chelati del gadolinio per via endovenosa, la RM fornisce informazioni comparabili a quelle della TCSM nella valutazione del grado di infiltrazione vascolare oltre ad una valutazione del parenchima epatico e dei linfonodi loco regionali.

L'accuratezza della RM e della Colangio-RM nella stadiazione del CCA epatico, secondo le migliori evidenze presenti in letteratura, è di circa il 78% nei CCA dell'ilo epatico (1,2,10-12).

La RM e la colangio-RM trovano un ruolo nella stadiazione e nel planning terapeutico del CCA for-



nendo una mappa anatomica dell'albero biliare utile nella programmazione del posizionamento di stents biliari.

Inoltre, grazie alla recente introduzione di mezzi di contrasto organo specifici ad escrezione biliare o a internalizzazione reticolo-endoteliale, è possibile attendere un miglioramento delle performance diagnostiche della RM nell'individuazione e nella caratterizzazione di lesioni di piccole dimensioni.

PET-CT

Alcuni studi dimostrano l'accumulo del tracciante radio isotopico fluoro-18-desossiglucosio (FDG) nel CCA.

Le caratteristiche della PET non consentono la visualizzazione di lesioni captanti di dimensioni inferiori al centimetro.

Per questo motivo la PET-CT è considerata quale metodica di staging del CCA soprattutto nella valutazione delle metastasi a distanza e delle metastasi linfonodali.

Esistono evidenze di come la PET-CT possa modificare le scelte terapeutiche circa nel 30% dei pazienti con CCA mostrando la presenza di lesioni secondarie non altrimenti note (13-14).

La PET-CT è gravata da una certa quota di falsi positivi, in caso di concomitanti fenomeni colangitici, che determinano iperfissazione del tracciante in zone ad elevato metabolismo esenti da tessuto neoplastico.

Esistono iniziali evidenze di come la PET/CT possa essere utilizzata per individuare una stenosi biliare maligna indotta da un CCA in pazienti con CSP e di come possa essere utilizzata come test di screening per il CCA di pazienti con CSP candidati al trapianto epatico (1, 13-14).

Il limite principale della PET-CT è quello di possedere una scarsa risoluzione spaziale che non permette l'individuazione di lesioni di piccole dimensioni.

In sintesi, sulla base delle caratteristiche anatomopatologiche, della storia naturale del CCA e delle possibilità terapeutiche attuali, e tenendo conto delle caratteristiche delle metodiche di imaging non invasivo disponibili, è possibile riassumere i seguenti concetti che appaiono ben consolidati e sufficientemente supportati da evidenze della letteratura:

- a) L'ecografia può essere utilizzata come test di primo livello in pazienti con ittero ostruttivo. Essa permette di valutare il grado di dilatazione delle vie biliari intraepatiche e della via biliare principale a livello dell'ilo epatico in maniera accurata e riproducibile consentendo pertanto di identificare le stenosi biliari intra-epatiche e le stenosi biliari ilari mentre raggiunge risultati meno riproducibili per le stenosi della via biliare principale.
- b) Il test non invasivo di secondo livello per la valutazione panoramica dell'albero biliare è rappresentato dalla Colangio-RM che, in caso di sospetta stenosi biliare maligna, deve essere eseguita con apparecchiature operanti ad alta intensità di campo ed associata ad uno studio RM del fegato con contrasto. La colangio-RM deve essere eseguita preferibilmente prima delle procedure interventistiche quali posizionamento di drenaggi biliari e di stents biliari fornendo informazioni valide nel planning di tali trattamenti.
- c) La stadiazione del CCA può essere effettuata sia con esame di colangio-RM e RM del fegato con mezzo di contrasto, sia con TCMS.

Mentre la Colangio-RM mostra dei vantaggi nella valutazione dell'estensione della stenosi biliare e nella valutazione delle lesioni secondarie epatiche, grazie ai mezzi di contrasto epatospecifici, la TCMS è particolarmente accurata nel valutare le strutture vascolari. Sia la TCMS sia la RM possono essere utilizzate quali metodiche di secondo livello nella individuazione della stenosi biliare e nella stadiazione del CCA. La scelta tra le due metodiche può dipendere nel singo-

lo centro da valutazioni di tipo tecnologico e dall'esperienza degli operatori. Entrambe le metodiche presentano limitazioni ove non vi sia la presenza di una quota sufficiente di tessuto neoplastico con modalità di crescita radiale tale da poter essere individuato e nella valutazione delle ripetizioni linfonodali del CCA.

- d) Le limitazioni nella valutazione delle ripetizioni linfonodali possono essere superate dall'esame PET-CT che è in grado di valutare anche lesioni secondarie a distanza non altrimenti misconosciute con altre metodiche di imaging. Il principale limite della PET-TC è rappresentato dalla ridotta risoluzione spaziale della metodica e dalla scarsa efficacia per le lesioni di dimensioni inferiori ad 1 cm di grandezza e pertanto non può essere considerato un test di stadiazione di secondo livello. Nella sorveglianza dei pazienti con CSP per l'insorgenza di stenosi neoplastiche, cominciano ad emergere interessanti esperienze preliminari con la PET-CT.
- e) La diagnosi definitiva di CCA necessita comunque di procedure diagnostiche invasive.

PROSPETTIVE FUTURE

E' auspicabile nel prossimo futuro lo sviluppo di mezzi di contrasto ecografici per migliorare l'identificazione delle lesioni di piccole dimensioni. Allo stesso modo potrebbe essere interessante lo sviluppo di mezzi di contrasto epatospecifici per RM (Gd-BOPTA, Gd-EOB-DTPA, Ferucarbutrano) e lo sviluppo delle applicazioni addominali dell'imaging in diffusione (DWI).

BIBLIOGRAFIA:

1. Khan SA, et al. British Society of Gastroenterology. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: consensus document. *Gut*. 2002 Nov;51 Suppl 6:VII-9
2. Weber A, et al. Diagnostic approaches for cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008 Jul 14;14(26):4131-6.
3. Sharma MP, et al. Aetiological spectrum of obstructive jaundice and diagnostic ability of ultrasonography: a clinician's perspective. *Trop Gastroenterol*. 1999 Oct-Dec;20(4):167-9.
4. Robledo R, et al. Extrahepatic bile duct carcinoma: US characteristics and accuracy in demonstration of tumors. *Radiology*. 1996 Mar;198(3):869-73
5. Bartolotta TV, et al. Characterization of hypoechoic focal hepatic lesions in patients with fatty liver: diagnostic performance and confidence of contrast-enhanced ultrasound. *Eur Radiol*. 2007 Mar;17(3):650-61. Epub 2006 Oct 3.
6. Celli N, et al. Characterization of liver lesions by real-time contrast-enhanced ultrasonography. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2007 Jan;19(1):3-14.
7. Nicolau C, et al. Importance of evaluating all vascular phases on contrast-enhanced sonography in the differentiation of benign from malignant focal liver lesions. *AJR Am J Roentgenol*. 2006 Jan;186(1):158-67.
8. Aloia TA, et al. High-resolution computed tomography accurately predicts resectability in hilar cholangiocarcinoma. *Am J Surg*. 2007 Jun;193(6):702-6.
9. Tillich M, et al. Multiphasic helical CT in diagnosis and staging of hilar cholangiocarcinoma. *AJR Am J Roentgenol*. 1998 Sep;171(3):651-8.
10. Manfredi R, et al. Magnetic resonance imaging of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis*. 2004 May;24(2):155-64.
11. Masselli G, et al. Hilar cholangiocarcinoma: MRI/MRCP in staging and treatment planning. *Abdom Imaging*. 2008 Jul-Aug;33(4):444-51.
12. Zidi SH, et al. Performance characteristics of magnetic resonance cholangiography in the staging of malignant hilar strictures. *Gut*. 2000
13. Anderson CD et al. Fluorodeoxyglucose PET imaging in the evaluation of gallbladder carcinoma and cholangiocarcinoma. *J Gastrointest Surg*. 2004 Jan;8(1):90-7.
14. Reinhardt MJ, et al. PET recognition of pulmonary metastases on PET/CT imaging: impact of attenuation-corrected and non-attenuation-corrected PET images. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006 Feb;33(2):134-9. Epub 2005 Sep 29.



CAPITOLO 9 STAGING E FATTORI PROGNOSTICI

Nel CCA sono state proposte diverse classificazioni di stadiazione, tra cui le principali sono quella classicamente basate sul sistema TNM (tumor-node-metastasis) e quella topografica. Mentre la TNM ha perso progressivamente significato clinico per le ridotte indicazioni al trattamento chirurgico di questa neoplasia e la sua scarsa capacità di correlarsi con la sopravvivenza, quella topografica è ritenuta oggi di maggior utilità, sia in termini di sopravvivenza che di possibilità terapeutiche (1).

La **classificazione TNM** è stata elaborata secondo le indicazioni dell’UICC/AJCC (2) e, giudicando l’estensione della neoplasia sulla base dei risultati dell’esame anatomico-patologico, richiede l’acquisizione di tessuto mediante intervento chirurgico. L’impiego di nuove tecniche di imaging e l’estensione dei criteri di reseccabilità e di trapiantabilità pongono l’indicazione per l’adozione di criteri di staging più accurati.

La classificazione TNM (Tabella 9.1, Tabella 9.2) del CCA si diversifica a seconda che il tumore si localizzi a livello extraepatico o intraepatico.

Tabella 9.1

CCA EXTRA-EPATICO CLASSIFICAZIONE TNM (UICC/AJCC 2002)

| Tumore primitivo (T) | Linfonodi regionali (N) | Metastasi a distanza (M) |
|--|--|---|
| Tx: tumore primitivo non definibile | NX: linfonodi regionali non definibili | MX: metastasi a distanza non definibili |
| T0: non evidenza di tumore primitivo | N0: assenza di metastasi nei linfonodi regionali | M0: assenza di metastasi a distanza |
| Tis: carcinoma in situ | N1: presenza di metastasi nei linfonodi regionali* | M1: presenza di metastasi a distanza |
| T1: tumore limitato istologicamente alla parete del dotto biliare | | |
| T2: tumore esteso oltre la parete del dotto biliare | | |
| T3: tumore che invade fegato, colecisti, pancreas e/o un singolo ramo della vena porta (destra o sinistra) | | |
| T4: tumore che invade una delle seguenti strutture: tronco portale principale o i suoi rami bilateralmente, arteria epatica comune, o altri organi adiacenti quali colon, stomaco, duodeno o parete addominale | | |
| * Almeno tre linfonodi: linfonodi ilari (linfonodi del coledoco, dell’arteria epatica, della vena porta e del dotto cistico), peripancreatici, periduodenali, dell’arteria mesenterica superiore. | | |

CCA INTRAEPATICO - CLASSIFICAZIONE TNM (UICC/AJCC 2002)

| Tumore primitivo (T) | Linfonodi regionali (N) | Metastasi a distanza (M) |
|--|--|---|
| Tx: tumore primitivo non definibile | NX: linfonodi regionali non definibili | MX: metastasi a distanza non definibili |
| T0: non evidenza di tumore primitivo | N0: assenza di metastasi nei linfonodi regionali | M0: assenza di metastasi a distanza |
| T1: tumore singolo senza invasione vascolare | N: metastasi nei linfonodi del legamento epatoduodenale* | M1: presenza di metastasi a distanza |
| T2: tumore singolo con invasione vascolare o tumori multipli nessuno > 5 cm | | |
| T3: tumori multipli > 5 cm o tumore che coinvolge un ramo principale della vena porta o della vena epatica | | |
| T4: tumore(i) con invasione diretta degli organi adiacenti ad eccezione della colecisti o con perforazione del peritoneo viscerale | | |
| * Almeno tre linfonodi. | | |

Sulla base dei criteri TNM, il CCA può quindi essere suddiviso in 4 stadi clinici, rispettivamente nelle due forme extra- ed intraepatico (Tabella 9.2):

Tabella 9.2
STADI CLINICI DEL CCA

| Stadio CCA Extraepatico | | | | Stadio CCA Intraepatico | | | |
|--------------------------------|----------|----------|----------|--------------------------------|----------|----------|----------|
| | T | N | M | | T | N | M |
| 0 | Tis | N0 | M0 | I | T1 | N0 | M0 |
| IA | T1 | N0 | M0 | II | T2 | N0 | M0 |
| IB | T2 | N0 | M0 | IIIA | T3 | N0 | M0 |
| IIA | T3 | N0 | M0 | IIIB | T4 | N0 | M0 |
| IIB | T1,T2,T3 | N1 | M0 | IIIC | ogni T | N1 | M0 |
| III | T4 | Ogni N | M0 | IV | Ogni T | ogni N | M1 |
| IV | Ogni T | N | M1 | | | | |

Clinicamente il sistema di stadiazione che sembra rivestire maggior interesse prognostico, anche alla luce di recenti dati epidemiologici statunitensi è però la classificazione topografica, originariamente proposta da BISMUTH e CORLETTE (3) e poi modificata (Tabella 9.3, Figura 9.1).

