



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Sede Amministrativa: Università degli Studi di Padova

Dipartimento di SCIENZE CHIRURGICHE E APPLICAZIONI TECNOLOGICHE

**SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA IN : SCIENZE MEDICHE, CLINICHE E
SPERIMENTALI**

**INDIRIZZO: SCIENZE CHIRURGICHE E APPLICAZIONI TECNOLOGICHE
XXIII° CICLO**

TITOLO TESI

**IMPATTO PROGNOSTICO DELLE
RESEZIONI EPATICHE ALLARGATE NEL
TRATTAMENTO DEL
COLANGIOCARCINOMA ILARE NELL'ERA
GENOMICA: ANALISI DI CENTRO**

Direttore della Scuola : Ch.mo Prof. Gaetano THIENE

Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Umberto CILLO

Supervisore :Ch.mo Prof. Davide F. D'Amico

Dottorando : Francesco Antonio CIARLEGLIO

A Mio figlio Alessandro Davide
con tutto l'amore di Padre

Ad Annamaria,
per essermi stata accanto anche nei momenti più bui
sostenendomi con delicatezza e amore

Al Professor D'Amico,
Mio Maestro di Arte e di Vita,
che mi ha formato prima come Uomo e poi come Chirurgo
nel segno di una identità indelebile e di un legame indissolubile

Ad Alberto Brolese,
per la pazienza didattica,
elemento fondamentale del Magistero Chirurgico,
che mi ha trasmesso note di lealtà, saggezza morale ed etica,
vero Maestro dell'arte chirurgica, soprattutto
nella gestione di questa patologia dalla esasperata complessità

*A una persona "Specialissima",
che nell'ombra e nell'assenza fisica
ha permesso la attuabilità di un progetto di vita
con saggezza e amorevolezza*

SOMMARIO

Il colangiocarcinoma ilare è un tumore raro (meno del 2% di tutte le neoplasie maligne) ed è, in ordine di frequenza, il secondo tumore epatico primitivo. Negli USA, ogni anno in 1 persona su 100.000 insorge questo tumore prevalentemente nella VII decade di vita (range: 50-70 anni) con una lieve prevalenza nel sesso maschile (48% nel sesso maschile vs. 37% in quello femminile secondo uno studio statunitense).

L'unica terapia per il colangiocarcinoma è la resezione chirurgica completa con margini di resezione istologicamente negativi. Purtroppo solo pochi pazienti sono operabili per cui è auspicabile un rapido invio ad una equipe chirurgica specialistica. Prima di eseguire qualsiasi tipo di intervento tutti i pazienti dovrebbero essere accuratamente valutati per la resezione poiché la flogosi o una infezione associata al posizionamento di uno *stent* rendono spesso più difficile tale valutazione. Il tipo e l'estensione dell'intervento dipendono dalla sede del tumore all'interno del fegato o del tratto biliare. I miglioramenti tecnici nella chirurgia epato-biliare hanno aumentato la possibilità di una resezione curativa in un sottoinsieme di questi pazienti. Il problema principale del trattamento curativo è la precocità della diagnosi poiché un'alta percentuale di tumori si presenta ad uno stadio non più reseccabile; anche in pazienti sottoposti ad esplorazione chirurgica ad intento curativo, nel 46,8-100% dei casi viene identificato intraoperatoriamente un tumore in stadio avanzato.

I primi Reports in letteratura riguardanti il trattamento chirurgico del colangiocarcinoma riportavano la resezione limitata dell'albero biliare principale (VBP) con successivo confezionamento di una anastomosi bilio-digestiva sui dotti intraepatici. Blumgart e Launois, per primi hanno proposto di passare a resezioni allargate e regolate nel caso del IC, nonché di aggiungere delle demolizioni parenchimali nel tumore di Klatskin suscitando pareri contrapposti nella comunità scientifica. Il progresso tecnico e tecnologico, cui si è assistito negli ultimi 20 anni nell'ambito della chirurgia epatica ha permesso sicuramente di attuare un approccio metodologico più aggressivo al trattamento del colangiocarcinoma ilare: è stata aggiunta la resezione parziale di quei segmenti epatici adiacenti alla confluenza biliare prima, passando alla resezione del I segmento dopo, al fine di ottenere margini di sezione liberi da malattia, nel sospetto di una crescita endocanalicolare della neoplasia biliare.

Il nostro lavoro osservazionale e retrospettivo include un periodo relativamente lungo di pazienti trattati per Tumore di Klatskin con resezione epatica più o meno associata a resezione della VBP: tale studio mira a esaminare i risultati del trattamento chirurgico associato o meno a terapia adiuvante al fine di standardizzare i criteri di centro nel trattamento del colangiocarcinoma ilare ed evidenziare dei fattori prognostici di sopravvivenza.

SUMMARY

Cholangiocarcinoma, which arises from intrahepatic or extrahepatic bile ducts, is a relatively uncommon malignant neoplasm; however, incidence is increasing world wide. This disease is reported to occur more frequently in Japan than in Western countries with approximately 16,000 deaths per year from biliary tract cancer in Japan. Cholangiocarcinoma has commonly been classified into 3 broad categories based on tumor location: intrahepatic, hilar, or distal.

Hilar cholangiocarcinoma (Klatskin tumor) is an uncommon neoplasm arising from the biliary confluence or the right or left hepatic ducts. About 3000 cases of extrahepatic cholangiocarcinoma are diagnosed annually in the United States. Treatment for hilar cholangiocarcinoma has remained challenging because of the lack of effective adjuvant treatment. In addition, the ability to achieve complete resection is often limited by the locally advanced nature of the tumor at presentation.

Because neither chemotherapy nor radiotherapy is completely effective for cholangiocarcinoma, surgical resection continues to represent the only potentially curative therapy for these patients. Many investigators to date have advocated aggressive surgical approaches.

Unlike intrahepatic or distal cholangiocarcinoma, which can be treated with hepatic resection or pancreaticoduodenectomy, respectively, surgical management of hilar cholangiocarcinoma has evolved since its original description. In earlier decades, surgical management was primarily palliative with generally poor outcomes. Early reports of resection of hilar cholangiocarcinoma typically involved resection of the biliary tree with hepaticojejunostomy. In the last 20 years, after Blumgart e Launois study, surgical management of hilar cholangiocarcinoma has evolved due to improvements in preoperative imaging and an enhanced appreciation of tumor growth characteristics. This has resulted in the recognition that liver resection is necessary to manage both direct hepatic invasion and the longitudinal intraductal extension that typically characterize hilar cholangiocarcinoma.

The aim of this retrospective study was to identify useful prognostic factors for patients with hilar cholangiocarcinoma treated with enlarged liver resection by assessing clinical outcomes of cases treated at a single institution.

INDICE

I. EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO	pag. 4
II. CARCINOGENESI E PATOGENESI BIOMOLECOLARE	pag.11
III. LA TERAPIA	pag.31
<i>a. Il Ruolo della Chirurgia</i>	<i>pag.31</i>
<i>b. Terapie Palliative</i>	<i>pag.36</i>
<i>c. La Fototerapia</i>	<i>pag.40</i>
IV. STUDIO CLINICO	pag.44
<i>a. Scopo Dello Studio</i>	<i>pag.44</i>
<i>b. Pazienti E Metodi</i>	<i>pag.46</i>
<i>c. Risultati</i>	<i>pag.50</i>
<i>d. Discussione</i>	<i>pag.55</i>
<i>e. Conclusioni</i>	<i>pag.59</i>

EPIDEMIOLOGIA E FATTORI DI RISCHIO

Il colangiocarcinoma è un tumore raro (meno del 2% di tutte le neoplasie maligne) (1) ed è, in ordine di frequenza, il secondo tumore epatico primitivo (1-7). Negli USA, ogni anno in 1 persona su 100.000 insorge questo tumore (8) prevalentemente nella VII decade di vita (range: 50-70 anni) (9) con una lieve prevalenza nel sesso maschile (1,2, 10) (48% nel sesso maschile vs. 37% in quello femminile secondo uno studio statunitense) (11). Le più alte incidenze di colangiocarcinoma si hanno nell'Asia sud-orientale ed orientale. Diversi studi hanno dimostrato un aumento dell'incidenza e della mortalità per colangiocarcinoma intra-epatico, mentre quelle del colangiocarcinoma extra-epatico stanno diminuendo in tutto il mondo(2-4). L'incidenza di quello intra-epatico varia notevolmente da paese a paese, in base alla distribuzione dei fattori di rischio locali e alle diversità genetiche delle varie popolazioni (10). Le percentuali più alte si hanno nella Thailandia nord-orientale (96/100.000 uomini), in Cina e in altre zone dell'Asia sud-orientale, mentre in Australia l'incidenza è relativamente bassa (0,2/100.000 uomini) (10). Un aumento dell'incidenza, corrispondente a quello della mortalità, è stato registrato in tutto il mondo (Europa, America del Nord, Asia, Giappone e Australia) (12, Figura 1). Al maggior riscontro diagnostico corrisponde un aumento del numero dei pazienti con malattia allo stadio precoce o con lesioni più piccole (12). Tuttavia l'aumento dell'incidenza non sembra essersi fermato come ci si sarebbe aspettati se questo fosse stato dovuto ad un miglioramento delle indagini diagnostiche, come la colangio-pancreatografia retrograda endoscopica (ERCP), la

risonanza magnetica (RM) o la TC, le quali vengono ormai eseguite di routine da diversi anni (13). È interessante notare come l'aumento dei tumori intra-epatici sia maggiore della relativa riduzione di quelli extra-epatici, dimostrando che questo aumento di incidenza è probabilmente reale (13). Benché disponiamo di pochi dati sul colangiocarcinoma extra-epatico, le percentuali di incidenza e mortalità sembrano diminuire in molti paesi (13). Negli USA la mortalità per i tumori extra-epatici, standardizzata per età, è passata dallo 0,6/100.000 nel 1979 allo 0,3/100.000 nel 1998 e nello stesso periodo l'incidenza, standardizzata per età, è diminuita dall'1,08/100.000 allo 0,82/100.000 (10, 13). In tutto il mondo sono state riferite tendenze analoghe (2, 10, 13).

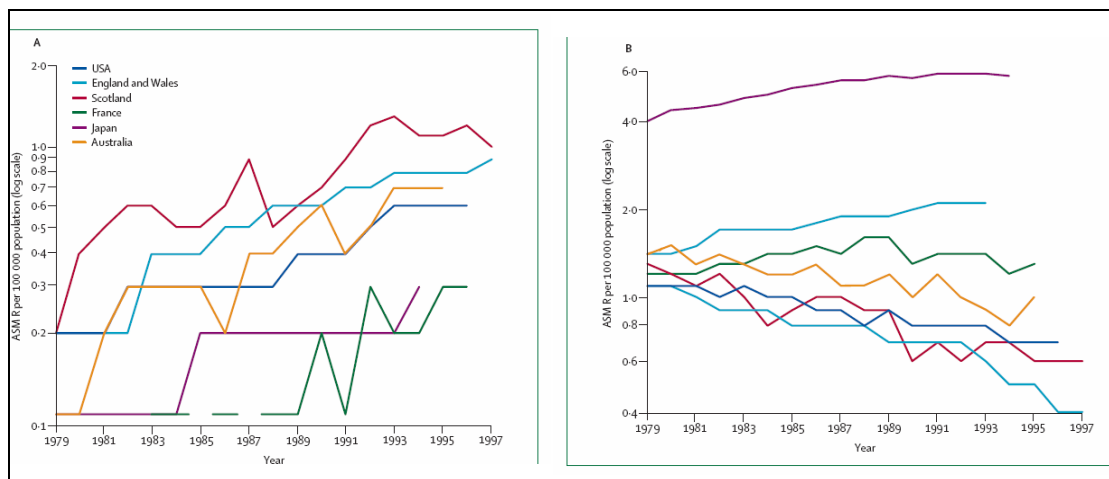


Figura 1. International age-standardised mortality rates (ASMR) per colangiocarcinoma intraepatico (A) e per colangiocarcinoma ilare(B) (Da Khan AS, Lancet 2005; 366: 1303–14).