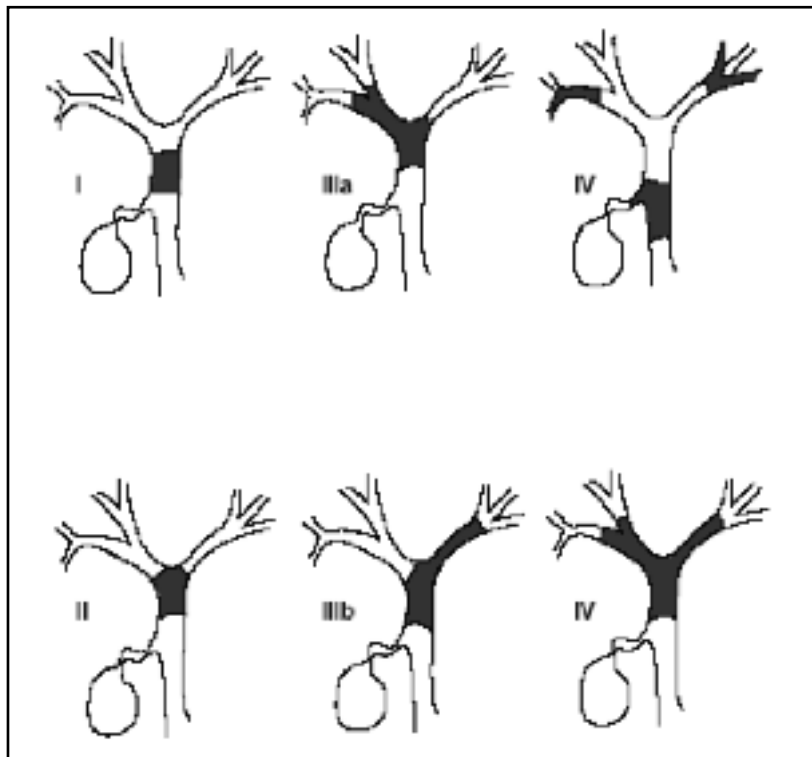
Tabella 9.3

CLASSIFICAZIONE DI BISMUTH-CORLETTE MODIFICATA

Tipo I - Tumore che coinvolge il dotto epatico comune, distalmente rispetto alla biforcazione
 Tipo II - Tumore che coinvolge la biforcazione del dotto epatico comune
 Tipo IIIa - Tumore della biforcazione biliare che coinvolge il dotto epatico destro
 Tipo IIIb - Tumore della biforcazione biliare che coinvolge il dotto epatico sinistro
 Tipo IV - Tumore multicentrico o singolo che coinvolge entrambi i dotti epatici destro e sinistro

Figura 9.1

Classificazione di BISMUTH



Ai fini però di una completa stadiazione che definisca la suscettibilità alla resezione chirurgica, la valutazione di questi tumori deve tener conto, oltre che della sede e dell'estensione della malattia a livello dell'albero biliare, anche di altri fattori, quali il coinvolgimento vascolare e la presenza di atrofia dei lobi epatici (1). Questi problemi sono presenti in particolare nelle forme di CCA che coinvolgono la confluenza dei dotti biliari (4). Prendendo spunto da queste limitazioni, è stato recentemente proposto dal Memorial Sloan Kettering Cancer Center un nuovo sistema di stadiazione per le forme di CCA ilare che riportiamo qui di seguito (Tabella 9.4):

Tabella 9.4

STADIAZIONE DEL CCA ILARE PROPOSTA DAL MEMORIAL SLOAN KETTERING CANCER CENTER

| Stadio | Criteri |
|--------|--|
| T1 | Tumore che coinvolge la confluenza biliare ± estensione unilaterale alla ramificazione biliare secondaria |
| T2 | Tumore che coinvolge la confluenza biliare ± estensione unilaterale alla ramificazione biliare secondaria e Coinvolgimento del ramo portale omolaterale ± atrofia del lobo epatico omolaterale |
| T3 | Tumore che coinvolge la confluenza biliare + estensione bilaterale alla ramificazione biliare secondaria o Estensione unilaterale alla ramificazione biliare secondaria con coinvolgimento del ramo portale controlaterale o Estensione unilaterale alla ramificazione biliare secondaria con atrofia del lobo epatico controlaterale o Coinvolgimento portale bilaterale o a carico del tronco portale principale |

A prescindere dallo stadio di malattia, la prognosi del CCA resta comunque sempre molto grave ed è nel suo complesso decisamente peggiore rispetto a quella dell'HCC, con andamento differente in base alla sede della neoplasia (1, 5). Inoltre, dati recenti indicano che esiste una grande dispersione dei tassi di sopravvivenza nei pazienti sottoposti a resezione con intento curativo per CCA (6). Tale variabilità dipende da diversi fattori, in parte legati al paziente, ma soprattutto alle caratteristiche della neoplasia. Tra questi, oltre alla sede, il principale fattore in grado di influire sulle prospettive terapeutiche e quindi sull'*outcome* clinico è la capacità invasiva del tumore (6). Purtroppo, non esistono ad oggi marcatori in grado di definire in maniera efficace questa proprietà biologica del CCA così cruciale nel condizionare la prognosi dopo resezione (1, 5).

CCA ilare. Nelle forme di CCA ilare sottoposte a resezione chirurgica, la sopravvivenza a lungo termine è fortemente condizionata da quanto completa è stata effettivamente la estirpazione del tumore, definita come indennità dei margini di resezione (7, 8). Nell'ampia casistica dello Sloan-Kettering Cancer Center di New York (225 pazienti con periodo di follow-up di 9 anni) (4), il 78% dei pazienti resecati per CCA ilare presentava margini di resezione negativi, e questo gruppo mostrava una sopravvivenza significativamente maggiore rispetto a quello con margini interessati (42 vs 21 mesi). Nel 40% dei pazienti vi era comunque sviluppo di metastasi, anche a distanza (20%). Va inoltre sottolineato che in questo studio, né il grado di differenziazione né il coinvolgimento linfonodale modificavano la prognosi nel gruppo con margini di resezione indenni (4).

CCA intraepatico. Per quanto riguarda la variante intraepatica, la sopravvivenza a 5 anni del tumore non trattato varia dall'1.6% al 5.1% (9, 10). La maggior parte dei pazienti giunge all'osservazione con uno stadio avanzato di malattia, per cui meno del 20% risulta effettivamente candidabile all'intervento chirurgico(11). Qualora resecabile, la sopravvivenza a 5 anni cresce a valori tra il 18 ed il 36%, che resta comunque molto al di sotto di quella riportata per l'HCC (9, 10, 11). I fattori prognostici di questo tumore rimangono tuttora incerti. Dati recenti segnalano che la positività dei *margini di resezione*, il *coinvolgimento linfonodale*, la presenza di *metastasi intraepatiche*, e l'*invasione vascolare* (vena porta e vene sovraepatiche) rappresentano fattori prognostici sfavorevoli nei pazienti con CCA intraepatico (11). Più recentemente è emerso il ruolo prognostico sfavorevole dell'*invasione perineurale*, che sebbene di frequente riscontro (sino all'80% nelle diverse casistiche) e spesso utilizzata anche come criterio diagnostico, sembra tuttavia identificare forme di CCA intraepatico più aggressive e dovrebbe individuare quelle suscettibili di terapia adiuvante con gemcitabina (12).

CCA extraepatico. La sopravvivenza complessiva del CCA extraepatico, valutata in assenza di trattamento, è di poco superiore a quella dell'intraepatico, essendo stimata attorno al 15% a cinque anni (13). In considerazione della diffusione di malattia al momento della diagnosi, valutata come malattia localizzata, malattia regionale (metastasi linfonodali) e malattia diffusa (metastasi a distanza), la sopravvivenza a cinque anni è rispettivamente del 26.5%, del 12.4% e del 1.3% (13). In caso di indicazione alla resezione chirurgica, la prognosi è diversa a seconda della localizzazione del CCA extraepatico, al terzo superiore rispetto a quella dei terzi medio e distale, rispettivamente (14, 15). Infatti, per i tumori del terzo superiore sottoposti a resezione curativa R0 o palliativa R1 (residuo microscopico sui margini di resezione) la sopravvivenza cumulativa a 5 anni si attesta fra il 20% ed il 30%. Nel caso degli altri trattamenti chirurgici di tipo palliativo, la sopravvivenza è compresa fra il 12% ed il 20% al primo anno, ma crolla al 5% dopo due anni ed è praticamente nulla dopo il quinto anno. Nel caso di altre forme di trattamento palliativo non chirurgiche (drenaggio biliare percutaneo esterno-interno), la sopravvivenza generalmente non supera mai i dodici mesi (16).

Per quanto riguarda invece le neoplasie del terzo medio e del terzo distale, la sopravvivenza attuale a cinque anni per gli stadi I e II (neoplasia confinata al dotto o che coinvolge fegato, colecisti, pancreas o un solo ramo della vena porta) è del 42%, mentre è del 21% per lo stadio IV (coinvolgimento vascolare massivo o interessamento di duodeno, colon, stomaco o parete addominale). Nel caso di interventi palliativi (chirurgici, radiologici o endoscopici), la mediana di sopravvivenza è di circa quindici mesi (16).

Nel CCA extraepatico, a prescindere dalla sua localizzazione prossimale o distale, i fattori prognostici risultano meglio definiti rispetto al CCA intraepatico. Anche in questa forma sono stati riportati come significativi lo stato dei *margini di resezione*, il *coinvolgimento linfonodale*, l'*invasione vascolare* ed anche l'*invasione perineurale*; inoltre, anche il *grado di differenziazione* è stato segnalato come fattore indipendente con forte impatto sulla prognosi (13).

Grado di evidenza

Purtroppo è difficile definire il livello di evidenza perché gli studi sullo staging del CCA si riferiscono a casistiche preoperatorie non omogenee e i dati non sono confrontabili perché riferiti a CCA con localizzazione e morfologia micro/macroscopica diversa (tipo formante massa, tipo intraepatico infiltrante, tumore ilare).

PROSPETTIVE FUTURE

Mancano dei criteri precisi per stabilire, nello staging, il ruolo di nuove tecniche di imaging (PET-TAC) e metodiche invasive (laparoscopia). Inoltre lo staging del CCA necessita di essere rivisitato alla luce dei nuovi protocolli per il trapianto del CCA (17). Pur risultando il sistema TNM di semplice applicabilità clinica, emerge tuttavia forte la necessità di sviluppare un sistema di stadiazione dinamico che tenga in considerazione nuove variabili con impatto significativo sulla prognosi del CCA (6). L'identificazione di nuovi fattori prognostici, in grado di definire in particolare la capacità invasiva del tumore, rappresenta una delle sfide più importanti della ricerca onco-epatologica anche per migliorare la selezione di quei pazienti che possono trarre vantaggio da un appropriato intervento curativo (1, 6, 11).

BIBLIOGRAFIA

1. Blechaz B, et al. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis and treatment. *Hepatology* 2008; 48: 308-21.
2. American Joint Committee on Cancer. In: Fleming ID, Cooper JS, et al. eds. *AJCC cancer staging manual*. Philadelphia: Lippencott-Raven; 1997:109-11.
3. Bismuth H, et al. Intrahepatic cholangioenteric anastomosis in carcinoma of the hilus of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 1975; 140: 170-6.
4. Jarnagin WR, et al. Staging, resectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2001; 234: 507-19.
5. Khan SA, et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314.
6. Klempnauer J, et al. What constitutes long term survival after surgery for hilar cholangiocarcinoma? *Cancer* 1997; 79: 26-34.
7. Burke EC, et al. Hilar cholangiocarcinoma: patterns of spread, the importance of hepatic resection for curative operation, and presurgical staging system. *Ann Surg* 1998; 228: 385-94.
8. Pichlmayr R, et al. Surgical treatment in proximal bile duct cancer. A single-center experience. *Ann Surg* 1996; 224: 628-38.
9. Casavilla FA, et al. Hepatic resection and transplantation for peripheral cholangiocarcinoma. *J Am Coll Surg* 1997; 185: 429-36.
10. Lieser MJ, et al. Surgical management of intrahepatic cholangiocarcinoma: a 31-year experience. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1998; 5: 41-7.
11. Malhi H, et al. Cholangiocarcinoma: modern advances in understanding a deadly old disease. *J Hepatol* 2006; 45: 856-67.
12. Shirai K, et al. Perineural invasion is a prognostic factor in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2008, Sep 16 (ahead of print).
13. Kloek T et al. Surgery for extrahepatic cholangiocarcinoma: predictors of survival. *HPB* 2008; 10: 190-5.
14. Nakeeb A, et al. Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic, perihilar, and distal tumors. *Annals of Surgery* 1996; 224: 463-76.
15. Alden ME, et al. Cholangiocarcinoma: clinical significance of tumor location along the extrahepatic bile duct. *Radiology* 1995; 197: 511-6.
16. Pitt HA, et al. Malignancy of the biliary tree. *Curr Probl Surg* 1995; 32: 1-100.
17. Gores GJ, et al. Cholangiocarcinoma: is transplantation an option? For whom? *J Hepatol* 2007; 47: 454-475.

CAPITOLO 10

L'ENDOSCOPIA NELLA DIAGNOSTICA E TRATTAMENTO DEL COLANGIOCARCINOMA

Nel fondato sospetto di una stenosi neoplastica delle vie biliari, l'esecuzione di una colangiografia retrograda (CPRE) non seguita dal drenaggio delle vie biliari è controindicata per il rischio assoluto di sviluppare una colangite acuta suppurativa iatrogena (livello di evidenza IV) (1,2). L'esame citologico delle stenosi delle vie biliari mediante brushing presenta una sensibilità del 15-67% (3-6) (livello di evidenza I,IV); associando al brushing accessori per il grasping la sensibilità aumenta all'89% (3) (livello di evidenza II). L'esecuzione di biopsie trans-papillari non incrementa sensibilmente i risultati del brushing (7-9) (livello di evidenza IV). La colangioscopia perorale migliora la sensibilità diagnostica delle biopsie endobiliari (10, 11) (livello di evidenza IV) ma, richiede strumenti disponibili in pochi centri.

Di fronte al paziente con ostruzione biliare da CCA, il drenaggio biliare è indiscutibile quando non c'è indicazione alla chirurgia resettiva (raccomandazione di grado B). Ovviamente, le tecniche di drenaggio sono differenti di fronte a stenosi del coledoco distale o ilari. Nei CCA del coledoco distale, numerosi studi hanno analizzato sia le diverse tecniche di drenaggio sia i diversi tipi di protesi utilizzate. Per quanto riguarda la tecnica di drenaggio da utilizzare sono stati pubblicati alcuni studi prospettici randomizzati che hanno paragonato il drenaggio biliare endoscopico, percutaneo e le derivazioni chirurgiche (livello di evidenza II, IV) (12-15). Le percentuali di successo del drenaggio biliare interno, sia esso endoscopico che percutaneo, sono del 95-100% (14,16). Secondo questi studi, il drenaggio endoscopico, quando possibile, è da preferire agli altri due metodi di drenaggio. Una metanalisi ha evidenziato che l'endoscopia è associata ad un minor rischio di complicanze ma ad un maggior rischio di recidiva dell'ostruzione biliare rispetto alle derivazioni chirurgiche (14) (livello di evidenza II). L'approccio percutaneo è riservato ai pazienti in cui fallisce il drenaggio endoscopico.

Per quanto riguarda il tipo di protesi, numerosi studi prospettici randomizzati dimostrano la superiorità delle protesi metalliche rispetto alle protesi di plastica poiché hanno una maggior durata di pervietà ed un minor tasso di ostruzione (16-22) (livello di evidenza II).

Nei CCA localizzati all'ilo epatico con stenosi complesse (tipo II, III e IV secondo la classificazione di Bismuth e Corlette), la questione più dibattuta è relativa alla necessità di dover drenare in maniera completa o parziale l'albero biliare intraepatico. Secondo due studi retrospettivi (23, 24) (livello di evidenza IV) è importante il drenaggio completo dell'albero biliare con una o più protesi. In particolare, il lavoro di Chang (23) mostra come il drenaggio con una sola protesi comporti un'alta incidenza di colangite se si sono opacizzati i due emisistemi epatici ma solo uno viene drenato, mentre i risultati sono "buoni" se si è opacizzato un solo emisistema che è stato poi drenato con una protesi, o se si sono opacizzati i due emisistemi che sono stati poi drenati con due protesi. Quindi le indicazioni che derivano dai due studi retrospettivi (23, 24) sono verso un drenaggio sempre completo, indipendentemente dal numero di protesi, dei dotti che sono stati contaminati dall'opacizzazione. Studi prospettici comparativi evidenziano invece stessi risultati clinici sia per la protesi singola che per le protesi multiple (25,26) (livello di evidenza II, III). Il limite di questi studi prospettici è, tuttavia, l'alta prevalenza nella casistica di pazienti con stenosi di tipo I, in cui una sola protesi assicura comunque un drenaggio completo.

Nelle stenosi complesse dell'ilo epatico il posizionamento di una singola protesi, di plastica o metallica, incannulando selettivamente un dotto intraepatico evitando di opacizzare i restanti dotti biliari

(27, 28) (livello di evidenza IV) sembra ridurre significativamente le complicanze bilio-settiche garantendo un'efficace risoluzione dell'ittero ostruttivo. Gli studi di confronto tra drenaggio endoscopico e drenaggio percutaneo si riferiscono a casistiche di pazienti con ostruzione maligna, prevalentemente della via biliare principale distale. Non esistono studi che confrontino i due approcci nelle stenosi ilari, dove il drenaggio endoscopico completo dei dotti intraepatici nelle stenosi ilari complesse (tipo III e IV) è una procedura più complessa (non ci sono evidenze scientifiche, ma è riconosciuto) dell'approccio percutaneo. La colangio-RMN può fornire un adeguato imaging preoperatorio (vedi capitolo dedicato) e permetterebbe di selezionare i casi da indirizzare ad uno dei due accessi, sulla base della localizzazione dei tratti ostruiti.

Un'altra questione dibattuta è se nei pazienti itterici con CCA resecabili è necessario attuare il drenaggio preoperatorio biliare al fine di ridurre le complicanze della chirurgia resettiva. Il drenaggio preoperatorio è indicato nei pazienti con segni di colangite acuta in atto e nei pazienti che devono essere sottoposti ad epatectomie estese (raccomandazione di grado B). Nei CCA della via biliare principale il drenaggio preoperatorio, sia esso endoscopico che percutaneo, non modifica i risultati della chirurgia (29) (livello di evidenza I). Recentemente alcuni studi retrospettivi hanno evidenziato dei possibili vantaggi del drenaggio preoperatorio nei pazienti con colangite acuta o con scarsa riserva funzionale epatica (30-34) (livello di evidenza IV).

Nei pazienti itterici sottoposti ad epatectomie estese la mortalità operatoria è ancora considerevole, intorno al 10%, e la causa di morte è principalmente rappresentata da "hepatic failure" (35) (livello di evidenza IV). Tali osservazioni indicano che il drenaggio preoperatorio dovrebbe essere raccomandato prima delle epatectomie estese in attesa di chiare evidenze basate su studi prospettici randomizzati.

Riguardo alla procedura più appropriata (percutanea, endoscopica, chirurgica) per il drenaggio preoperatorio, si ritiene che la scelta di uno dei metodi dovrebbe essere eseguita considerando le risorse e l'esperienza degli operatori locali (raccomandazione di grado B) oltre che la localizzazione della/e stenosi per le considerazioni fatte in precedenza. Non ci sono studi che comparano il drenaggio percutaneo, il drenaggio endoscopico ed il drenaggio chirurgico per identificare l'approccio più appropriato in preparazione di un intervento di chirurgia resettiva. Tuttavia nei CCA dell'ilo epatico, dove spesso vi è la necessità di inserire più protesi/drenaggi, l'approccio endoscopico è spesso difficile e gravato da una elevata incidenza di colangiti mentre l'approccio percutaneo sembra essere più efficace e gravato da una minore incidenza di colangiti acute (36-38) (livello di evidenza IV).

Riguardo alle terapie endoluminali, lavori recenti suggeriscono che la brachiradioterapia endoluminale e la terapia fotodinamica incrementano la sopravvivenza dei pazienti sottoposti a drenaggio palliativo (raccomandazione di grado C). Nei pazienti sottoposti a brachiradioterapia endoluminale, soprattutto se associata alla radioterapia esterna e chemioterapia, la sopravvivenza media dei pazienti migliora se comparata retrospettivamente alle curve di sopravvivenza dei pazienti palliati con il solo drenaggio biliare (39-43) (livello di evidenza IV). La terapia fotodinamica prolunga la sopravvivenza dei pazienti trattati riducendo le complicanze infettive nei pazienti con CCA dell'ilo epatico (44-46) (livello di evidenza II, IV).

PROSPETTIVE FUTURE

Riguardo alla diagnostica, necessitano di conferma recenti proposte di alcuni tests (aneuploidia, aberrazioni cromosomiche, IGF1) eseguiti nella bile prelevata in corso di CPRE che dimostrerebbero una notevole accuratezza nella diagnosi di CCA. La conferma di questi dati potrebbe stimolare studi mirati ad usare la bile eventualmente prelevata mediante metodiche mini-invasive a scopo dia-



gnostico su larga scala e non solamente per i pazienti sottoposti a CPRE. Mentre in passato la CPRE era diagnostica e, dopo l'opacizzazione delle vie biliari, doveva essere effettuato il drenaggio, oggi la CPRE è soprattutto terapeutica guidata da precedenti metodiche di imaging. Infatti, come discusso in altro capitolo la colangio-RMN sta assumendo un ruolo sempre più convincente nella selezione dei pazienti e nella metodica da usare per il drenaggio biliare (endoscopico, percutaneo, tipo e numero di protesi). La colangio-RMN consente oggi di studiare l'albero biliare pre-operativamente guidando quindi la decisione sulle strategie terapeutiche e di drenaggio. Al riguardo studi prospettici randomizzati sarebbero comunque auspicabili.