Il 99% dei tumori maligni delle vie biliari intra ed extra-epatiche sono carcinomi; circa il 92% sono adenocarcinomi (14-18). I fattori di rischio, molti dei quali comuni a quelli del cancro della colecisti, incidono però con valenza diversa per le differenze anatomico-fisio-patologiche dei due distretti. L'associazione della neoplasia con la *calcolosi biliare* è molto meno frequente che a livello colecistico; le percentuali variano dal 13 al 57% a seconda delle casistiche (14,16, 19). Il meccanismo patogenetico è dubbio in quanto si

ritiene che una percentuale dei calcoli stessi possa essere secondaria a neoplasie occludenti; è possibile inoltre che i calcoli inducano una modificazione della composizione chimica della bile con formazione di metilcolantrene (16). Sperimentalmente è stato indotto cancro dei dotti biliari in animali nei quali è stata iniettata bile umana proveniente da individui colpiti da tale affezione (1, 13).

Alcuni Autori hanno inoltre correlato l'incidenza del colangiocarcinoma con la *colecistiasi* (20): la *stasi biliare* con sovrainfezione e la *flogosi cronica* sono ritenute degli elementi determinanti nella patogenesi della neoplasia e tali condizioni possono essere sostenute da varie affezioni (1-12). Le *cisti congenite* del coledoco così come la *malattia di Caroli* si associano di frequente al colangiocarcinoma; ad avvalorare l'ipotesi che stasi ed infezione rappresentano un fattore di rischio è il fatto che in questi pazienti l'età media di insorgenza del cancro è minore di circa 2-3 decenni (6, 7); l'incidenza varia dal 2,5 al 28% a seconda delle casistiche ed il rischio aumenta quanto più i sintomi delle cisti del coledoco tardano a manifestarsi (8). Nelle cisti coledociche e nella malattia di Caroli si ritrovano spesso presenti contemporaneamente la stasi, la flogosi cronica della mucosa e la calcolosi (8).

Welton nel 1979 riporta i dati di uno studio eseguito in pazienti portatori di *bacilli tifici* nella bile in un periodo compreso fra il 1922 e il 1975; evidenzia un rischio di colangiocarcinoma 6 volte superiore rispetto ad un gruppo di controllo ed ipotizza una modificazione della composizione chimica biliare da parte dei batteri (21).

Nei paesi orientali sono frequenti le *parassitosi* ed in particolare l'associazione fra il colangiocarcinoma e il trematode *Clonorchis Sinensis* è nota da molti anni. Il parassita penetra nell'organismo per via alimentare attraverso il duodeno, in particolare

con l'ingestione di pesce crudo. Anche parassiti come l'*Opisthorchis Viverrini* e l'*Opisthorchis Felineus* sono segnalati associarsi alla neoplasia. La localizzazione più frequente è a livello delle vie biliari intra-epatiche, ma talvolta anche a livello extra-epatico; in rari casi anche la colecisti risulta interessata. L'impianto del parassita, oltre a poter determinare meccanicamente una stasi biliare, è causa di flogosi mucosa con fibrosi, iperplasia reattiva e possibile degenerazione neoplastica (1-16).

Altro rapporto ampiamente documentato risulta essere quello con la *colite ulcerosa* e la *colangite sclerosante* (1, 13-16). Queste due affezioni risultano spesso associate e in stretto rapporto etiopatogenetico. Fra le varie ipotesi sono state prese in considerazione quella autoimmune, quella di una epatopatia colestatica che spesso si associa al processo infiammatorio cronico intestinale, quella di una flogosi biliare dovuta a batteriemia portale sempre secondaria all'affezione intestinale (22-23). Il quadro infiammatorio a livello biliare compare in genere in coliti ulcerative di vecchia data e successivamente può evolvere in forme neoplastiche. Il colangiocarcinoma in pazienti con colite ulcerativa viene diagnosticato circa 2 decenni prima rispetto alla media, con età di insorgenza media fra i 40 e 45 anni; l'incidenza varia fra lo 0,4% e l'1,4% a seconda delle casistiche con un rischio aumentato di circa 10 volte la media (22). Secondo alcuni Autori la terapia antibiotica e la colectomia migliorano il quadro colangitico, avvalorando quindi l'ipotesi patogenetica di tipo flogistico e ipotizzando quindi il valore preventivo dell'atto chirurgico; altri Autori hanno osservato invece la comparsa del colangiocarcinoma molti anni dopo la colectomia così come l'insorgenza della colite ulcerosa dopo la diagnosi di neoplasia biliare.

In rari casi sono state descritte associazioni con il *Morbo di Crohn* (24). Varie sostanze chimiche sono state messe in relazione con i tumori delle vie biliari extra-epatiche. Broden e Bengtson hanno evidenziato tale associazione in ben il 18% dei casi, oltre al 19% relativa alla localizzazione intra-epatica; nel 9,8% l'associazione si riferiva alla metildopa (25). Segnalazioni anche per quanto riguarda i contraccettivi orali (26), l'isoniazide (27), l'asbesto (28) e i bifenili policlorati (28).

Diverse tossine chimiche sono state associate all'insorgenza di un colangiocarcinoma, infatti nelle sue cellule infatti sono stati identificati composti ad azione diretta sul DNA (29, 30). Il Thorotrast, un mezzo di contrasto colloidale ampiamente utilizzato in radiologia all'inizio del XX secolo, è stato associato all'insorgenza di colangiocarcinomi dopo molti anni dall'esposizione (31). Sono state fatte associazioni anche con il contatto con diossine e nitrosamine (32) e con alcool ed fumo ma, a causa dei risultati contrastanti, non sono state ancora tratte conclusioni definitive (23). Anche la presenza di una cirrosi post-epatitica è stata associata al colangiocarcinoma (33), in particolare quella da virus dell'epatite B e C. In uno studio controllato italiano, il 23% dei pazienti con colangiocarcinoma è risultato positivo al virus anti-epatite C e l'11,5% era HbsAg-positivo rispetto al 6% e al 5,5% dei controlli (34). Il virus dell'epatite C rappresenta un fattore di rischio accertato per il carcinoma epatocellulare poiché avendo sia gli epatociti che i colangiociti la stessa cellula progenitrice, si dimostra così il ruolo del virus nella colangiocarcinogenesi. Inoltre, nel colangiocarcinoma, è stato identificato l'RNA del virus dell'epatite C (33).

Fra i fattori dietetici è stata notata una correlazione con l'apporto calorico totale, mentre effetto protettivo è attribuito alle fibre presenti in frutta e vegetali (1). Studi recenti

hanno evidenziato rapporto fra il colangiocarcinoma ed il calcio introdotto, ma diversa valenza assume la concentrazione totale dello stesso rispetto alla quantità ionizzata (1, 13).

BIBLIOGRAFIA

1. Goldberg MJ. Cholangiocarcinoma. *Dis Mon* 2004;50:540-4.
2. Khan SA ET AL. Changing international trends in mortality rates for liver, biliary and pancreatic tumours, *J Hepatol* 2002; 37:806–813.
3. Patel T. Increasing incidence and mortality of primary intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States, *Hepatology* 2001; 33:1353–1357.
4. Patel T. Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies, *BMC Cancer* 2 (2002).
5. Nakeeb HA et al. Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic, perihilar, and distal tumors, *Ann Surg* 1996; 224: 463–473.
6. Yamasaki S. Intrahepatic cholangiocarcinoma: macroscopic type and stage classification. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10:288–291.
7. Khan SA et al. Guidelines for the diagnosis and management of cholangiocarcinoma, *Gut* 2002; 51(S6): VII–VI9.
8. Shaib YH et al. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a case-control study, *Gastroenterology* 2005;128: 620–626.
9. Lillemoe H. Tumors of the gallbladder bile ducts and ampulla. *Sem Gastroenterol* 2003;208-19.
10. Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma, *Semin Liver Dis* 2004; 24:115–125.
11. Shaib YH et al. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a case-control study, *Gastroenterology* 2005;128: 620–626.
12. Shaib YH et al. Rising incidence of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a true increase?, *J Hepatol* 2004; 40:472–477.
13. Khan SA et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314.
14. Henson DE, Albores-Saavedra J, Corle D. Carcinoma of the gallbladder. Histologic types, stage of disease, grade, and survival rates. *Cancer* 1992; 70(6): 1493-7
15. Henson DE, Albores-Saavedra J, Corle D. Carcinoma of the extrahepatic bile ducts. Histologic types, stage of disease, grade, and survival rates. *Cancer* 1992; 70(6): 1498-501
16. Longmire WP Jr, Mc Arthur MS, Bastounis EA, et al. Carcinoma of the extrahepatic biliary tract. *Ann Surg* 1973; 178(3): 333-45
17. Robustelli della Cuna G, Gennari L in Bonadonna G, Robustelli della Cuna G. *Medicina Oncologica* 6^a ed. Milano, Masson 1999
18. Nakeeb A, Pitt HA, Sohn TA, et al. Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic perihilar, and distal tumours. *Ann Surg* 1996; 224(4): 473-5
19. Oertli D, Herzog U, Tondelli P. Primary carcinoma of the gallbladder: operative experience during a 16 year period. *Eur J Surg* 1993; 159(8): 415-20

20. Bosset JF, Mantion G, Gillet M, et al. Primary carcinoma of the gallbladder. Adjuvant postoperative external irradiation. *Cancer* 1989;64(9): 1843-7
21. Welton J.C., Mar J.S., Friedman S.M.: Association between cancer and typhoid carrier state. *Lancet* 1979; 1: 791-794.
22. Chalasani N, Baluyut A, Ismail A, et al. Cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis: a multicenter case-control study. *Hepatology* 2000; 31: 7–11.
23. Broome U, Olsson R, Loof L, et al. Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996; 38: 610–15.
24. Choi P. M., Nugent F.W., Zelig M.P., Munson J.L., Schoetz D.J.: Cholangiocarcinoma and Chron's disease. *Dis. Sci.* 1994: 39 (3): 667-670
25. Broden G., Benytson L.: Biliary carcinoma associated with methyl dopa therapy. *Acta Chir Stand Suppl* 1980; 500: 7.
26. Yen S., Hsieh C.C., MacMahon B.: Extrahepatic bile duct cancer and smoking, beverage, consumption, past medical history and oral contraceptive use. *Cancer* 1987; 59: 2112.
27. Lowenfels A.B., Norman J.: Isoniazid and bile duct cancer. *Jama* 1978; 240: 434.
28. Szendroi M., Nemeth L., Vajta G.: Asbestos bodies in a bile duct cancer alter occupational exposure. *Environ Res* 1983; 30: 270.
29. Sahani D, Prasad SR, Tannabe KK, Hahn PF, Mueller PR, Saini S. Thorotrast-induced cholangiocarcinoma: case report. *Abdom Imaging* 2003; 28: 72–74.
30. Khan SA et al. DNA adducts, detected by ³²P postlabelling, in human cholangiocarcinoma, *Gut* 2003; 52: 586–591.
31. Sharp GB. The relationship between internally deposited alpha-particle radiation and subsitespecific liver cancer and liver cirrhosis: an analysis of published data. *J Radiat Res* 2002; 43: 371–380.
32. Hardell L et al. Aetiological aspects on primary liver cancer with special regard to alcohol, organic solvents and acute intermittent porphyria: an epidemiological investigation, *Br J Cancer* 1984; 50:389–397.
33. Shaib YH et al. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a casecontrol study. *Gastroenterology* 2005; 128: 620–626.
34. 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.