Riguardo alla terapia, risultati recenti dimostrerebbero che la brachiradioterapia endoluminale e la terapia fotodinamica forniscono dei vantaggi in termini di sopravvivenza rispetto al solo drenaggio palliativo. Alla luce di questi risultati, sono necessari studi multicentrici prospettici per validare definitivamente questi trattamenti.

BIBLIOGRAFIA

1. Devière J, et al. Septicemia after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Endoscopy*. 1990 Mar; 22:72-5
2. Motte S, et al. Risk factors for septicemia following endoscopic biliary stenting. *Gastroenterology* 1991; 101:1374-1381
3. Rajagopalan V, et al. Gallbladder and biliary tract carcinoma: a comprehensive update, part 1. *Oncology* 2004; 18:889-896
4. Barr Fritcher EG, et al. Correlating routine cytology, quantitative nuclear morphometry by digital image analysis, and genetic alterations by fluorescence in situ hybridization to assess the sensitivity of cytology for detecting pancreaticobiliary tract malignancy. *Am J Clin Pathol* 2007; 128:272-279
5. Dumonceau J-M, et al. Grasp or brush for biliary sampling at endoscopic retrograde cholangiography? A blinded randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2008; 103:333-340
6. Volmar KE, et al. Pancreatic and bile duct brushing cytology in 1000 cases. Review of findings and comparison of preparation methods. *Cancer Cytopathology* 2008; 108:231-238
7. Domagk D, et al. Endoscopic transpapillary biopsies and intraductal ultrasonography in the diagnostics of bile duct strictures: a prospective study. *Gut* 2002; 51:240-244
8. Tamada K, et al. Endoscopic transpapillary bile duct biopsy with the combination of intraductal ultrasonography in the diagnosis of biliary strictures. *Gut* 2002; 50:326-331
9. Kitajima Y, et al. Usefulness of transpapillary bile duct brushing cytology and forceps biopsy for improved diagnosis in patients with biliary strictures
10. Shah RJ, et al. Cholangioscopy and cholangioscopic forceps biopsy in patients with indeterminate pancreaticobiliary pathology. *Clinical Gastroenterol and Hepatol* 2006; 4:219-225
11. Fukuda Y, et al. Diagnostic utility of peroral cholangioscopy for various bile duct lesions. *Gastrointest Endosc* 2005; 62:374-382
12. Speer AG, et al. Randomised trial of endoscopic versus percutaneous stent insertion in malignant obstructive jaundice. *Lancet* 1987; 2:57-62.
13. Smith AC, et al. Randomised trial of endoscopic stenting versus surgical bypass in malignant low bile duct obstruction. *Lancet* 1994; 344:1655-1660
14. Moss AC, et al. Malignant distal biliary obstruction: a systematic review and meta-analysis of endoscopic and surgical bypass results. *Cancer Treat Rev* 2007; 33:213-221
15. Madoff DC, et al. Palliative treatment of unresectable bile duct cancer: which stent? Which approach? *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11:923-939
16. David PH, et al. Randomized trial of self-expanding metal stents versus polyethylene stents for distal malignant biliary obstruction. *Lancet* 1992; 340:1486-1492
17. Knyrim K, et al. A prospective randomized, controlled trial of metal stents for malignant obstruction of the common bile duct. *Endoscopy* 1993; 25:207-212
18. Prat F, et al. A randomized trial of endoscopic drainage methods for inoperable malignant strictures of the common bile duct. *Gastrointest Endosc* 1998; 47:1-7

19. Kaassis M, et al. Plastic or metal stents for malignant stricture of the common bile duct? Results of a randomized prospective study. *Gastrointest Endosc* 2003; 57:178-182
20. Katsinelos P, et al. Tannenbaum and metal stents in the palliative treatment of malignant distal bile duct obstruction: a comparative study of patency and cost-effectiveness. *Surg Endosc* 2006; 20: 1587-1593
21. Soderlund C, et al. Covered metal versus plastic stents for malignant common bile duct stenosis: a prospective, randomized, controlled trial. *Gastrointest Endosc* 2006; 63:986-995
22. Wagner HJ, et al. Plastic endoprotheses versus metal stents in the palliative treatment of malignant hilar biliary obstruction. A prospective and randomized trial. *Endoscopy* 1993; 25:213-216
23. Chang WH, et al. Outcome in patients with bifurcation tumors who undergo unilateral versus bilateral hepatic duct drainage. *Gastrointest Endosc* 1998; 47:354-362
24. Deviere J, et al. Long-term follow-up of patients with hilar malignant stricture treated by endoscopic internal biliary drainage. *Gastrointest Endosc*. 1988; 34(2): 95-101
25. De Palma GD, et al. Unilateral versus bilateral endoscopic hepatic duct drainage in patients with malignant hilar biliary obstruction: results of a prospective, randomized and controlled study. *Gastrointest Endosc* 2003; 53:547-553
26. De Palma GD, et al. Unilateral placement of metallic stents for malignant hilar obstruction: a prospective study. *Gastrointest Endosc* 2003; 58: 50-53
27. Hintze RE, et al. Magnetic resonance cholangiopancreatography-guided unilateral endoscopic stent placement for Klatskin tumors. *Gastrointest Endosc* 2001; 53:40-46
28. Freeman ML et al. Selective MRCP and CT-targeted drainage of malignant hilar biliary obstruction with self-expanding metallic stents. *Gastrointest Endosc* 2003; 58:41-49
29. Wang Q, et al. Preoperative biliary drainage for obstructive jaundice. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008 Jul 16;(3):CD005444.
30. Povosky SP, et al. Association of preoperative biliary drainage with postoperative outcome following pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg* 1999; 230:131-142
31. Sewnath ME, et al. The effect of preoperative biliary drainage on postoperative complications after pancreaticoduodenectomy. *J Am Coll Surg* 2001; 192:726-734
32. Martignoni ME, et al. Effect of preoperative biliary drainage on surgical outcome after pancreaticoduodenectomy. *Am J Surg* 2001; 181:52-59
33. Pisters PW, et al. Effect of preoperative biliary decompression on pancreaticoduodenectomy: associated morbidity in 300 consecutive patients. *Ann Surg* 2001; 234:47-55
34. Takada T, et al. Is preoperative biliary drainage necessary according to evidence-based medicine? *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2001; 8:58-64
35. Nagino M, et al. Complications of hilar cholangiocarcinoma. *World J Surg* 2001; 25:1277-1283
36. Hochwald SN, et al. Association of preoperative biliary stenting with increased post-operative infectious complications in proximal cholangiocarcinoma. *Arch Surg* 1999; 134:261-266
37. Nagino M, et al. Percutaneous transhepatic biliary drainage in patients with malignant biliary obstruction of the hepatic confluence. *Hepatogastroenterology* 1992; 39:296-300
38. Nimura Y, et al. Technique of inserting multiple biliary drains and management. *Hepatogastroenterology* 1995; 42:323-331
39. Alden ME, et al. The impact of radiation dose in combined external beam and intraluminal Ir-192 brachytherapy for bile duct cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 28:945-951
40. Takamura A, et al. Intraluminal low-dose-rate 192 Ir brachytherapy combined with external beam radiotherapy and biliary stenting for unresectable extrahepatic bile duct carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57:1357-1365
41. Lu JJ, et al. High-dose-rate remote afterloading intracavitary brachytherapy for the treatment of extrahepatic biliary duct carcinoma. *Cancer J* 2002; 8:74-78
42. Deodato F, et al. Chemoradiation and brachytherapy in biliary tract carcinoma: long-term results. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64:483-488
43. Morganti AG, et al. Combined modality treatment in unresectable extrahepatic biliary carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 46:913-919
44. Ortner ME, et al. Successful photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology* 2003; 125:1355-1363
45. Zoepf T, et al. Palliation of nonresectable bile duct cancer: improved survival after photodynamic therapy. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:2426-2430
46. Prasad GA, et al. Factors associated with increased survival after photodynamic therapy for cholangiocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5:743-748

CAPITOLO 11

LA TERAPIA FARMACOLOGICA

Il CCA si caratterizza per una notevole resistenza ai comuni chemioterapici (1, 2). La chirurgia radicale, quando applicabile, rappresenta l'unica terapia efficace. Tuttavia, dato che la diagnosi è spesso tardiva, la terapia chirurgica è proponibile soltanto nella metà dei pazienti. Pertanto, nei pazienti con malattia avanzata, e quindi non resecabili, le opzioni farmacologiche rimangono alquanto limitate. Vari farmaci sono stati testati da soli in CCA non resecabili ed in piccoli studi di fase II (5-fluorouracile, methansulfon-m-anisidide, cisplatino, rifampicina, mitomicina C, paclitaxel, gemcitabina) con risposta parziale di 0-9% e sopravvivenza media di due-dodici mesi. Sicuramente, il 5-fluorouracile è stato il farmaco più usato ma con gli stessi deludenti risultati degli altri farmaci usati in monoterapia (3). Recentemente, il nostro sistema sanitario ha approvato l'uso della Gemcitabina. Nel 2005, una review (4) ha revisionato 13 studi a braccio singolo di fase II che sostengono il ruolo della gemcitabina come alternativa ai trattamenti di supporto. Tuttavia, sono necessari studi controllati e randomizzati per concludere sulla reale ed eventuale entità dell'incremento di sopravvivenza determinata dal farmaco che, peraltro, è dotato di scarsa tossicità. Gli studi riguardanti l'uso del 5-fluorouracile o della gemcitabina in combinazione con altri chemioterapici sono riportati nella Tabella 11.1. Riguardo alle terapie combinate, storicamente, uno degli schemi più usati è stato l'ECF (Epirubicina + cisplatino + 5-Fluorouracile) ma con risultati alquanto deludenti (5). Diversi studi di fase Ib o II hanno valutato l'aggiunta di oxaliplatino/cisplatino, capecitabina, cetuximab o erlotinib alla gemcitabina (6-13). Tra questi studi, l'effetto più consistente sembra essere dato dall'aggiunta di oxaliplatino/cisplatino (livello di evidenza IV) sebbene si tratta sempre di effetti di limitata efficacia visto che nei soggetti trattati la sopravvivenza media rimane sempre di circa dodici mesi. Gli schemi terapeutici più frequentemente usati sono: 1. gemcitabina 1.000 mg/m²/giorno 1 + oxaliplatino 85 mg/m²/giorno 2 ogni due-tre settimane; 2. oxaliplatino (130 mg m²/giorno 1) + capecitabina (1000 mg m²/bid/giorni 1-14) ogni tre settimane; 3. capecitabina+gemcitabina a cicli di tre settimane consistenti in capecitabina 650 mg/m² per os bid per quattordici giorni e gemcitabina 1.000 mg/m² endovena in 30 minuti giorno 1 e 8.

Riguardo ai farmaci biologici, sono in corso studi pilota non ancora pubblicati che stanno valutando l'uso di sorafenib, lapatinib o bevacizumab nel trattamento del CCA non resecabile. In generale, dato che gli studi di biologia cellulare e molecolare hanno chiaramente dimostrato (vedi capitolo 4), in una alta percentuale di CCA, l'attivazione di vie di signalling quali PI3-chinasi e MEK/ERK, di multipli pathways recettoriali (EGF, IGF1, recettori estrogenici, VEGF) e di COX2/PgE₂, vi è un fondamento razionale per testare, in studi pilota, farmaci biologici che agiscono su questi targets. Riguardo alla chemioterapia adiuvante la scarsità dei dati fa sì che al momento attuale non ci sia alcuna evidenza sull'opportunità di procedere a tale terapia dopo la resezione chirurgica (14). In particolare, la chemioterapia con 5-fluorouracile e mitomicina C non migliora la sopravvivenza dei pazienti sottoposti a resezione chirurgica come recentemente osservato in uno studio di fase III (15). Il beneficio della radioterapia adiuvante dopo resezione chirurgica è stato recentemente revisionato (14). Nel complesso si tratta di dati retrospettivi che nel loro insieme mostrerebbero un certo beneficio specie riguardo alla radioterapia a dosi scalari (13). C'è tuttavia da osservare che l'unico studio prospettico (16) nega un reale beneficio della radioterapia dopo resezione chirurgica dei tumori peri-ilari, in termini di sopravvivenza, per cui, ulteriori studi prospettici sono necessari per raggiungere una conclusione definitiva.