CANCEROGENESI e PATOGENESI BIOMOLECOLARE

Introduzione

La trasformazione neoplastica dei colangiociti, l'epitelio di rivestimento dei dotti biliare origina il tumore maligno definito come colangiocarcinoma (1). Tale neoplasia, a seconda della sede di insorgenza può essere classificato come intra o extraepatico. Dati statistico-epidemiologici documentano un incremento di incidenza delle forme intraparenchimali (2) e (3) anche del tasso di mortalità. Anche se la Chirurgia rappresenta la modalità di trattamento migliore, la diagnosi di tale malattia è spesso tardiva, impedendo così di poter attuare trattamenti radicali (1). Generalmente la prognosi è pessima con tassi del 5% a 5 anni (3): la chemio e la radioterapia hanno lievemente prolungato la sopravvivenza e la qualità di vita nei soggetti non suscettibili di terapia chirurgica, senza però in alcun modo influenzare la survival a lungo termine (4).

La classificazione anatomico-patologica del colangiocarcinoma distingue una forma intraepatica (IC) e una hilar (HC). Il IC si differenzia in funzione della sede della neoplasia (figura 1), permettendo così di distinguere un tipo “*mass forming*”, dal “*periductal infiltrating*” e dal “*intraductal growth type*” (1, 4-5). Il HC o tumore di Klatskin viene classificato a livello internazionale secondo lo schema di Bismuth e Corlette (Figura 2). Le forme infiltranti sono caratterizzate da una intensa attività

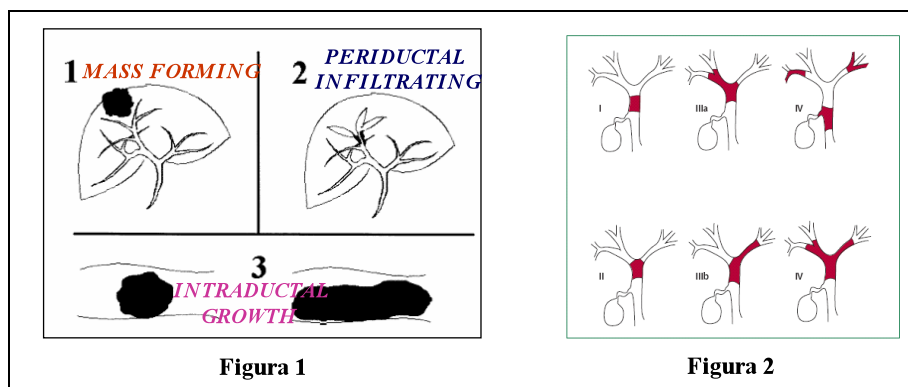


Figure 1-2. 1) Classificazione del colangiocarcinoma intraepatico. 2) Classificazione del tumore di Klatskin sec. Bismut e Corlette.

desmoplasica dello stroma e dall'invasione perineurale (4). I differenti aspetti morfologici rispecchiano in realtà diversi comportamenti clinici e decorsi prognostici, accompagnate da diverse mutazioni genetiche ed espressione di proteine oncogenetiche. La spiegazione dei differenti meccanismi patogenetici attivi durante la cancerogenesi riesce a spiegare la diversità clinica (5).

Inizio della Cancerogenesi

Studi sperimentali recenti hanno identificato le basi biomolecolari dello sviluppo del colangiocarcinoma (1, 4-10), evidenziando meccanismi patogenetici rismasti oscuri per molti anni. In particolare è stato chiarito la associazione esistente fra la colestasi cronica e la mutazione fenotipica dei colangiociti (5). Infatti lo sviluppo del colangiocarcinoma è modulato da un sistema di peptidi neuroendocrini (10).

Infestazioni biliari da *Opisthorchis viverrini* e *Clonorchis sinensis*, la colangite primitive sclerosante (PSC), la calcolosi biliare, la malattia di Caroli e le dilatazioni cistiche congenite del coledoco aumentano il rischio di sviluppare un colangiocarcinoma. In ogni caso, indipendentemente dalla esistenza di fattori di rischio, ci sono due condizioni fondamentali associate allo sviluppo di colangiocarcinoma: la infiammazione cronica

dell'epitelio biliare e il suo susseguente politrauma fino alla ostruzione del canale di Hering (1, 11) (Figura 3). In particolare è stato dimostrato che varie citochine, rilasciate dai biliociti in corso di flogosi cronica sono responsabili del processo di iniziazione cancerogenetica (1, 11).

Un passaggio fondamentale nel processo cancerogenetico è lo sviluppo di un segnale proliferativo autonomo (Figura 3). La crescita dell'epitelio neoplastico è favorita dalla presenza di fattori fitogeni ad azione autorina e paracrina con attivazione dei recettori cellulari e delle vie di segnale intracellulare (1, 5).

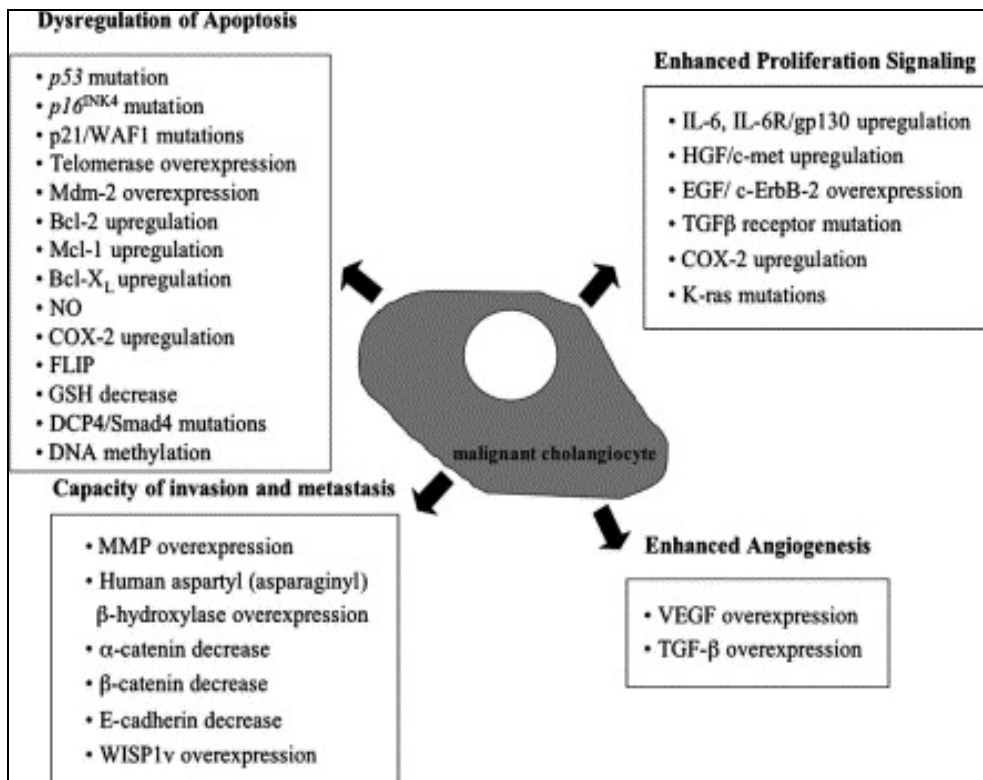


Figura 3. Caratteristiche biomolecolari dei colangiociti maligni. Tali cellule esprimono degli alterati meccanismi proliferativi di tipo bio-molecolare alterando la proliferazione, il ciclo cellulare, i processi apoptotici con alta capacità replicativi, di angiogenesi e di metastatizzazione (WAF1, wild-type p53-activated fragment 1; Mdm-2, murine double minute-2 gene; Bcl-2, B-cell lymphoma/leukaemia 2; Mcl-1, myeloid cell leukaemia 1; Bcl-XL, Bcl-2 related protein, long isoform; NO, nitric oxide; COX-2, cyclooxygenase 2; FLIP, flice-inhibitory protein; GSH, reduced glutathione; IL-6, interleukin-6; HGF, hepatocyte growth factor; EGF, epidermal growth factor; TGFβ, transforming growth factor-β; VEGF, vascular endothelial cell growth factor; MMP, matrix metalloproteinase; WISP1v, WNT1-inducible signalling pathway protein 1; Smad4, SMAD, mothers against DPP homolog 4 (Drosophila). (Modified with permission from Ref. (1).

Nel fegato, gli epatociti, le cellule endoteliali sinusoidali, le cellule stellate e quelle di Kupffer producono e secernono citochine in maniera copiosa durante i processi infiammatori: in aggiunta recenti studi documentano come i colangiti producano citochine ad azione paracrina (12), quali la interleukina-6 (IL-6), il transforming growth factor- β (TGF- β), IL-8, tumor necrosis factor- α (TNF- α) e il platelet-derived growth factor (PDGF) B chain (13). Tutti questi elementi interagiscono con l'epitelio biliare mediante meccanismi autocrini o paracrini, regolando l'omeostasi cellulare. E' quindi chiaro come tali meccanismi siano coinvolti nei processi di cancerogenesi, permettendo così una abnorme risposta a tutti i meccanismi cellulari in corso di neoplasia (5) e favorendo così la formazione tumorale (14).

Le citochine inducono anche la produzione del iNOS (inducibile nitric oxide synthase) nei colangiociti (15), un evento assai correlato con la trasformazione maligna: infatti l'ossido nitrico (NO) nei colangiociti impedisce la attivazione dei meccanismi di riparazione del DNA, favorendo così il perpetuarsi del danno e la attivazione dei processi di mutagenesi (11). Tale effetto promotore è collegato anche all'up-regulation del fattore Notch-1 (16), fondamentale elemento dello sviluppo del sistema biliare (17), la cui mutazione è francamente associata alla carcinogenesi pancreatico (18). Notch-1 è iper-espresso, in un meccanismo NO dipendente (16), nei colangiociti in corso di PSC e anche nelle cellule di colangiocarcinoma ed è co-localizzato assieme alla iNOS immunoreattività (16).

Il *molecular link* esistente fra infiammazione e colangiocarcinoma è stato poi avvalorato dal fatto che la cyclooxygenasi-2 (COX-2) sembra giocare un ruolo chiave nel processo di trasformazione neoplastica (19). In un modello sperimentale murino, la over-expression di ErbB-2 e la up-regulation di COX-2 erano i primi elementi osservati (20):

quest'ultima induce la replicazione cellulare (21): infatti la deplezione del gene che codifica per COX-2 inibisce la proliferazione cellulare (21). Vari Reports di letteratura correlano la colestasi cronica con il processo cancerogenetico (22, Figura 3). Gli Oxysteroli, derivati ossidativi del colesterolo, sono spesso prodotti in corso di flogosi cronica (22) e sono in grado di modulare la espressione genica agendo su recettori intracellulari (22), giocando un ruolo di tipo carcinogenetico (23) mediante una over-expression di COX-2 (22).

Altri fattori coinvolti nell'intero processo sono rappresentati dagli acidi biliari che si accumulano in corso di colestasi: in particolare l'acido desossicolico puo attivare l'*epidermal growth factor receptor* (EGFR), simulando una azione simile alla *phosphoinositide 3-kinase* (PI3-K) (24, 25). La spiegazione di tale meccanismo di azione è passata attraverso una serie di studi assai sofisticati: Werneburg et al. Dimostrarono che la attivazione di EGFR da parte degli acidi biliari è regolata dal TNF- α e da inibitori delle metalloproteinasi (24), con conseguente attivazione del segnale PI3-K con espressioni di molecole anti-apoptotiche (24).