Sebbene i dati siano ancora scarsi, esistono alcuni studi (revisionati in ref. # 14) che dimostrerebbe-

ro un lieve ma significativo miglioramento di sopravvivenza per i tumori del coledoco distale sottoposti a resezione chirurgica ed a radio-chemioterapia adiuvante (17).

RADIOTERAPIA

La radioterapia nel CCA é stata valutata utilizzando una varietà di metodi (radioterapia esterna, intraoperatoria, endoluminale, radio-immunoterapia). Riguardo alla radio-terapia endoluminale è stato accennato nel capitolo 10, mentre della radioterapia adiuvante si è discusso nel paragrafo precedente. L'assenza di beneficio della radioterapia applicata da sola a pazienti con CCA non resecabile può essere dedotta da trials tendenti a confrontare varie modalità di trattamento (16).

Tabella 11.1

USO DEL 5-FLUOROURACILE O DELLA GEMCITABINA IN COMBINAZIONE CON ALTRI CHEMIOTERAPICI

| Combinazione farmacologica | Pazienti (n) | Risposta parziale/stabilità di malattia |
|--|----------------------------------|---|
| 5-FU + leucovorina | 28 | 32% |
| 5-FU + cisplatino | 25 | 24% |
| 5-FU + epirubicina + cisplatino | 25 | 40% |
| 5-FU + leucovorina + oxaliplatino | 16 | 56% |
| 5-FU + gemcitabina + leucovorina | 36% vs 22% (gemcitabina da sola) | |
| Docetaxel (trial fase II) | 25 | 20% |
| Rebeccamicina analoghi (trial fase II) | 27 | 45% |
| Gemcitabina + cisplatino | 43 | 33% |
| Gemcitabina + capecitabina | 24 | 73% |

Modificata da ref. # 2.

**BIBLIOGRAFIA**

1. De Groen PC, et al. *N Engl J Med* 1999; 341:1368-1375.
2. Khan SA, et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 8;366(9493): 1303-1314.
3. Falkson G, et al. Eastern Cooperative Oncology Group experience with chemotherapy for inoperable gallbladder and bile duct cancer. *Cancer*. 1984;54:965-9.
4. Dingle BH, et al. The role of gemcitabine in the treatment of cholangiocarcinoma and gallbladder cancer: a systematic review. *Can J Gastroenterol*. 2005; 19(12): 711-716.
5. Lee MA, et al. Epirubicin, cisplatin, and protracted infusion of 5-FU (ECF) in advanced intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004; 130(6): 346-350.
6. Paule B. et al. Cetuximab plus gemcitabine-oxaliplatin (GEMOX) in patients with refractory advanced intrahepatic cholangiocarcinomas. *Oncology*. 2007; 72(1-2):105-110.
7. Yonemoto N, et al. A multi-center retrospective analysis of survival benefits of chemotherapy for unresectable biliary tract cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2007; 37(11): 843-851.
8. Meyerhardt JA et al. Phase-II study of gemcitabine and cisplatin in patients with metastatic biliary and gallbladder cancer. *Dig Dis Sci*. 2008; 53(2): 564-570.
9. Charoentum C. et al. Experience with gemcitabine and cisplatin in the therapy of inoperable and metastatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol*. 2007; 28;13(20): 2852-2854.
10. Lee J. et al. Phase II trial of gemcitabine combined with cisplatin in patients with inoperable biliary tract carcinomas. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2008; 61(1):47-52.
11. Dragovich T, et al. Erlotinib plus gemcitabine in patients with unresectable pancreatic cancer and other solid tumors: phase IB trial. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2007; 60(2):295-303.
12. Yamashita Y, et al. Gemcitabine combined with 5-fluorouracil and cisplatin (GFP) in patients with advanced biliary tree cancers: a pilot study. *Anticancer Res*. 2006 ; 26(1B):771-5.
13. Nehls O. et al. Capecitabine plus oxaliplatin as first-line treatment in patients with advanced biliary system adenocarcinoma: a prospective multicentre phase II trial. *Br J Cancer*. 2008; 29; 98(2): 309-315.
14. Anderson C, et al. Adjuvant therapy for resected extrahepatic cholangiocarcinoma: A review of the literature and future directions. *Cancer Treat Rev*. 2009 Jan 13.
15. Takada T, et al. Study Group of Surgical Adjuvant Therapy for Carcinomas of the Pancreas and Biliary Tract. Is postoperative adjuvant chemotherapy useful for gallbladder carcinoma? A phase III multicenter prospective randomized controlled trial in patients with resected pancreaticobiliary carcinoma. *Cancer*. 2002; 95(8):1685-95.
16. Pitt HA, et al. Perihilar cholangiocarcinoma. Postoperative radiotherapy does not improve survival. *Ann Surg*. 1995 Jun;221(6):788-97;
17. Hughes MA, et al. Adjuvant concurrent chemoradiation for adenocarcinoma of the distal common bile duct. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007 May 1;68(1):178-82.

CAPITOLO 12

LA TERAPIA CHIRURGICA

La terapia chirurgica del CCA varia in maniera sostanziale a seconda che ci si trovi di fronte ad un paziente con tumore intraepatico, ad uno con un tumore dell'ilo (cosiddetto tumore di Klatskin) o ad uno della via biliare extraepatica.

Il livello di evidenza scientifica nel trattamento del CCA è assai basso. Il numero comunque limitato di pazienti e la sostanziale assenza di centri di riferimento terziari hanno reso fino ad oggi impossibile la pianificazione di studi prospettici.

Per questo motivo quasi tutte le raccomandazioni che seguono sono di IV livello, a meno che non sia in altro modo specificato (1).

COLANGIOCARCINOMA INTRAEPATICO

Il CCA intraepatico può prendere origine da qualunque parte del parenchima. In considerazione della presenza di cellule dell'epitelio biliare in tutto il fegato, la terapia chirurgica dei CCA intraepatici ricalca sostanzialmente quella di qualunque altra massa intraepatica di origine neoplastica.

L'aspetto radiologico del tumore è molto spesso simile a quella delle metastasi provenienti dagli altri organi digestivi: questo provoca spesso un sostanziale ritardo nella diagnosi ed una difficoltà nell'approccio terapeutico. Probabilmente molte delle metastasi epatiche definite come provenienti da tumori occulti nel passato, ma ancora oggi, erano e sono in realtà CCA intraepatici. Quando vengono rilevate lesioni con aspetto caratteristico di metastasi epatiche, quando l'aspetto istologico è di adenocarcinoma, quando la gastroscopia e la colonscopia non rilevano lesioni patologiche e quando la radiologia convenzionale non mostra masse o altri aspetti patologici intraaddominali, allora è doveroso pensare alla presenza di un CCA intraepatico.

Una diagnosi più consistente può essere eseguita solo con la valutazione immunoistochimica sulla biopsia o sul pezzo operatorio dopo intervento chirurgico.

Nel caso di diagnosi incerta o dubbia l'intervento chirurgico è comunque indicato e, se possibile, deve essere eseguita la resezione epatica.

Il ruolo della PET e della stadiazione laparoscopica Nei pazienti con CCA queste tecniche hanno dimostrato un'alta sensibilità (93%) nel verificare la presenza di CCA intraepatico, In particolare, la PET appare molto sensibile (100%) nel dimostrare la presenza di metastasi a distanza, ma insufficiente (12%) nella diagnosi di linfadenomegalie loco regionali (2).

Al contrario, la laparoscopia è molto sensibile nel verificare la presenza di metastasi peritoneali e a distanza, ma insoddisfacente nel diagnosticare metastasi linfonodali o invasione vascolare (2)

Terapia chirurgica

La terapia chirurgica si basa sull'esecuzione di una resezione epatica che consenta di asportare in maniera completa la massa neoplastica con un margine di parenchima sano circostante, quando possibile. L'esecuzione dell'intervento deve essere preceduto da una stadiazione finale del fegato con l'uso dell'ecografia intraoperatoria, al fine di evidenziare la possibile presenza di ulteriori localizzazioni sconosciute alle indagini preoperatorie e per guidare la strategia della resezione.

La spiccata diffusione linfatica del CCA impone che le resezioni siano associate almeno ad una linfadenectomia di primo livello (del peduncolo epatico) a scopo di stadiazione. I risultati a distanza

degli interventi chirurgici variano infatti in maniera sostanziale a seconda della presenza di linfonodi patologici o meno. Non vi sono dati che mostrano che l'esecuzione della linfadenectomia modifichi in maniera sostanziale la sopravvivenza degli ammalati operati. Tuttavia l'esecuzione della linfadenectomia consente di evidenziare i pazienti a particolare rischio di ripresa di malattia che richiedono un'osservazione più intensa o la valutazione per trattamenti particolari (raccomandazione di grado C1).

COLANGIOCARCINOMA DELL'ILO (c.d. Tumore di Klatskin)

Per molti anni la presenza di un CCA dell'ilo ha rappresentato una controindicazione assoluta all'esecuzione di un qualsiasi intervento chirurgico. La difficoltà nella valutazione diagnostica e nell'esecuzione tecnica ed i modesti risultati ottenibili a distanza hanno portato il T. di Klatskin a rappresentare un'entità nosologica da non operare. Solo la costanza nel raggiungimento dei risultati, ottenuta principalmente dalla scuola giapponese, ha imposto al mondo la possibilità di trattare questi pazienti con risultati anche soddisfacenti (4).

I presupposti all'intervento sono stati la quasi perfetta conoscenza dell'anatomia vascolare e biliare intraepatica nonché una tecnica chirurgica estremamente meticolosa e nella quale la variabile "tempo" ha avuto un'importanza trascurabile. Nel mondo occidentale i primi centri ad intraprendere con spessore questa terapia chirurgica sono stati quelli estremamente più avanzati, dove si sviluppavano le frontiere del trapianto di fegato avanzato e della chirurgia epatica maggiore.

Deve però essere segnalato che ancora oggi numerosi pazienti con CCA dell'ilo non usufruiscono di una valutazione diagnostico terapeutica soddisfacente, nell'erronea considerazione che con una qualunque delle terapie proponibili sia possibile ottenere solo risultati insoddisfacenti. Anche se non ancora valutabile in termini assoluti, vi è la diffusa sensazione che la terapia endoscopica palliativa sia considerata come la terapia definitiva per questi pazienti. Al contrario, una valutazione effettuata in centri chirurgici di riferimento terziario può portare a modificare l'atteggiamento terapeutico, con la possibilità di ottenere buoni risultati sia in termine di palliazione che di sopravvivenza a distanza dei pazienti trattati con la chirurgia.

Due sono infatti gli obiettivi di un possibile intervento chirurgico:

- a) prolungare la sopravvivenza del paziente rimuovendo il tumore;
- b) migliorarne la qualità della vita riducendo i problemi tecnici legati al posizionamento di protesi o stent biliari.