Gli effetti degli acidi biliari sullo sviluppo del colangiocarcinoma sono molto complessi: essi inducono infatti la fosforilazione dell'EGFR e fungono da enhancer del *mitogen activated protein kinase* (MAPK) *cascade*, che incrementa la attivazione di ERK1/2, p38 e JNK (26), responsabili a loro volta della espressione di COX-2 (26). E' perciò evidente come gli acidi biliari inducano uno stimolo cancerogenetico attraverso un meccanismo intracellulare: inoltre non tutti gli acidi biliari sono coinvolti in tali meccanismi. Di recente, infatti dati ottenuti sull'acido tauro-urso-desossicolico dimostrano l'effetto inibente sulla crescita di linee cellulari di colangiocarcinoma umano mediante Ca^{2+} , $PKC-\alpha$, e *MAPK-dependent pathways* (27).

Molti studi hanno focalizzato la propria attenzione sulla induzione del processo neoplastico: *ErbB-2* e *Met* sono oncogeni coinvolti nel processo di angiogenesi e di metastatizzazione di tale neoplasia (28, 29): in particolare la espressione di *Met* nella fase precoce di induzione tumorale, mentre *ErbB-2* sembrerebbe essere coinvolto nella crescita e nella diffusione della malattia (28). Inoltre è noto che *ErbB-2* e *Met* elicitano la formazione di COX-2 (4) (Figura 3): gli effetti diretti conducono a una produzione di COX-2 che lega il recettore IL-6, suggerendo un link tra IL-6 e *ErbB-2* (1, 30, 31). La *ErbB-2 overexpression* nei colangiociti maligni crea gli eventi intracellulari necessari alla crescita e alla sopravvivenza delle cellule neoplastiche. Tali dati sono stati confermati anche da un recente studio in cui biliociti normali di ratto transfettati con *neu-onc* (omologo murino di *ErbB-2*) subiscono una trasformazione neoplastica (32). IL-6 e TGF- β giocano un ruolo fondamentale nella crescita tumorale (14, Figura 3 e 4).

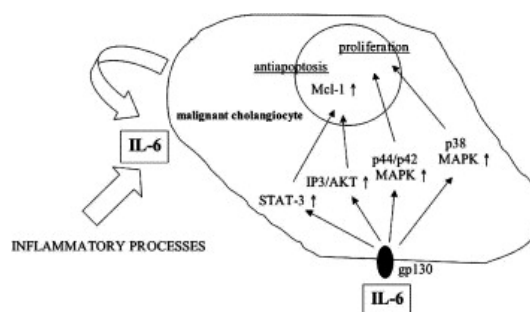


Figura 4. Meccanismi di azione endocrina e paracrina dell' IL-6 su colangiociti maligni. IL-6, attraverso la attivazione di STAT-3, up-regola la trascrizione di Mcl-1. Inoltre la IL-6 stimola p38 e p44/p42, ossia protein kinasi ad azione fitogena con crescita tumorale (1).

IL-6 con meccanismo paracrina agisce durante I processi flogistici cronici (33): incrementa la attivazione di p44/p42 e p38 *MAPK pathways* (34) e riduce la espressione di p21 (WAF1/CIP1), proteina di controllo del ciclo cellulare (35, 36). IL-6 induce anche una up-regulation dl *myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1)*, un membro anti-apoptosi

della famiglia di *Bcl-2* (36): cos' incrementa la attivazione di STAT3 e regola la trascrizione di *Mcl-1* (37, Figura 4).

TGF- β è coinvolto in numerose patologie dell'albero biliare (14): questo fattore regola la proliferazione cellulare, la differenziazione, la migrazione, l'apoptosi, l'adesione, l'angiogenesi, la sorveglianza immunologica, e la sopravvivenza cellulare; ne consegue che è ampiamente descritto il suo ruolo antitumorale (38). Questi effetti però mancano nel colangiocarcinoma (39): infatti il segnale del TGF- β è alterato in queste cellule (39) e spesso coesiste una alterazione recettoriale del *TGF- β receptor* (da delezione di T β R1) con alterazione dei segnali intracellulari (39). Si genera così una *over-expression* della cyclin D1, permettendo alle cellule neoplastiche di evitare l'effetto inibente (14, 40) e stimolo dei processi di fibrosi periduttale (39).

DCP4/Smad4 è un gene oncosoppressore che ha un ruolo importante nel *TGF- β signaling pathway* (41): la sua mutazione determina la perdita di espressione, elemento maggiormente presente nel tumore di Klatskin (42). *Smad4* e *PTEN* interagiscono l'uno con l'altro per sopprimere la formazione del colangiocarcinoma (43): recentemente Xu et al., hanno generato un modello sperimentale murino dimostrando tale sinergia (43).

L' *Hepatocyte growth factor* (HGF) è un altro fattore avente attività mitogena sulle cellule di colangiocarcinoma (44), che esprimono elevati livelli di HGF, in vitro e in vivo, assieme alla up-regulation e alla iper-fosforilazione di *c-met*, il suo recettore di superficie (44), suggerendo la esistenza di un meccanismo che si autosostiene in maniera autocrina.

Il glutatione ridotto (GSH) rappresenta uno dei principali meccanismi di difesa contro lo stress ossidativo in corso di processo flogistico (45). GSH è sintetizzato dai colangiociti (46): vari studi dimostrano come esista una riduzione dei livelli di GSH nella bile

durante le malattie croniche ad azione cancerogenetica (45), con susseguente danno nucleare (46).

Promozione Neoplastica

L' Apoptosi, o sistema di morte cellulare programmata, gioca un ruolo cruciale nella regolazione dell'epitelio biliare danneggiato (47, Figura 3). Una alterazione dei suoi meccanismi di regolazione permette la sopravvivenza di colangiociti danneggiati con avvio del processo di *multistep carcinogenesis* (47, Figura 5).

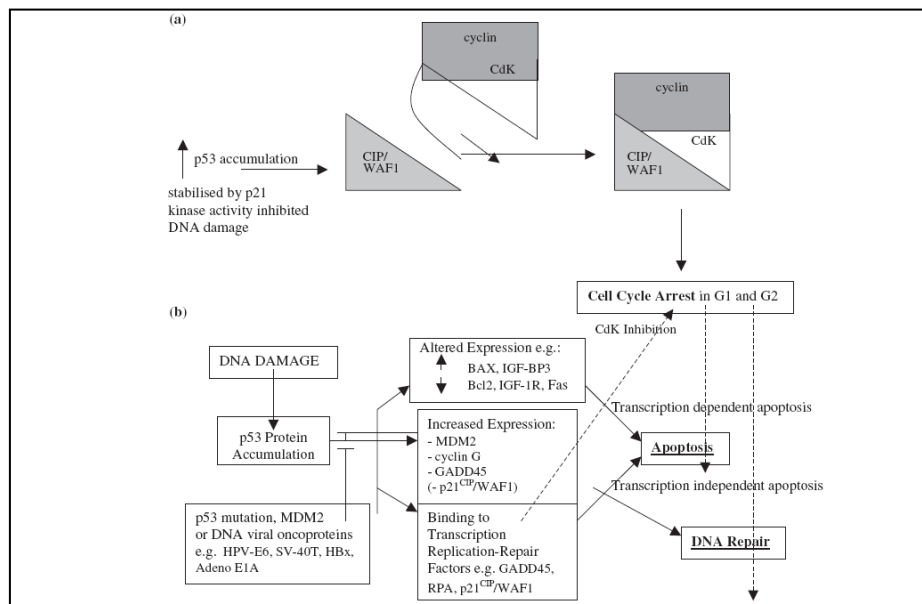


Figura 5. Rappresentazione schematica degli effetti di una delezione o di un danno di p53. a) arresto del ciclo cellulare mediante la interazione con p21/ciclina pathway; b) ruolo nella riparazione del DNA e nella apoptosi (Khan AS, *Liver Int* 2005; 25: 704-716).

Bcl-2 rappresenta una super-famiglia di proteine anti-apoptosi: il suo prototipo Bcl-2, è espresso nei dotti biliari ma non nei dotti (48). La sua attività è sostenuta dalla catena del *citocromo-c* mitocondriale, e dalla attivazione della *caspaasi 3*. Risulta iper-espresso nelle cellule tumorali (49).

Mutazioni puntiformi del *Ki-ras oncogene* sono presenti in molti tumori umani: alcune di queste che coinvolgono il codon 12 con sostituzione di una glicina (GGT) all'acido aspartico (GAT) o con valine (TGT) sono maggiormente presenti nel

colangiocarcinoma (50). Interessante è la sua espressione in funzione della sede di neoplasia: infatti è aumentato nelle forme periduttali e con invasione perineurale, mentre manca nel tipo I del IC (50).

L'oncosoppressore p53 ha due importanti funzioni, indurre l'arresto del ciclo cellulare e la soppressione del Bcl-2 e dunque il blocco dell'apoptosi. Una elevata incidenza di mutazioni del gene della p53 sono presenti nel 20-80% dei casi di IC (5): tale anomalia è più frequente nel tipo 1, suggerendo il suo coinvolgimento nelle mutazioni epiteliali dei duttili periferici (5, 46-50). In molti casi la proteina p53 forma complessi con altre molecole come *WAF-1* e *mdm-2*, che favoriscono la sua inattivazione (51).

Altri fattori sono coinvolti nella de-regulation dei processi apoptotici: Torok et al., hanno dimostrato che cellule di colangiocarcinoma transfettate con *nitric-oxide-synthase (NOS)-cDNA* diventano resistenti agli stimoli apoptotici, evento che ricorre anche qualora vi sia la nitrosilazione della caspasi 9 (52). *Notch-1* è un altro promotore di trasformazione maligna (16) e con COX-2 favorisce la progressione di malattia (53). Inoltre è coinvolto anche *Fas-c* che viene bloccato dagli elevati livelli intracellulari di COX-2 (53). Tale scoperta suggerisce che i farmaci COX-2 inibitori, come il celecoxib attiverebbero la morte cellulare per apoptosi, inibendo il segnale PI3-K (21). L'espressione di COX-2 correla anche con il grading della neoplasia: livelli maggiori si hanno nei G1 (29), anche se nei pz con cirrosi biliare primitiva (PBC) tale correlazione manca (54). In una recente review, Sirica notava una discrepanza di livelli intracellulari fra PBC and PSC elemento che potrebbe spiegare la diversa incidenza di colangiocarcinoma come complicanza delle due malattie (4).

Il iNOS-NO promuoverebbe la carcinogenesi biliare attraverso COX-2 (55), mediante la modulazione del suo mRNA.

Tali studi sono fondamentali per le prospettive terapeutiche che offrono: cresce l'interesse per le citochine *tumor necrosis factor-related* e per gli *apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) (56), coinvolti nei processi triggers di morte cellulare programmata solo per le cellule neoplastiche (56). Quindi, TRAIL family è da considerarsi come la traccia di studio per il futuro (56): cellule di colangiocarcinoma sono resistenti al TRAIL-induced apoptosis (56) e *Mcl-1* è considerata la molecola maggiormente coinvolta in tale processo. Quando la espressione di *Mcl-1* è ridotta, il colangiocarcinoma diviene sensibile al TRAIL-induced apoptosis (56).

L'espressione di *Mcl-1* è anche modulate dagli acidi biliari in corso di colestasi: infatti l'ac. Desossicolico aumenta il *Mcl-1* bloccando l'attivazione di proteine di degradazione della *EGFR/Raf-1 cascade* (36, 56).