Valutazione pre-operatoria

La stadiazione di un T. di Klatskin è radiologica. L'ecografia deve confermare la dilatazione delle vie biliari ed evidenziare la presenza di eventuali noduli intraparenchimali. La TC deve essere eseguita con il mezzo di contrasto e con la ricostruzione dell'anatomia vascolare arteriosa e portale all'ilo. L'indagine:

- I. conferma la dilatazione dell'albero biliare;
- II. mostra se è visibile una dilatazione "prevalente" fra i due emifegati;
- III. evidenzia la presenza di noduli metastatici all'interno del fegato;
- IV. può rilevare la presenza di masse all'ilo epatico;
- V. mostra la presenza di possibili alterazioni delle strutture vascolari dell'ilo;
- VI. mostra la presenza di possibili alterazioni macroscopiche dei volumi dei due emifegati;

Qualora una prima TC eseguita all'inizio dell'iter diagnostico non riportasse le informazioni necessarie, è utile ripeterne una seconda più completa.

La PET ha dimostrato solo una sensibilità moderata (55%) nella diagnosi di CCA dell'ilo epatico (2).

È sempre necessario uno studio radiologico della via biliare, che può essere condotto con la colangio-RM, con la CPRE o con PTC). È necessario tentare di visualizzare tutto l'albero biliare tentando di identificare l'estensione del tratto interessato dalla malattia. Bisogna ricordare che la PTC e la CPRE sono metodiche che consentono sia di ottenere informazioni diagnostiche che eseguire un trattamento palliativo dell'ittero.

Le indagini vanno scelte in base alle possibilità logistiche e professionali locali. Il posizionamento di materiale endobiliare può alterare la qualità delle informazioni ottenibili con la TC o con la colangio-RM e deve essere pertanto concordato con i clinici, in particolare i chirurghi, che valuteranno il paziente per il trattamento.

Il drenaggio pre-operatorio

Vi sono sostanzialmente tre modalità per drenare la via biliare nei pazienti con tumore di Klatskin: per via percutanea o per via endoscopica attraverso il posizionamento di stents o di sondini nasobiliari.

La necessità di eseguire un drenaggio preoperatorio è un argomento ancora aperto per pazienti portatori di tumore di Klatskin, malattia per la quale solitamente vengono eseguite epatectomie maggiori con la possibilità di complicanze maggiori.

La presenza di una colangite preoperatoria è uno dei fattori prognostici sfavorevoli dopo epatectomia maggiore per neoplasia della via biliare (5). Tuttavia, non vi sono studi prospettici randomizzati che chiariscono con certezza quali siano fattori che aumentano la sicurezza delle epatectomie eseguite per Klatskin. La potenziale dannosità dell'ittero ostruttivo è stata verificata solo in studi sperimentali. Tali studi hanno rilevato che il drenaggio interno della bile è sicuramente superiore a quello esterno in termini di rigenerazione epatica post resezione. Infatti il valore del rimpiazzo della bile durante il drenaggio biliare esterno può portare al miglioramento delle funzioni della barriera intestinale migliorando il danno fisico nella mucosa intestinale.

Anche la valutazione sul fatto se sia necessario drenare solo il sistema biliare interessato dall'ostruzione e se sia necessario drenare entrambi gli emisistemi biliari ha portato a conclusioni non univoche.

Tuttavia bisogna considerare che l'esecuzione di un drenaggio della via biliare porta ad acquisire ulteriori informazioni (sicuramente superiori a quella della colangio-RM) sulla diffusione della neoplasia all'interno della via biliare. Questo aspetto deve essere considerato accuratamente nella valutazione del paziente.

Cinque studi prospettici e randomizzati sull'uso del drenaggio biliare preoperatorio, che hanno incluso più di 300 pazienti, non hanno dimostrato alcuna influenza sulla sopravvivenza nei pazienti che sono poi stati operati, mentre tutti hanno rilevato un aumento della morbilità e della degenza ospedaliera. Una successiva metanalisi (6) di 18 ulteriori lavori con livello di evidenza II (coorti di pazienti non randomizzati) che includeva circa 3000 pazienti ha mostrato risultati analoghi, non mostrando alcun beneficio e confermando l'aumento delle complicanze. Se l'analisi veniva condotta non considerando le complicanze strettamente correlate con l'uso del drenaggio biliare, allora il drenaggio portava qualche beneficio ai pazienti, anche se venivano considerati pazienti con patolo-

gie sia maligne che benigne che erano localizzate spesso nella via biliare distale: per questo motivo molti dei pazienti analizzati non ricevevano poi un intervento di resezione epatica e quindi non fornivano informazioni applicabili ai pazienti con CCA dell'ilo. Tuttavia, questi studi chiaramente indicavano che il drenaggio biliare è associato con complicanze specifiche che superano i benefici della tecnica.

La sepsi è la complicanza principale del posizionamento dei drenaggi biliari. L'insorgenza di colangite viene riportata fra il 20% ed il 60% e può compromettere il risultato dell'eventuale, successivo intervento chirurgico, mentre la percentuale di infezioni scende all'8% nei pazienti operati senza drenaggio. Questo può essere messo in relazione con l'incremento di infezioni postoperatorie, come gli ascessi.

Il drenaggio preoperatorio, in particolare quello esterno, incrementa il rischio di colangite nei pazienti con tumore di Klatskin. Tuttavia, è anche vero che la colangite secondaria all'ostruzione può e deve essere trattata con un drenaggio.

L'impianto di metastasi può avvenire in una percentuale di pazienti sino al 6%. Sono state descritte anche metastasi peritoneali e pleuriche (7). Questi problemi possono ovviamente compromettere il risultato della procedura dal punto di vista oncologico.

Infine, bisogna ricordare che il coleperitoneo e l'emobilia possono rappresentare altre complicanze dei pazienti sottoposti a PBD.

Definizione di intervento

L'asportazione di un T. di Klatskin prevede l'asportazione dell'emifegato che sottende al dotto principale (destro o sinistro) che è omologo al lato dove la stenosi si esprime prevalentemente. Per ragioni anatomiche l'intervento da eseguire in questi pazienti è necessariamente un'epatectomia sinistra o un'epatectomia destra. La classificazione di Bismuth (8) è sicuramente d'aiuto nell'impostazione della strategia operatoria.

È ormai stato dimostrato che la neoplasia si può estendere nelle pareti di vie biliari macroscopicamente indenni, favorendo in questo modo l'insorgenza di una recidiva post-operatoria precoce. Il caso più tipico è rappresentato dal lobo caudato, le cui vie biliari possono drenare direttamente nella confluenza principale o in uno dei due dotti (sinistro o destro). Per tale motivo l'epatectomia maggiore da dover eseguire deve essere sempre associata alla rimozione del lobo caudato (raccomandazione di grado C1).

Infine, in alcune situazioni, in rapporto alla stadiazione oncologica della malattia, può essere necessario asportare in parte o completamente i segmenti epatici contigui all'emifegato da asportare (il IV nel caso si debba eseguire l'epatectomia destra o il paramediano destro, cioè il V e l'VIII, nel caso si debba eseguire l'epatectomia sinistra).

Queste considerazioni evidenziano come gran parte degli interventi eseguiti ad intento radicale per l'asportazione di T. di Klatskin siano epatectomie maggiori con ampie decurtazioni di parenchima.

Il volume del fegato

La valutazione con la volumetria ottenibile con la TC permette di poter fare delle previsioni sull'entità della massa parenchimale da asportare e, di conseguenza, del volume del fegato residuo dopo la resezione epatica. Sono state valutate, per i pazienti senza epatopatie croniche, diversi indici che consentano di calcolare la massima percentuale di fegato da asportare in sicurezza (9, 10) (raccomandazione di grado B).



Il volume totale del fegato può essere calcolato alla volumetria eseguita alla TC secondo la seguente formula:

$$\text{Volume totale del fegato (cm}^3\text{)} = -794.41 + (1267.28 \times \text{superficie corporea})$$

Questa formula si è dimostrata la più utile ed affidabile in una recente metanalisi (11).

È stato ipotizzato che pazienti con funzione del fegato nella norma possono essere sottoposti a resezioni epatiche che asportino fino al 60% di parenchima sano (9, 10); tuttavia, questo limite può anche essere superato con una certa sicurezza per il paziente in diverse circostanze cliniche (12). In questo senso è stato possibile ottenere considerevoli dati dall'attività di trapianto di fegato da donatore vivente (13, 14).

La possibilità di eseguire l'embolizzazione di uno dei rami principali della vena porta per indurre l'ipertrofia compensatoria dell'emifegato controlaterale (15, 16, 17) incrementa di fatto la possibilità di eseguire resezioni estese e può contribuire a ridurre il rischio di insufficienza epatica post-operatoria. L'embolizzazione portale deve essere considerata quando si pianifichi l'esecuzione di una resezione maggiore che decurti fino al 50-60% del volume del fegato, in particolare se il paziente è cirrotico (raccomandazione di grado C1).

Resezioni vascolari

A causa della disposizione anatomica delle strutture vascolari all'ilo epatico, l'infiltrazione neoplastica della parete della vena porta può essere una situazione di fronte alla quale il chirurgo può trovarsi con una certa facilità. La resezione del vaso può quindi essere indispensabile per raggiungere una radicalità oncologica. L'infiltrazione tumorale della vena porta nel CCA dell'ilo determina spesso la reseccabilità globale della malattia ed il tipo di resezione da effettuare (18). La manovra è impegnativa dal punto di vista della tecnica chirurgica, ma può contribuire a ottenere risultati a distanza superiori rispetto ai pazienti non operati (Livello IV). La procedura dovrebbe quindi essere eseguita quando necessaria per l'esecuzione della resezione epatica (raccomandazione di grado C1).

Le infezioni

L'infezione rappresenta il principale problema dei pazienti dopo un eventuale intervento chirurgico. La principale fonte di infezione è rappresentata dalla flora batterica secondaria alla stasi biliare che si viene a formare all'interno delle vie stenotiche che hanno perso la comunicazione con l'albero biliare principale. La possibilità di dover eseguire resezioni estese (epatectomie maggiori o epatectomie maggiori allargate) predispone, da sola, al rischio di insufficienza epatica post-operatoria. Questa situazione è, a sua volta, del tutto correlata con la predisposizione all'insorgenza di infezioni, che rappresentano la principale concausa favorente il decesso dei pazienti.

Per tale motivo è necessario portare i pazienti all'intervento con la minore carica infettiva possibile. Ciò può essere reso possibile instaurando una terapia antibiotica mirata (da esami colturali) al momento dell'intervento chirurgico o prima se presente colangite o posizionando cateteri biliari percutanei o endoscopici che consentano di drenare la bile all'esterno rimuovendo la stasi causa principale dell'infezione. Un unico studio prospettico randomizzato (19) ha dimostrato che la somministrazione di antibiotici prima e dopo l'intervento chirurgico riduce il tasso di infezioni postoperatorie rispetto al solo trattamento postoperatorio (livello II). Deve essere tenuto ben presente che spesso le colangiti e le specie batteriche che le sostengono sono uno dei fattori prognostici più importanti capaci di determinare l'evoluzione sfavorevole della neoplasia indipendentemente dagli altri elementi (dimensioni, differenziazione, ecc.).

Il rischio post-operatorio

La mortalità post-operatoria nei pazienti che vengono operati di resezione epatica per neoplasia dovrebbe essere inferiore all'1%. Tuttavia per i pazienti operati per T. di Klatskin viene generalmente riportata una mortalità superiore. Questi pazienti ricevono infatti un'epatotomia estesa con rimozione del lobo caudato e la costruzione di una derivazione bilio digestiva sec. Roux. Eccellenti risultati vengono riportati dagli Autori giapponesi, con mortalità che vanno dal 3 al 9.6% (20, 21), mentre nelle serie pubblicate da Centri occidentali la mortalità si aggira intorno al 7-10% (22).

Gli interventi chirurgici palliativi

Non vi è dubbio che per pazienti con aspettativa di vita inferiore ai sei mesi, la terapia palliativa consiste nei trattamenti effettuati per via percutanea o per via endoscopica. Non vi è invece una definizione univoca del ruolo della terapia chirurgica di palliazione nei pazienti con aspettativa di vita superiore che presentano delle neoplasie localmente avanzate. In questi casi i risultati della chirurgia sono gli stessi in termine di mortalità e morbidità rispetto ai trattamenti medici.