Il danno ossidativo sul DNA risulta elemento chiave nella prosecuzione della carcinogenesi. Taniai et al. hanno recentemente dimostrato che un gene oncosoppressore *p16INK4a* è comunemente inattivato nei biliociti di pz con PSC (57) per una mutazione puntiforme. Inoltre è documentata la presenza del locus *fragile histidine triad (FHIT)* nel IC (58): Foja et al., dimostrano che la iper-metilazione del FHIT è spesso seguita da IC (59) con amplificazione d'evento qualora sia silenziato il gene RASSF1A (59, 60).

Il gene BRAF, una delle isoforme attivate di *c-Ras*, è mutato e attivato nel colangiocarcinoma (61, 62). L'alterazione del *Raf/MEK/ERK (MAPK) kinase pathway*, dovuta a mutazione di RAS or BRAF, è uno dei difetti più frequenti (62), con implicazioni diagnostiche e prognostiche (62). Mutazioni inattivanti *DPC4/Smad4*, il gene oncosoppressore coinvolto nella trasduzione del segnale per il TGF- β , è maggiormente coinvolto nella cancerogenesi del HC (63).

Alterazioni nella espressione della telomerasi ricorrono spesso nel IC, come espressione di displasia cellulare (64). Tali enzimi mancano nell'epitelio non displastico in corso di calcolosi o nel fegato normale: ciò suggerisce come l'attività telomerasica venga acquisita da cellule displastiche con possibile evoluzione maligna (64), attività influenzata dalla IL-6 (65).

Progressione Tumorale

Le cellule di Colangiocarcinoma stimolano la produzione di fitto network vascolare, utile al sostegno nutrizio e metabolico nonchè all'apporto di ossigeno (1). Elevati livelli di *vascular endothelial growth factor* (VEGF) sono necessary per garantire un adeguato apporto ematico (1, 5). L'espressione del VEGF è stimolata dalla β -catenin (66) e dal TGF- β , che induce a sua volta la attivazione delle cellule mesenchimali generando così uno stimolo paracrino necessario alla crescita del tumore (67).

L'elevata capacità di invasione e di metastatizzazione sono altri due aspetti peculiari di questo tumour: Terada et al., dimostrano che il colangiocarcinoma esprime una larga serie di matrici metalloproteinasiche (MMP) ed esiste una correlazione fra elevati livelli di MMP e l'invasività (68). L'enzima aspartil- β -idrossilasi e le proteine correlate alla crescita e allo sviluppo del tessuto connettivo sono altamente espresse nelle cellule di colangiocarcinoma, correlando con il grading e con l'invasività (69).

Le "*Cell adhesion molecules*" (CAMs) giocano un ruolo importante nella invasività della malattia e nella possibilità di metastatizzazione (70): l'espressione di queste molecole è stata ampiamente studiata (70) e si è visto che la loro presenza a livello di membrane cellulare, e soprattutto di *E-cadherin*, *α -catenin*, and *β -catenin* è ridotta nella popolazione neoplastica a causa della down-regulation generata dal grading della

neoplasia. Al contrario tale parametro non correla con l'invasione vascolare, la metastatizzazione e l'espressione di p53 (70). Come per *ErbB-2*, il *MUC1* (71) and *Met* (71) interagiscono con la *β -catenin*, incrementando la invasività e il tasso di metastatizzazione del colangiocarcinoma (72), coinvolgendo in tale processo anche l'. HGF (4).

WISPIv deriva dalla famiglia dei tessuti di crescita connettivali ed è coinvolto nella progressione e nell'invasione vascolare (73). L'importante ruolo è giustificato dal fatto che il *WISPIv* è significativamente associate con la invasione linfatica e perineurale delle cellule tumorali, giustificando in parte la prognosi scarsa (74). Dunque *WISPIv* stimolerebbe il fenotipo di colangiocarcinoma ad alta capacità invasive con attivazione sia di p38 che di p42/p44 *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) (74).

Ruolo delle stem cells e del sistema neuroendocrino nel determinismo patogenetico del colangiocarcinoma

Studi Recenti suggeriscono che il colangiocarcinoma potrebbe originare da *stem cells* epatiche (75). Questa ipotesi è fortemente supportata da esperimenti compiuti su forme miste di epato-colangiocarcinoma, un tipo di tumore avente caratteristiche intermedie (75): la spiegazione di questo fenomeno è che questa neoplasia deriverebbe da cellule progenitrici a potenziale differenziativi misto, epatocitario e colangiocitario (75).

In questo contesto, vari studi hanno dimostrato come fattori neurali e neuroendocrini, come l'innervazione vagale, regolano la attivazione delle cellule progenitrici epatiche (76, 77), suggerendo un ruolo di interazione fra il sistema nervoso e le stem cells, coinvolto nella carcinogenesi dell'epitelio biliare (10). Kanno et al. dimostra un ruolo ben preciso nella crescita del colangiocarcinoma operato dal sistema nervosa simpatico

(78): linee cellulari neoplastiche *Mz-ChA-1* e *TFK-1* esprimono recettori adrenergici di tipo $\alpha 2A$ -, $\alpha 2B$ -, $\alpha 2C$ - *receptor subtypes* (78) e stimolano la up-regulation della cAMP, che inibisce la *EGF-induced MAPK activity* attraverso un acuto incremento di *Raf-1* (78).

Il sistema nervosa parasimpatico regola la fisiopatologia dei colangiociti: recenti studi descrivono I recettori muscarinici (79) sulla superficie delle cellule *Mz-ChA-1* cells. Il carbacolo, agonista recettoriale muscarinico, induce la formazione di D-mio-Inositolo 1,4,5-triphosphate (IP3) con incremento dei livelli di Ca^{2+} intracitoplasmatico (79). Anche se sappiamo che IP3 e Ca^{2+} hanno un ruolo inibente la attività delle cellule di colangiocarcinoma (27, 80-81), la modulazione dell'azione del sistema parasimpatico sulle cellule di colangiocarcinoma è tuttora sconosciuta.

Molti studi descrivono come il sistema neuroendocrino induca la regolazione della proliferazione cellulare del colangiocarcinoma: queste esprimono il recettore per la gastrina (80), che, interagendo con il recettore per CCK-B/gastrina, inibisce la proliferazione e incrementa la apoptosi di linee cellulari *Mz-ChA-1*, *HuH-28* e *TFK-1* attraverso segnali Ca^{2+} -dipendent da PKC- α signaling (80). In realtà il blocco del recettore per la CCK-B non reverte del tutto l'effetto inibitore della gastrina sulle cellule *Mz-ChA-1*, motivo per cui la gastrina potrebbe esercitare i propri effetti anche attraverso recettori di altro tipo (82, 83, 84).

Colangiociti neoplastici esprimono I recettori tipo 2 per la somatostatina (SSTR2) (85, 86). Recenti studi dimostrano come la somatostatina e il suo analogo sintetico, l'octreotide, inibiscono la proliferazione di linee cellulari di colangiocarcinoma in vivo (85, 86). Questo effetto non era associate a cambiamenti del cAMP e dei livelli

intracellulari di Ca²⁺ ma dall'espressione di *p27kip1* e dalla riduzione del complesso *cyclin E-CDK2* (85).

Il fegato rappresenta il più importante sito di sintesi dell'acido γ -aminobutirrico (GABA), nonché del suo metabolismo all'esterno del SNC (81). Di recente, è stato dimostrato come cellule neoplastiche possiedono *GABA/A,-B,-C receptors* e che il GABA inibisce la crescita e la migrazione delle cellule di colangiocarcinoma (81).

Anche il ruolo degli estrogeni è stato studiato: infatti il, 17- β estradiolo stimolerebbe la crescita neoplastica (87), mentre il tamoxifene indurrebbe un cospicuo decremento della proliferazione cellulare in vitro and in vivo (87) attivando l'apoptosi mediante la via *Fas/APO-1* (CD95), meccanismo calmodulina-dipendente (88, 89, 90).

BIBLIOGRAFIA

1. K.N. Lazaridis and G.J. Gores, Cholangiocarcinoma, *Gastroenterology* 128 (2005), pp. 1655–1667.
2. T. Patel, Worldwide trends in mortality from biliary tract malignancies, *BMC Cancer* 2 (2002), p. 10.
3. S.A. Khan, H.C. Thomas, B.R. Davidson and S.D. Taylor-Robinson, Cholangiocarcinoma, *Lancet* 366 (2005), pp. 1303–1314.
4. A.E. Sirica, Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy, *Hepatology* 41 (2005), pp. 5–15.
5. E.P. Berthiaume and J. Wands, The molecular pathogenesis of cholangiocarcinoma, *Semin. Liver Dis.* 24 (2004), pp. 127–137.
6. A.E. Sirica, G.H. Lai and Z. Zhang, Biliary cancer growth factor pathways, cyclo-oxygenase-2 and potential therapeutic strategies, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 16 (2001), pp. 363–372.
7. A.E. Sirica, G.H. Lai, K. Endo, Z. Zhang and B.I. Yoon, Cyclooxygenase-2 and ERBB-2 in cholangiocarcinoma: potential therapeutic targets, *Semin. Liver Dis.* 22 (2002), pp. 303–313.
8. G. Alpini, R.T. Prall and N.F. LaRusso, The pathobiology of biliary epithelia. In: I.M. Arias, J.L. Boyer, F.V. Chisari, N. Fausto, D. Schachter and D.A. Shafritz, Editors, *The Liver: Biology and Pathobiology*, Springer, Philadelphia (2001), pp. 421–435.
9. G.J. Gores, Cholangiocarcinoma: current concepts and insights, *Hepatology* 37 (2003), pp. 961–969.