COLANGIARCINOMA DELLA VIA BILIARE EXTRAEPATICA

I CCA possono insorgere anche nella via biliare extraepatica sia nel tratto compreso tra confluenza del dotto cistico e margine pancreatico superiore, sia nel tratto intrapancreatico del coledoco. In questo ultimo caso la terapia è del tutto simile a quella delle neoplasie della testa del pancreas e nella maggior parte dei casi si identifica con l'esecuzione di una duodenocefalopancreasectomia (DCP). Gran parte dei pazienti presentano come primo sintomo l'ittero. Non è sempre necessario provvedere a drenare la bile in previsione dell'intervento chirurgico, in particolare se il livello di bilirubinemica è inferiore ai 10 mg/dl. Questa strategia non porta particolari svantaggi: in altre parole, il drenaggio preoperatorio non diminuisce il rischio perioperatorio.

La duodenocefalopancreasectomia è indicata per queste forme tumorali (raccomandazione grado C1).

I RISULTATI A DISTANZA

I CCA sono tumori assai aggressivi ed in particolare lo sono quelli della confluenza biliare. Su questi ultimi grava anche l'aspetto di difficoltà nella diagnosi e nel trattamento. Inoltre, a causa della loro complessità clinica e della loro relativa rarità, vi sono pochi ospedali che fungono da centri di riferimento terziari.

La sopravvivenza dei pazienti non operati e trattati in via sintomatica con il posizionamento di protesi biliari non supera, generalmente, l'anno.

I fattori di prognosi negativa dopo resezione epatica effettuata per CCA dell'ilo sono il rilievo di malattia nella sezione di resezione della via biliare, la presenza di linfonodi metastatici, la presenza di invasione dei tessuti perineurali e la necessità di aver dovuto eseguire una resezione combinata della vena porta o dell'arteria epatica a causa dell'infiltrazione neoplastica.

La sopravvivenza dei pazienti operati è intorno al 50% dopo tre anni dall'intervento e del 35% dopo cinque anni.



Tabella 12.1

POSSIBILI CONTROINDICAZIONI ALL'INTERVENTO CHIRURGICO

COMORBIDITÀ MEDICHE MAGGIORI

Metastasi extraepatiche
 Metastasi a distanza (fegato + altri organi)
 Metastasi linfonodali del peduncolo (vena porta, arteria epatica, peripancreatiche, del tripode celiaco)

COINVOLGIMENTO VASCOLARE MAGGIORE

Trombosi/infiltrazione significativa del tronco comune della vena porta o della vena mesenterica superiore
 Infiltrazione dell'arteria mesenterica superiore
 Infiltrazione dell'arteria epatica propria o della comune

Figura 12.1

STADIAZIONE PRE-OPERATORIA DEL COLANGIOCARCINOMA

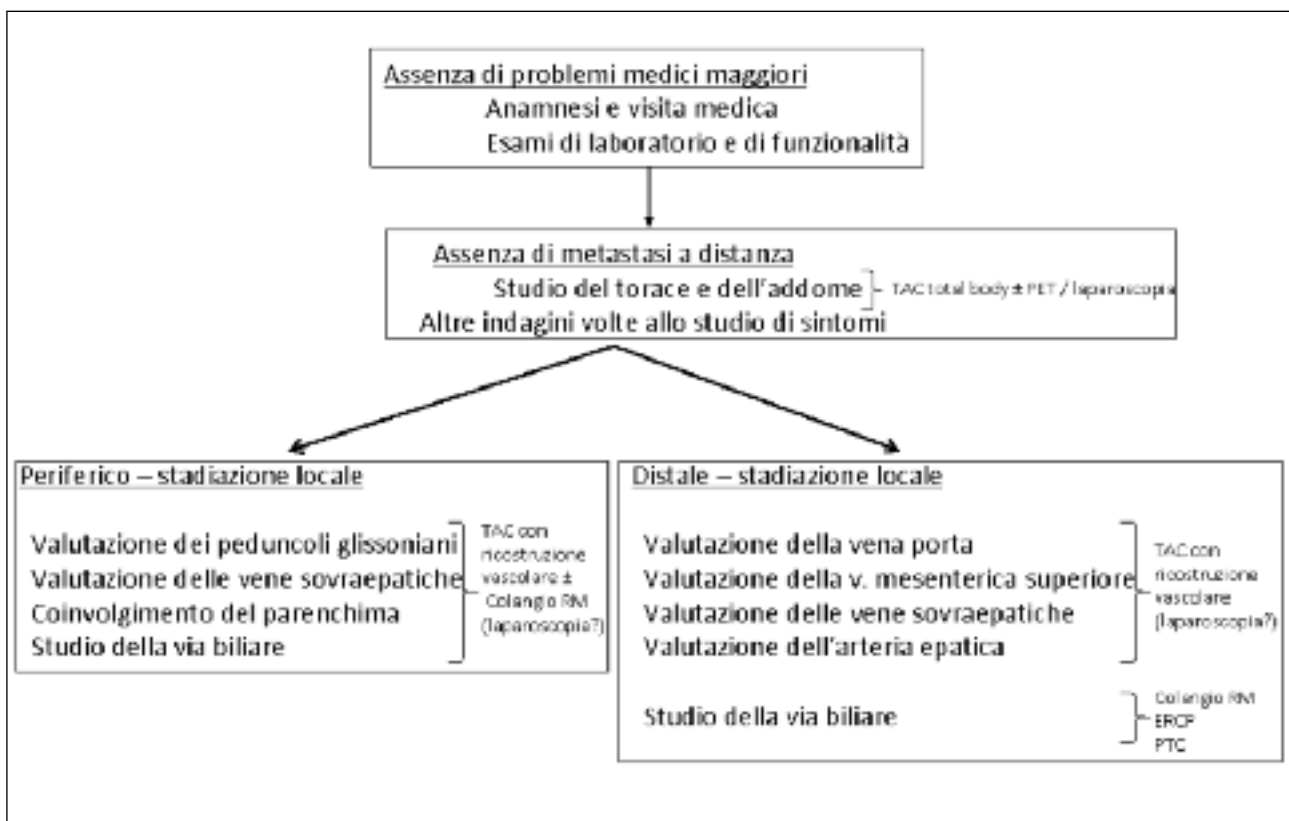


Tabella 12.2**POSSIBILI CONTROINDICAZIONI ALL'INTERVENTO CHIRURGICO****COMORBIDITÀ MEDICHE MAGGIORI**

Metastasi a distanza

Metastasi non satelliti intraepatiche

Metastasi linfonodali del peduncolo (vena porta, arteria epatica, peripancreatiche, del tripode celiaco)

Metastasi a distanza in altri organi/altre sedi

INTERESSAMENTO LOCALE MAGGIORE

Coinvolgimento bilaterale (o controlaterale) della vena porta (resecabile solo in alcune situazioni);

Infiltrazione dell'arteria epatica

Infiltrazione delle vie biliari di second'ordine

Insufficiente volume del fegato residuo

Volume del fegato residuo < 30% in paziente con parenchima normale (non ipertrofizzato)

< 2 segmenti rimanenti contigui con sufficiente flusso portale e arterioso, adeguato scarico venoso e drenaggio biliare autonomo.

BIBLIOGRAFIA

1. Kondo S, et al. Guidelines for the management of biliary tract and ampullary carcinomas: surgical treatment. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* (2008) 15:41–54
2. Goere D, et al. Utility of staging laparoscopy in subsets of biliary cancers. *Surg Endosc* 2006; 20: 721-5. Schulick RD, et al. Criteria of unresectability and the decision-making process HPB, 2008; 10: 122-125
3. Grazi GL et al. Liver resections: complications and survival outcome. *Expert Rev Pharmacoeconomics Outcomes Res* 2007; 7(3): 269–279
4. Kanai M, et al. Preoperative intrahepatic segmental cholangitis in patients with advanced carcinoma involving the hepatic hilus. *Surgery* 1996; 119: 498-504.
5. Sewnath ME, et al. A meta-analysis on the efficacy of preoperative biliary drainage for tumors causing obstructive jaundice. *Ann Surg* 2002; 236: 17-27.
6. Sakata J, et al. Catheter tract implantation metastases associated with percutaneous biliary drainage for extrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7024-7.
7. Bismuth H, et al. Management strategies in resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 1992; 215: 31–8.
8. Kubota K, et al. Measurement of liver volume and hepatic functional reserve as a guide to decision making in resectional surgery for hepatic tumors. *Hepatology* 1997; 26(5): 1176–1181.
9. Vauthey JN, et al. Standardized measurement of the future liver remnant before extended liver resection: methodology and clinical associations. *Surgery* 2000; 127: 512–519.
10. Johnson TN, et al. Changes in liver volume from birth to adulthood: a meta analysis. *Liver Transpl* 2005; 11(12): 1481–1493.
11. Truant S, et al. Remnant liver volume to body weight ratio $\geq 0.5\%$: a new cut-off to estimate postoperative risks after extended resection in noncirrhotic liver. *J Am Coll Surg* 2007; 204(1): 22–33.
12. Kiuchi T, et al. Impact of graft size mismatching on graft prognosis in liver transplantation from living donors. *Transplantation* 1999; 67(2): 321–327.
13. Fan ST, et al. Safety of donors in live donor liver transplantation using right lobe grafts. *Arch Surg* 2000; 135(3): 336–340.
14. Makuuchi M, et al. Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: a preliminary report. *Surgery* 1990; 107(5): 521–527.
15. Imamura H, et al. Preoperative portal vein embolization: an audit of 84 patients. *Hepatology* 1999; 29(4): 1099–1105.



16. Azoulay D, et al. Percutaneous portal vein embolization increases the feasibility and safety of major liver resection for hepatocellular carcinoma in injured liver. *Ann Surg* 2000; 232(5): 665–672.
17. Jarnagin WR, et al. Staging, resectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2001; 234: 507–17.
18. Sugawara G, et al. Perioperative synbiotic treatment to prevent postoperative infectious complications in biliary cancer surgery. A randomized controlled trial. *Ann Surg* 2006; 244: 706-714.
19. Ebata T, et al. Hepatectomy with portal vein resection for hilar cholangiocarcinoma: audit of 52 consecutive cases. *Ann Surg* 2003; 238(5): 720–727.
20. Nagino M, et al. One hundred consecutive hepatobiliary resections for biliary hilar malignancy: preoperative blood donation, blood loss, transfusion, and outcome. *Surgery* 2005; 137(2): 148–155.
21. Tsao JI, et al. Management of hilar cholangiocarcinoma: comparison of an American and a Japanese experience. *Ann Surg* 2000; 232(2): 166–174.

CAPITOLO 13

CCA E TRAPIANTO DI FEGATO

L'esperienza nel trapianto di fegato per CCA è limitata. Non sono stati condotti studi randomizzati controllati, e pertanto il livello di evidenza è basso. Possiamo quindi solo limitarci a fare una rapida revisione del problema, indicando gli elementi a favore e contro l'utilizzo del trapianto di fegato in questa patologia(1-8).

All'inizio dell'era del trapianto, il CCA ilare era tra le indicazioni accettate. Successivamente, però, i risultati deludenti su questa patologia oncologica, particolarmente se raffrontati con gli ottimi risultati ottenuti in pazienti con indicazioni benigne, hanno portato a non considerare più il CCA come una indicazione al trapianto.