10. M. Marzioni, G. Fava and A. Benedetti, Nervous and neuroendocrine regulation of the pathophysiology of cholestasis and of biliary carcinogenesis, *World J. Gastroenterol.* 12 (2006), pp. 3471–3480.
11. M. Jaiswal, N.F. LaRusso, L.J. Burgart and G.J. Gores, Inflammatory cytokines induce DNA damage and inhibit DNA repair in cholangiocarcinoma cells by a nitric oxide-dependent mechanism, *Cancer Res.* 60 (2000), pp. 184–190.
12. M. Yasoshima, N. Kono, H. Sugawara, K. Katayanagi, K. Harada and Y. Nakanuma, Increased expression of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in pathologic biliary epithelial cells: in situ and culture study, *Lab. Invest.* 78 (1998), pp. 89–100.
13. C. Grappone, M. Pinzani, M. Parola, G. Pellegrini, A. Caligiuri and R. DeFranco et al., Expression of platelet-derived growth factor in newly formed cholangiocytes during experimental biliary fibrosis in rats, *J. Hepatol.* 31 (1999), pp. 100–109.
14. Y. Yamagiwa, T. Patel. Cytokine regulation of cholangiocyte growth, in: G. Alpini, D. Alvaro, M. Marzioni, G. LeSage, N.F. LaRusso, (Eds.), *The Pathophysiology of Biliary Epithelia*, Georgetown, TX: Landes Bioscience, 2004, pp. 227–234.
15. C. Spirli, L. Fabris, E. Duner, R. Fiorotto, G. Ballardini and T. Roskams et al., Cytokine-stimulated nitric oxide production inhibits adenylyl cyclase and cAMP-dependent secretion in cholangiocytes, *Gastroenterology* 124 (2003), pp. 737–753.
16. N. Ishimura, S.F. Bronk and G.J. Gores, Inducible nitric oxide synthase up-regulates Notch-1 in mouse cholangiocytes: implications for carcinogenesis, *Gastroenterology* 128 (2005), pp. 1354–1368.
17. A.A. Louis, P. Van Eyken, B.A. Haber, C. Hicks, G. Weinmaster and R. Taub et al., Hepatic jagged1 expression studies, *Hepatology* 30 (1999), pp. 1269–1275.
18. Y. Miyamoto, A. Maitra, B. Ghosh, U. Zechner, P. Argani and C.A. Iacobuzio-Donahue et al., Notch mediates TGF α -induced changes in epithelial differentiation during pancreatic tumorigenesis, *Cancer Cell* 3 (2003), pp. 565–576.
19. J.R. Brown and R.N. DuBois, COX-2: a molecular target for colorectal cancer prevention, *J. Clin. Oncol.* 23 (2005), pp. 2840–2855.
20. K. Kiguchi, S. Carbajal, K. Chan, L. Beltran, L. Ruffino and J. Shen et al., Constitutive expression of ErbB-2 in gallbladder epithelium results in development of adenocarcinoma, *Cancer Res.* 61 (2001), pp. 6971–6976.
21. Z. Zhang, G.H. Lai and A.E. Sirica, Celecoxib-induced apoptosis in rat cholangiocarcinoma cells mediated by Akt inactivation and Bax translocation, *Hepatology* 39 (2004), pp. 1028–1037.
22. J.H. Yoon, A.E. Canbay, N.W. Werneburg, S.P. Lee and G.J. Gores, Oxysterols induce cyclooxygenase-2 expression in cholangiocytes: implications for biliary tract carcinogenesis, *Hepatology* 39 (2004), pp. 732–738.
23. W.G. Haigh and S.P. Lee, Identification of oxysterols in human bile and pigment gallstones, *Gastroenterology* 121 (2001), pp. 118–123.
24. N.W. Werneburg, J.H. Yoon, H. Higuchi and G.J. Gores, Bile acids activate EGF receptor via a TGF- α -dependent mechanism in human cholangiocyte cell lines, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 285 (2003), pp. G31–G36

25. K.E. Lipson, L. Pang, L.J. Huber, H. Chen, J.M. Tsai and P. Hirth 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.* 285 (1998), pp. 844–852.
26. H. Yoon, H. Higuchi, N.W. Werneburg, S.H. Kaufmann and G.J. Gores, Bile acids induce cyclooxygenase-2 expression via the epidermal growth factor receptor in a human cholangiocarcinoma cell line, *Gastroenterology* 122 (2002), pp. 985–993.
27. G. Alpini, N. Kanno, J.L. Phinzy, S. Glaser, H. Francis and S. Taffetani et al., Tauroursodeoxycholate inhibits human cholangiocarcinoma growth via Ca²⁺-, PKC-, and MAPK-dependent pathways, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 286 (2004), pp. G973–G982.
28. S.I. Aishima, K.I. Taguchi, K. Sugimachi, M. Shimada and M. Tsuneyoshi, c-erbB-2 and c-Met expression relates to cholangiocarcinogenesis and progression of intrahepatic cholangiocarcinoma, *Histopathology* 40 (2002), pp. 269–278.
29. K. Endo, B.I. Yoon, C. Pairojkul, A.J. Demetris and A.E. Sirica, ERBB-2 overexpression and cyclooxygenase-2 up-regulation in human cholangiocarcinoma and risk conditions, *Hepatology* 36 (2002), pp. 439–450.
30. Y. Qiu, L. Ravi and H.J. Kung, Requirement of ErbB2 for signalling by interleukin-6 in prostate carcinoma cells, *Nature* 393 (1998), pp. 83–85.
31. Y.G. Park, S.K. Kang, W.J. Kim, Y.C. Lee and C.H. Kim, 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.* 36 (2004), pp. 2270–2280.
32. G.H. Lai, Z. Zhang, X.N. Shen, D.J. Ward, J.L. Dewitt and S.E. Holt et al., erbB-2/neu transformed rat cholangiocytes recapitulate key cellular and molecular features of human bile duct cancer, *Gastroenterology* 129 (2005), pp. 2047–2057.
33. K. Okada, Y. Shimizu, S. Nambu, K. Higuchi and A. Watanabe, Interleukin-6 functions as an autocrine growth factor in a cholangiocarcinoma cell line, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 9 (1994), pp. 462–467.
34. J. Park, L. Tadlock, G.J. Gores and T. Patel, Inhibition of interleukin 6-mediated mitogen-activated protein kinase activation attenuates growth of a cholangiocarcinoma cell line, *Hepatology* 30 (1999), pp. 1128–1133.
35. L. Tadlock and T. Patel, Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase signaling in transformed growth of a cholangiocarcinoma cell line, *Hepatology* 33 (2001), pp. 43–51.
36. J.H. Yoon, N.W. Werneburg, H. Higuchi, A.E. Canbay, S.H. Kaufmann and C. Akgul et al., Bile acids inhibit Mcl-1 protein turnover via an epidermal growth factor receptor/Raf-1-dependent mechanism, *Cancer Res.* 62 (2002), pp. 6500–6505.
37. H. Isomoto, S. Kobayashi, N.W. Werneburg, S.F. Bronk, M.E. Guicciardi and D.A. Frank et al., Interleukin 6 upregulates myeloid cell leukemia-1 expression through a STAT3 pathway in cholangiocarcinoma cells, *Hepatology* 42 (2005), pp. 1329–1338.

38. S.B. Jakowlew, Transforming growth factor-beta in cancer and metastasis, *Cancer Metastasis Rev.* (2006) Sep 2.
39. S. Yazumi, K. Ko, N. Watanabe, H. Shinohara, K. Yoshikawa and T. Chiba et al., Disrupted transforming growth factor-beta signaling and deregulated growth in human biliary tract cancer cells, *Int. J. Cancer* 86 (2000), pp. 782–789.
40. Y. Zen, K. Harada, M. Sasaki, T.C. Chen, M.F. Chen and T.S. Yeh et al., Intrahepatic cholangiocarcinoma escapes from growth inhibitory effect of transforming growth factor-beta1 by overexpression of cyclin D1, *Lab. Invest.* 85 (2005), pp. 572–581.
41. S.C. Chuang, K.T. Lee, K.B. Tsai, P.C. Sheen, E. Nagai and K. Mizumoto et al., Immunohistochemical study of DPC4 and p53 proteins in gallbladder and bile duct cancers, *World J. Surg.* 28 (2004), pp. 995–1000.
42. S.A. Hahn, D. Bartsch, A. Schroers, H. Galehdari, M. Becker and A. Ramaswamy et al., Mutations of the DPC4/Smad4 gene in biliary tract carcinoma, *Cancer Res.* 58 (1998), pp. 1124–1126.
43. X. Xu, S. Kobayashi, W. Qiao, C. Li, C. Xiao and S. Radaeva et al., Induction of intrahepatic cholangiocellular carcinoma by liver-specific disruption of Smad4 and Pten in mice, *J. Clin. Invest.* 116 (2006), pp. 1843–1852.
44. G.H. Lai, S. Radaeva, T. Nakamura and A.E. Sirica, 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* 31 (2000), pp. 1257–1265.
45. A. Celli, F.G. Que, G.J. Gores and N.F. LaRusso, Glutathione depletion is associated with decreased Bcl-2 expression and increased apoptosis in cholangiocytes, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 275 (1998), pp. G749–G757.
46. K. Okuda, Y. Nakanuma and M. Miyazaki, Cholangiocarcinoma: recent progress. Part 2: molecular pathology and treatment, *J. Gastroenterol. Hepatol.* 17 (2002), pp. 1056–1063.
47. N.J. Torok and G.J. Gores, Apoptosis of biliary epithelial cells. In: G. Alpini, D. Alvaro, M. Marziani, G. LeSage and N.F. LaRusso, Editors, *The Pathophysiology of Biliary Epithelia*, Landes Bioscience, Georgetown, TX (2004), pp. 219–226.
48. A. Skopelitou, M. Hadjiyannakis, V. Alexopoulou, O. Krikoni, S. Kamina and N. Agnantis, Topographical immunohistochemical expression of bcl-2 protein in human liver lesions, *Anticancer Res.* 16 (1996), pp. 975–978.
49. D.M. Harnois, F.G. Que, A. Celli, N.F. LaRusso and G.J. Gores, Bcl-2 is overexpressed and alters the threshold for apoptosis in a cholangiocarcinoma cell line, *Hepatology* 26 (1997), pp. 884–890.
50. K. Ohashi, Y. Nakajima, H. Kanehiro, M. Tsutsumi, J. Taki and Y. Aomatsu et al., Ki-ras mutations and p53 protein expressions in intrahepatic cholangiocarcinomas: relation to gross tumor morphology, *Gastroenterology* 109 (1995), pp. 1612–1617.
51. S. Furubo, K. Harada, T. Shimonishi, K. Katayanagi, W. Tsui and Y. Nakanuma, Protein expression and genetic alterations of p53 and ras in intrahepatic cholangiocarcinoma, *Histopathology* 35 (1999), pp. 230–240.

52. N.J. Torok, H. Higuchi, S. Bronk and G.J. Gores, Nitric oxide inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release by nitrosylating caspase 9, *Cancer Res.* 62 (2002), pp. 1648–1653.
53. U.C. Nzeako, M.E. Guicciardi, J.H. Yoon, S.F. Bronk and G.J. Gores, COX-2 inhibits Fas-mediated apoptosis in cholangiocarcinoma cells, *Hepatology* 35 (2002), pp. 552–559.
54. N. Hayashi, H. Yamamoto, N. Hiraoka, K. Dono, Y. Ito and J. Okami et al., Differential expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human bile duct epithelial cells and bile duct neoplasm, *Hepatology* 34 (2001), pp. 638–650.
55. N. Ishimura, S.F. Bronk and G.J. Gores, Inducible nitric oxide synthase upregulates cyclooxygenase-2 in mouse cholangiocytes promoting cell growth, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 287 (2004), pp. G88–G95.
56. M. Taniai, A. Grambihler, H. Higuchi, N. Werneburg, S.F. Bronk and D.J. Farrugia et al., Mcl-1 mediates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand resistance in human cholangiocarcinoma cells, *Cancer Res.* 64 (2004), pp. 3517–3524.
57. M. Taniai, H. Higuchi, L.J. Burgart and G.J. Gores, p16INK4a promoter mutations are frequent in primary sclerosing cholangitis (PSC) and PSC-associated cholangiocarcinoma, *Gastroenterology* 123 (2002), pp. 1090–1098.
58. E. Koch, W. Fiedler, A. Tannapfel and W.G. Ballhausen, Alteration of the fragile histidine triad gene in intrahepatic cholangiocarcinoma, *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 15 (2003), pp. 907–913.
59. S. Foja, M. Goldberg, U. Schagdarsurengin, R. Dammann, A. Tannapfel and W.G. Ballhausen, Promoter methylation and loss of coding exons of the fragile histidine triad (FHIT) gene in intrahepatic cholangiocarcinomas, *Liver Int.* 25 (2005), pp. 1202–1208.
60. K. Ohashi, M. Tsutsumi, Y. Nakajima, O. Noguchi, S. Okita and H. Kitada et al., High rates of Ki-ras point mutation in both intra- and extra-hepatic cholangiocarcinomas, *Jpn. J. Clin. Oncol.* 24 (1994), pp. 305–310.
61. T. Isa, S. Tomita, A. Nakachi, H. Miyazato, H. Shimoji and T. Kusano et al., Analysis of microsatellite instability, K-ras gene mutation and p53 protein overexpression in intrahepatic cholangiocarcinoma, *Hepatogastroenterology* 49 (2002), pp. 604–608.
62. A. Tannapfel, F. Sommerer, M. Benicke, A. Katalinic, D. Uhlmann and H. Witzigmann et al., Mutations of the BRAF gene in cholangiocarcinoma but not in hepatocellular carcinoma, *Gut* 52 (2003), pp. 706–712.
63. P. Argani, A. Shaukat, M. Kaushal, R.E. Wilentz, G.H. Su and T.A. Sohn et al., Differing rates of loss of DPC4 expression and of p53 overexpression among carcinomas of the proximal and distal bile ducts, *Cancer* 91 (2001), pp. 1332–1341.
64. S. Ozaki, K. Harada, T. Sanzen, K. Watanabe, W. Tsui and Y. Nakanuma, In situ nucleic acid detection of human telomerase in intrahepatic cholangiocarcinoma and its preneoplastic lesion, *Hepatology* 30 (1999), pp. 914–919.
65. Y. Yamagiwa, F. Meng and T. Patel, Interleukin-6 decreases senescence and increases telomerase activity in malignant human cholangiocytes, *Life Sci.* 78 (2006), pp. 2494–2502.

66. V. Easwaran, S.H. Lee, L. Inge, L. Guo, C. Goldbeck and E. Garrett et al., beta-Catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon cancer, *Cancer Res.* 63 (2003), pp. 3145–3153.
67. C. Benckert, S. Jonas, T. Cramer, Z. Von Marschall, G. Schafer and M. Peters et al., Transforming growth factor beta 1 stimulates vascular endothelial growth factor gene transcription in human cholangiocellular carcinoma cells, *Cancer Res.* 63 (2003), pp. 1083–1092.
68. T. Terada, Y. Okada and Y. Nakanuma, Expression of immunoreactive matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in human normal livers and primary liver tumors, *Hepatology* 23 (1996), pp. 1341–1344.
69. T. Maeda, P. Sepe, S. Lahousse, S. Tamaki, M. Enjoji and J.R. Wands et al., Antisense oligodeoxynucleotides directed against aspartyl (asparaginyl) beta-hydroxylase suppress migration of cholangiocarcinoma cells, *J. Hepatol.* 38 (2003), pp. 615–622.
70. K. Ashida, T. Terada, Y. Kitamura and N. Kaibara, Expression of E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and CD44 (standard and variant isoforms) in human cholangiocarcinoma: an immunohistochemical study, *Hepatology* 27 (1998), pp. 974–982.
71. J.A. Schroeder, M.C. Adriance, M.C. Thompson, T.D. Camenisch and S.J. Gendler, MUC1 alters beta-catenin-dependent tumor formation and promotes cellular invasion, *Oncogene* 22 (2003), pp. 1324–1332.
72. K. Leelawat, S. Leelawat, P. Tepaksorn, P. Rattanasinganchan, A. Leungchaweng and R. Tohtong et al., Involvement of c-Met/hepatocyte growth factor pathway in cholangiocarcinoma cell invasion and Its therapeutic inhibition with small interfering RNA specific for c-Met, *J. Surg. Res.* 31 (2006), p. 31.
73. B. Perbal, NOV (nephroblastoma overexpressed) and the CCN family of genes: structural and functional issues, *Mol. Pathol.* 54 (2001), pp. 57–79.
74. S. Tanaka, K. Sugimachi, T. Kameyama, S. Maehara, K. Shirabe and M. Shimada et al., Human WISP1v, a member of the CCN family, is associated with invasive cholangiocarcinoma, *Hepatology* 37 (2003), pp. 1122–1129.
75. H. Kim, C. Park, K.H. Han, J. Choi, Y.B. Kim and J.K. Kim et al., Primary liver carcinoma of intermediate (hepatocyte-cholangiocyte) phenotype, *J. Hepatol.* 40 (2004), pp. 298–304.
76. L. Libbrecht and T. Roskams, Hepatic progenitor cells in human liver diseases, *Semin. Cell. Dev. Biol.* 13 (2002), pp. 389–396.
77. D. Cassiman, L. Libbrecht, N. Sinelli, V. Desmet, C. Denef and T. Roskams, The vagal nerve stimulates activation of the hepatic progenitor cell compartment via muscarinic acetylcholine receptor type 3, *Am. J. Pathol.* 161 (2002), pp. 521–530.
78. N. Kanno, G. LeSage, J.L. Phinizy, S. Glaser, H. Francis and G. Alpini, Stimulation of alpha2-adrenergic receptor inhibits cholangiocarcinoma growth through modulation of Raf-1 and B-Raf activities, *Hepatology* 35 (2002), pp. 1329–1340.
79. C. Elsing, C. Hubner, B.A. Fitscher, A. Kassner and W. Stremmel, Muscarinic acetylcholine receptor stimulation of biliary epithelial cells and its effect on bile secretion in the isolated perfused liver (corrected), *Hepatology* 25 (1997), pp. 804–813.

80. N. Kanno, S. Glaser, U. Chowdhury, J.L. Phinzy, L. Baiocchi and H. Francis et al., Gastrin inhibits cholangiocarcinoma growth through increased apoptosis by activation of Ca²⁺-dependent protein kinase C- α , *J. Hepatol.* 34 (2001), pp. 284–291.
81. G. Fava, L. Marucci, S. Glaser, H. Francis, S. De Morrow and A. Benedetti et al., gamma-Aminobutyric acid inhibits cholangiocarcinoma growth by cyclic AMP-dependent regulation of the protein kinase A/extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway, *Cancer Res.* 65 (2005), pp. 11437–11446.
82. R.J. Bold, S. Alpard, J. Ishizuka, C.M. Townsend Jr. and J.C. Thompson, Growth-regulatory effect of gastrin on human colon cancer cell lines is determined by protein kinase a isoform content, *Regul. Pept.* 53 (1994), pp. 61–70.
83. M.S. Cookson, V.E. Reuter, I. Linkov and W.R. Fair, Glutathione S-transferase PI (GST-pi) class expression by immunohistochemistry in benign and malignant prostate tissue, *J. Urol.* 157 (1997), pp. 673–676.
84. C. Hudd, D.M. Euhus, M.C. LaRegina, D.R. Herbold, D.C. Palmer and F.E. Johnson, Effect of cholecystikinin on human cholangiocarcinoma xenografted into nude mice, *Cancer Res.* 45 (1985), pp. 1372–1377.
85. B. Zhao, H. Zhao, N. Zhao and X.G. Zhu, Cholangiocarcinoma cells express somatostatin receptor subtype 2 and respond to octreotide treatment, *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* 9 (2002), pp. 497–502.
86. C.K. Tan, P.V. Podila, J.E. Taylor, D.M. Nagorney, G.A. Wiseman and G.J. Gores et al., Human cholangiocarcinomas express somatostatin receptors and respond to somatostatin with growth inhibition, *Gastroenterology* 108 (1995), pp. 1908–1916.
87. L.K. Sampson, S.M. Vickers, W. Ying and J.O. Phillips, Tamoxifen-mediated growth inhibition of human cholangiocarcinoma, *Cancer Res.* 57 (1997), pp. 1743–1749.
88. G. Pan, S.M. Vickers, A. Pickens, J.O. Phillips, W. Ying and J.A. Thompson et al., Apoptosis and tumorigenesis in human cholangiocarcinoma cells. Involvement of Fas/APO-1 (CD95) and calmodulin, *Am. J. Pathol.* 155 (1999), pp. 193–203.
89. S.M. Vickers, N.C. Jhala, E.Y. Ahn, J.M. McDonald, G. Pan and K.I. Bland, Tamoxifen (TMX)/Fas induced growth inhibition of human cholangiocarcinoma (HCC) by gamma interferon (IFN-gamma), *Ann. Surg.* 235 (2002), pp. 872–878.
90. E.Y. Ahn, G. Pan, J.H. Oh, E.M. Tytler and J.M. McDonald, The combination of calmodulin antagonists and interferon-gamma induces apoptosis through caspase-dependent and -independent pathways in cholangiocarcinoma cells, *Am. J. Pathol.* 163 (2003), pp. 2053–2063.

CAPITOLO III

LA TERAPIA

RUOLO DELLA CHIRURGIA

L'unica terapia per il colangiocarcinoma è la resezione chirurgica completa con margini di resezione istologicamente negativi. Purtroppo solo pochi pazienti sono operabili per cui è auspicabile un rapido invio ad una equipe chirurgica specialistica (1). Prima di eseguire qualsiasi tipo di intervento tutti i pazienti dovrebbero essere accuratamente valutati per la resezione poichè la flogosi o una infezione associata al posizionamento di uno *stent* rendono spesso più difficile tale valutazione (2). Il tipo e l'estensione dell'intervento dipendono dalla sede del tumore all'interno del fegato o del tratto biliare. I miglioramenti tecnici nella chirurgia epato-biliare hanno aumentato la possibilità di una resezione curativa in un sottoinsieme di questi pazienti.

Nei pazienti con diagnosi di colangiocarcinoma intra-epatico è stato accertato che la resezione dà risultati migliori rispetto ad altri tipi di intervento (3).

Il problema principale del trattamento curativo è la precocità della diagnosi poichè un'alta percentuale di tumori si presenta ad uno stadio non più resecabile; anche in pazienti sottoposti ad esplorazione chirurgica ad intento curativo, nel 46,8-100% dei casi viene identificato intra-operatoriamente un tumore in stadio avanzato (3). La chirurgia dei tumori intra-epatici è simile a quella di altri tumori epatici primitivi e prevede una lobectomia o una segmentectomia epatica con escissione del dotto epatico coinvolto (4).

Dopo la resezione, la sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con colangiocarcinoma intra-epatico varia dall'8% al 47% con la sopravvivenza maggiore nei pazienti con margini di

resezione negativi (1). Negli ultimi 10 anni l'approccio chirurgico sempre più radicale ha determinato un aumento nel numero di pazienti con margini di resezione negativi e, di conseguenza, un miglioramento della sopravvivenza a 5 anni (1). Jan et al. (5) hanno dimostrato che i pazienti con colangiocarcinoma intra-epatico sottoposti a resezione epatica hanno una sopravvivenza significativamente migliore di quelli non sottoposti a resezione. La resezione curativa (R0) offre la migliore sopravvivenza complessiva ma fino al 40% dei pazienti presenta margini di resezione positivi (3). Tuttavia, in diversi studi, è stato notato un aumento della sopravvivenza anche nei pazienti sottoposti a resezione R1. Nello studio di Puhalla et al. (3) i pazienti con margini di resezione positivi hanno avuto una sopravvivenza complessiva significativamente peggiore rispetto a quelli con margini di resezione negativi ma i risultati sono comunque notevolmente migliori di quelli trattati con metodi palliativi. I pazienti dopo resezione R1 hanno presentato un tempo mediano di progressione di malattia inferiore, 5,3 mesi vs. 9 mesi rispetto alla sopravvivenza libera da recidiva del gruppo R0. Altri fattori prognostici sono costituiti dal margine di resezione < 3 mm, dalla presenza di metastasi linfonodali, dal numero e dalle dimensioni del tumore e dalla chemioterapia adiuvante (3).

Nei colangiocarcinomi extra-epatici coinvolgenti il coledoco vengono resecati l'albero biliare e i vasi linfatici ilari (6, 7). Una caratteristica del colangiocarcinoma ilare è la sua diffusione in profondità nel fegato lungo la via linfatica periduttale e perineurale e la parete dei dotti biliari (8). La maggior parte dei pazienti con tumori extra-epatici coinvolgenti la confluenza dei dotti biliari necessita, per ottenere una resezione adeguata, anche di una epatectomia parziale (6-7, 9). I tumori ilari (tumori di Klatskin)

spesso coinvolgono il dotto caudato principale, per cui si rende necessaria la resezione anche del lobo caudato (segmento 1).