Si è tuttavia continuato ad effettuare casi sporadici, tentando anche una serie di innovazioni chirurgiche. Per migliorare la riuscita del trattamento sono state intraprese misure più aggressive, quali trapianto di organi addominali in *cluster*, resezione estesa dei dotti biliari e terapie adiuvanti e neoadiuvanti come brachiterapia, chemioterapia sistemica e radioterapia, spesso combinate nello stesso protocollo terapeutico. Il numero di centri al mondo che applicano tali strategie è ridotto. In accordo con le linee guida AASLD ed AISF, il trapianto per pazienti con CCA dovrebbe essere limitato a pochi centri con *trial* clinici ben definiti.

Questa sperimentazione dovrebbe continuare perchè il trapianto per CCA presenta in teoria vantaggi netti. Permette di evitare le limitazioni chirurgiche all'operazione e la microinfiltrazione dei margini di resezione, e parallelamente consente di trattare i tumori bilobarici. Inoltre, il trapianto potrebbe rappresentare l'opzione chirurgica principale per i pazienti con CSP e nei pazienti cirrotici. Ovviamente il trapianto nel CCA presenta anche degli svantaggi. All'infuori di serie di pazienti altamente selezionati, l'*outcome* non è così robusto come per altre indicazioni al trapianto e, dato lo scarso numero di donatori, il ricorso al trapianto appare per molti inaccettabile. Inoltre, dovuto all'immunosoppressione post-trapianto, vi è un alto rischio di recidiva tumorale. Tuttavia, proprio come il trapianto per HCC fu inizialmente associato a risultati particolarmente deludenti, vi è ragione di credere che con appropriati criteri di selezione, miglioramento dei protocolli terapeutici e degli studi prospettici, l'indicazione al trapianto per CCA diventi più accettata nella pratica clinica. È auspicabile un miglioramento dell'*outcome* aggiungendo ai fattori di rischio noti per la recidiva tumorale, quali età, infiltrazione dei linfonodi regionali, distribuzione bilobare e infiltrazione vascolare, nuovi fattori di rischio da individuare mediante studi prospettici.

In un contesto storico, prima del 2000 solo pochi studi si sono occupati del problema del trapianto per CCA e, come già accennato, i risultati sono stati deludenti. Il maggior studio condotto su serie ELTR che comprendeva 186 casi di CCA, dimostrò una sopravvivenza del 58% ad un anno e solo del 29% a cinque anni(9). Ciò è confrontato con studi minori di King, Hannover e UPMC (n=13, 25 e 27), con *outcome* ad un anno tra il 30% ed il 59% e a cinque anni tra il 10% ed il 17%. Dopo il 2000, tre altri *trial* di Mayo Clinic, UCLA e Spagna hanno dato sopravvivenza deludente a cinque anni, tra 0 e 36%, anche se si deve considerare la scarsa numerosità delle popolazioni indagate (4,5,6,9).

Gli studi del gruppo della Mayo Clinic (5,6), sono i primi a presentare risultati che superano i riferimenti di sopravvivenza attualmente accettati. Una selezione molto accurata di 38 pazienti con CCA ilare è stata seguita da un rigido protocollo di trattamento. I pazienti includevano CCA ilari non resecabili o insorti nel contesto di CSP. I tumori presentavano dimensioni radiali minori di tre centimetri, in assenza di metastasi.

La diagnosi fu stabilita da uno dei seguenti criteri: citologia da *brushing* o biopsia, CA 19-9 > 100 mg/dl nel contesto di restringimento maligno radiografico o aneuploidia biliare dimostrata con DIA e FISH. Ogni soggetto fu studiato tramite TC torace e addome, ecografia epatica, *scan* osseo, ecoendoscopia con FNAC dei linfonodi sospetti e FDG-PET. Non era consentita la biopsia. I criteri di esclusione includevano infatti: pregresse chemioterapia o radioterapia, infezione incontrollata, pregressa neoplasia maligna nei cinque anni precedenti, comorbidità severa, malattia extraepatica (comprese metastasi ai linfonodi regionali), biopsie operative e pregressi tentativi di resezione.

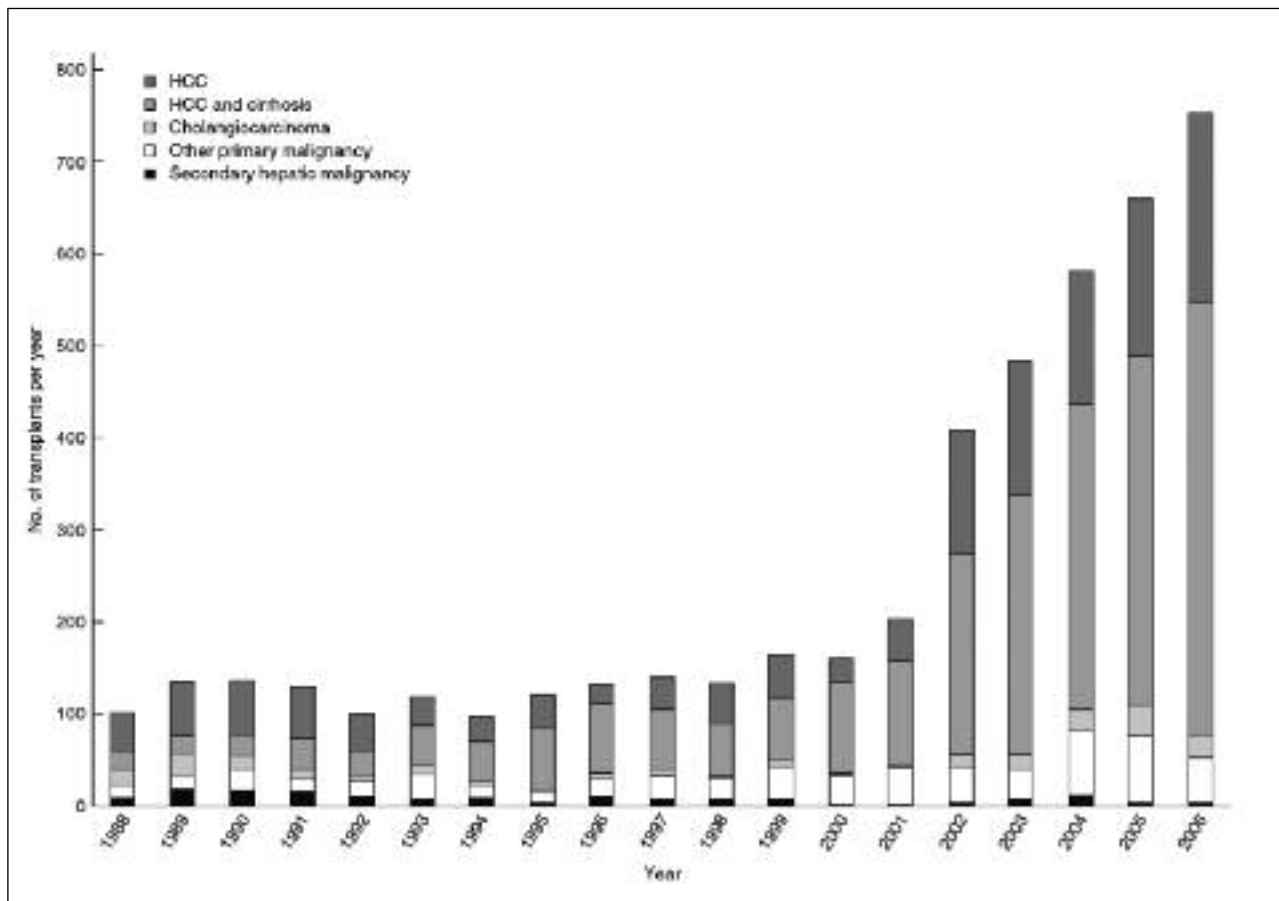
Il protocollo terapeutico fu descritto come segue: radioterapia a raggi esterni (4500 cGy, 150 cGy) due volte al giorno con chemioterapia 5-FU (500 mg/sqm/d) per tre giorni. In seguito brachiterapia (2000-3000 cGy ad un raggio di 1 cm) e ulteriore chemioterapia infusiva con 5-FU (225 mg/sqm/d) od orale con Capecitabina (2000 mg/sqm/de) continuate fino al trapianto. I soggetti furono poi sottoposti a laparotomia esplorativa secondo questo protocollo: incisione subcostale destra o bilaterale; esplorazione addominale accurata con biopsia di tutti i noduli e linfonodi anormali, palpazione dell'ilo per determinare l'estensione inferiore del tumore; esame del caudato per valutare la reseccabilità con epatectomia con risparmio della cava; biopsia dei linfonodi sovrastanti l'arteria epatica comune e l'origine dell'arteria gastroduodenale e altri lungo il dotto biliare comune sopra il duodeno; metastasi extraepatiche e linfonodali ed estensione locale di malattia ad organi o tessuti adiacenti che precludano il trapianto.

71 pazienti furono coinvolti nello studio; 9 furono inizialmente esclusi per diffusione di malattia o per decesso. 62 furono sottoposti a stadiazione tramite laparotomia e infine 38 furono trapiantati. Alla laparotomia 14 soggetti presentavano malattia metastatica. Dopo un *follow-up* di dodici mesi, il 92% era ancora in vita e la sopravvivenza a cinque anni era dell'82%.

In conclusione, il trapianto di fegato per CCA è tutt'ora un progetto in corso e vi è la necessità di ulteriori *trial* clinici per valutare come migliorare l'*outcome* di un tumore così aggressivo. Vi è accordo sull'idea che i futuri *trial* debbano incorporare rigidi criteri di selezione e l'uso di molteplici terapie coadiuvanti. Una piattaforma per questo protocollo è stata sviluppata dalla Mayo Clinic ed i dati preliminari, come abbiamo visto, suggeriscono che il trapianto per questa indicazione non solo è possibile, ma che i risultati a cinque anni possono essere pari a quelli per altre indicazioni, maligne e non. Progressi in questo campo sono possibili incorporando modifiche al protocollo sia pre- che post-trapianto e investigando nuove vie riguardo la natura biologica del CCA ed utilizzando la PET-TC nella fase di stadiazione e forme "tailored" di immunosoppressione.



Figura 13.1
NUMERO DI TRAPIANTI PER TUMORE EPATICO NEGLI USA DAL 1988 AL 2006





BIBLOGRAFIA

1. Kahn SA, et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet*. 2008; 366: 1303-1314.
2. Jonas S, et al. The perspective of liver transplantation for cholangiocarcinoma. *Liver Transplantation* 2007; 13: 1358-1361.
3. Jonas S, et al. Extended indications in living donor liver transplantation: bile duct cancer. *Trasnplantation* 2005; 80: S101-S104.
4. Knight SL, et al . Role of transplantation in the management of hepatic maliganct. *British Journal of Surgery* 2007; 94: 1319-1330.
5. Gores GJ, et al. Cholangiocaricnoma: Is transplantation an option? For whom? *Journal of Hepatology* 2007; 47: 454-475.
6. Heimbach JK, et al. Trasnplantation for hilar cholangiocarcinoma. *Liver Transplantation* 2004; 10 (suppl2) s65-s68.
7. Ghali P, et al. Liver transplantation for incidental cholangiocarcinoma: analysis of the Canadian experience. *Liver Transplantation*. 2005; 11: 1412-1416.
8. Shimoda M, et al. Liver transplantation for cholangiocellular carcinoma: Analysis of a single center experience and review of the literature. *Liver Transpl.* 2001; 7(12): 1023-33.
9. Pasher A, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: indication for trnaplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2003; 10: 282-287.

Il documento è stato realizzato con il contributo del “Gruppo di Cooperazione A.I.S.F.-Industrie”

Bayer Schering Pharma, Bristol Myers-Squibb S.r.l.,

Gilead Sciences S.r.l., GlaxoSmithKline S.p.A., Grifols Italia S.p.A.,

I.B.I. - Istituto Biochimico Italiano “G. Lorenzini” S.p.A., Kedrion S.p.A.,

Novartis Farma S.p.A., Roche S.p.A., Schering-Plough S.p.A.