I colangiocarcinomi distali vengono trattati con una duodeno-pancreasectomia secondo Whipple (DP) come i tumori ampollari o quelli della testa del pancreas (8); anche qui l'obiettivo principale è quello di ottenere margini di resezione negativi. L'embolizzazione preoperatoria della vena porta, che determina una ipertrofia lobare, riduce il rischio di mortalità operatoria (10); sono stati riportati risultati migliori con interventi più radicali resecando in blocco con il tumore la vena porta, il legamento ed effettuando una trisegmentectomia destra (11).

È ormai accertato che la resezione R0 offre la migliore possibilità di cura e di sopravvivenza a lungo termine; nella serie di Silva et al. (8) una analisi multivariata delle variabili neoplastiche ha dimostrato che i margini di resezione R0, oltre ad una stadiazione T precoce del tumore in base al sistema AJCC, sono fattori predittivi indipendenti della sopravvivenza a lungo termine, benché il numero limitato dei casi possa ridurre il valore dell'analisi. Inoltre è stato anche dimostrato che il modo migliore per ottenere una resezione R0 sia quello di resecare i dotti biliari insieme con il fegato (8). Secondo D'Angelica et al. (12) le metastasi linfonodali non sono predittive del risultato mentre altri ne hanno dimostrato l'importanza. In 2 recenti studi, è stato dimostrato che anche il *grading* del tumore costituisce un fattore predittivo indipendente (13).

La valutazione della resecabilità dovrebbe essere fatta subito dopo la diagnosi di colangiocarcinoma e prima della ERCP o CPT o prima ancora che il posizionamento di uno *stent* provochi flogosi o infezione che rendono più difficile la valutazione e, in seguito, l'intervento (5-8).

Una accurata stadiazione preoperatoria è necessaria per selezionare i candidati alla chirurgia ad intento curativo. La laparoscopia potrebbe essere utile per la stadiazione preoperatoria e per identificare i pazienti non candidabili alla chirurgia (14). I pazienti da sottoporre ad intervento dovrebbero essere in buone condizioni fisiche, avere una neoplasia resecabile con margini di resezione indenni e non presentare metastasi (8-12).

<u>Patient factors</u>	Medically unfit Global hepatic cirrhosis
<u>Tumour-related local factors</u>	Tumour extension into secondary biliary radicals bilaterally Involvement of common hepatic artery Atrophy of one hepatic lobe with contralateral portal vein occlusion or encasement Atrophy of one hepatic lobe with contralateral extension of the tumour into secondary biliary radicals Unilateral extension to secondary biliary radicals with contralateral portal vein occlusion or encasement
<u>Metastatic disease</u>	Liver, peritoneal or lung disease Metastasis to N2 level lymph nodes

Tabella I. Criteri di non-resecabilità del colangiocarcinoma ilare (Jarnagin et al.(51).

La controindicazione più frequente alla resezione è costituita dal coinvolgimento dell'arteria epatica principale o della vena porta (Tabella I), benché alcuni sostengano la resezione in blocco con ricostruzione vascolare (13). Anche il coinvolgimento da parte del colangiocarcinoma dei dotti biliari segmentali su entrambi i lobi epatici (Tipo 4 di Bismuth) controindica la resezione. L'atrofia del lobo epatico e l'estensione duttale epatica sono predittivi di una epatectomia per poter ottenere margini di resezione negativi (4, 15). Tra gli altri fattori locali che influenzano la resecabilità c'è anche l'atrofia lobare (15). Ogni dato disponibile deve essere usato per valutare la resecabilità e la non resecabilità.

Oltre alla sede del tumore e allo stato dei margini di resezione esistono anche altri fattori correlabili all'esito dell'intervento; lo stato nutrizionale del paziente ed il rischio

di insufficienza epatica post-operatoria sono fattori importanti da prendere in considerazione prima di procedere all'esplorazione per la resezione.

Un *review* retrospettivo di casi di colangiocarcinoma ilare ha dimostrato che un livello preoperatorio di sieroalbumina < 3 g/dl e un livello totale di bilirubina > 10 mg/dl erano associati a una minore sopravvivenza (16). In pazienti selezionati con colangiocarcinoma distale, trattati con DP, sono state riportate sopravvivenze a 5 anni del 20-54% (17, 18). Le metastasi linfonodali regionali sono frequenti in caso di colangiocarcinoma ilare (fino al 35% in una serie recente) (19), ma non ci sono prove che una dissezione estesa dei linfonodi migliori la sopravvivenza. Il drenaggio biliare preoperatorio è associato ad un aumento del rischio di colangite e ad una degenza ospedaliera più lunga, ma una ostruzione biliare non risolta può portare alla colestasi e all'insufficienza epatica (2). In uno studio su 28 pazienti con colangiocarcinoma ilare sottoposti ad intervento chirurgico curativo, non sono state riportate differenze significative nella morbilità e mortalità dei pazienti con e senza drenaggio biliare preoperatorio (20). Il drenaggio biliare preoperatorio non è da considerarsi una pratica di routine, ma dovrebbe essere utilizzato in pazienti settici e ad alto rischio (2).

Ai pazienti con colangiocarcinoma non viene proposto il trapianto ortotopico di fegato a causa dei risultati non incoraggianti riportati in passato; tuttavia, il ruolo del trapianto dovrebbe essere riesaminato alla luce degli studi recenti che ne dimostrano i benefici in pazienti selezionati. Sono stati pubblicati studi con buoni risultati (21) ed è stato anche riportato il trapianto multiviscerale in pazienti selezionati con colangiocarcinoma (22). Lo studio più recente su 207 pazienti con colangiocarcinoma sottoposti a trapianto epatico ha riferito percentuali di sopravvivenza a 1, 2 e 5 anni rispettivamente del 72, 48

e 23%, ma più del 50% dei pazienti ha presentato una recidiva entro 2 anni (23). Un secondo studio, con una percentuale di sopravvivenza a 3 anni del 30%, ha riportato che piccole dimensioni del tumore e la monofocalità sono indicatori prognostici positivi (24).

Alcuni *trial* su pazienti molto selezionati, sottoposti a nuovi protocolli adiuvanti e neoadiuvanti, hanno dato risultati incoraggianti. In uno studio della Mayo Clinic (25), 28 pazienti con colangiocarcinoma peri-ilare allo stadio I-II non resecabile sottoposti a laparotomia stadiativa negativa prima del trapianto epatico sono stati trattati con irradiazione esterna, chemioterapia sistemica con 5-fluorouracile (5-FU) e brachiterapia con ¹⁹²Ir + capecitabina per os. È importante notare che 1/3 dei pazienti inizialmente arruolati presentava, alla laparotomia stadiativa una linfadenopatia regionale non diagnosticata in precedenza e una diffusione locale della malattia o impianti metastatici peri-ilari per cui non è stata sottoposta a trapianto. Dei 28 pazienti trapiantati, 3 sono deceduti per complicanze peri-operatorie e in 4 il colangiocarcinoma è recidivato dopo 22-63 mesi (25).

La sopravvivenza complessiva a 5 anni è stata dell'82%, paragonabile ai risultati globali dopo trapianto epatico negli USA e migliore delle percentuali di sopravvivenza dopo resezione chirurgica (25). Tali risultati sono promettenti e inducono a eseguire ulteriori *trial* clinici per ottimizzare la selezione dei pazienti ed i trattamenti di chemio-radioterapia.

TERAPIA PALLIATIVA

La maggior parte dei pazienti presenta un tumore non resecabile. Per questi pazienti l'aspettativa di vita è molto bassa ed è in relazione allo stadio della neoplasia. L'evoluzione naturale è quella di una di progressione rapida con ostruzione biliare che può essere risolta palliativamente con la decompressione biliare chirurgica, radiologica o l'endoscopica (11). Secondo la World Health Organization, l'obiettivo principale delle terapie palliative è quello di migliorare la qualità di vita del paziente terminale riducendone il dolore e la sintomatologia e tenendo in considerazione anche le necessità dei familiari e della gestione comunitaria (26). Purtroppo, gli approcci terapeutici come la chemioterapia hanno ottenuto scarsi risultati per quanto riguarda il miglioramento della sopravvivenza. Mancano inoltre *trial* su approcci combinati, come la chemio- e la radio-terapia associate alla decompressione biliare. Il trattamento palliativo, per alleviare i sintomi, trattare la sepsi e normalizzare i livelli di bilirubina, eseguito prima della chemio- o della radioterapia, ha un ruolo fondamentale poiché l'80% dei pazienti con colangiocarcinoma ilare non è candidabile alla resezione e anche quelli sottoposti a resezione presentano un alto rischio di recidiva (1). La sopravvivenza mediana nei pazienti con colangiocarcinoma non resecabile è di circa 3 mesi senza drenaggio biliare e di 6 con il drenaggio (27); una colangite batterica o una insufficienza epatica contribuiscono spesso al decesso.

I candidati al drenaggio biliare chirurgico palliativo sono soltanto i pazienti con un tumore localmente non resecabile all'esplorazione chirurgica; alcuni ritengono che sia meglio eseguire una palliazione chirurgica di routine. L'intervento prevede una colecistectomia per evitare il successivo instaurarsi di una colecistite per ostruzione del dotto cistico da parte del tumore. Le opzioni per il drenaggio biliare comprendono il

bypass settoriale del dotto destro, l'intubazione trans-tumorale e la colangio-digiunostomia al III segmento (28). La mancanza di comunicazione tra l'emifegato destro e sinistro dovuta al tumore non è clinicamente significativa purchè 1/3 del parenchima epatico possa essere drenato e che l'emifegato destro non drenato non sia infetto o non sia stato sottoposto a drenaggio biliare per cutaneo (29). Uno studio su alcune delle serie più ampie con colangio-digiunostomia al III segmento ha riportato una morbilità del 17-51% ed una mortalità del 6-12% (29).

Il vantaggio principale del drenaggio chirurgico è quello di ottenere una pervietà permanente (30) mentre gli svantaggi sono costituiti da una maggiore morbilità, mortalità, costi e tempi di recupero dovuti ad una maggiore complessità dell'intervento. Alcuni studi che hanno messo a confronto il drenaggio biliare chirurgico con quello non chirurgico hanno dimostrato risultati simili per quanto riguarda la palliazione e la sopravvivenza (31). L'indicazione principale al drenaggio chirurgico si ha in pazienti selezionati, per i quali si prevede una prognosi favorevole.

Il drenaggio endoscopico biliare palliativo è considerato il trattamento di scelta in caso di tumore giudicato non resecabile preoperatoriamente. Alcuni centri con una grande esperienza endoscopica lo preferiscono rispetto al bypass chirurgico anche quando, all'esplorazione, il tumore viene giudicato non resecabile (32). Gli obiettivi principali del drenaggio biliare endoscopico palliativo sono quelli di alleviare l'ittero ed il prurito, di prevenire una colangite, di evitare l'insufficienza epatica per la progressiva ostruzione biliare e migliorare la qualità di vita (1). Le percentuali di pervietà sono generalmente più alte per i tumori distali rispetto a quelli ilari, i quali spesso necessitano di 2 o più *stent* per ottenere un corretto drenaggio (1).

Il drenaggio endoscopico si ottiene con *stent* di plastica (polietilene) o di metallo. L'inserimento percutaneo di uno *stent* biliare può essere preferito per i tumori ilari dato che il suo posizionamento è più facilmente eseguibile rispetto all'approccio endoscopico. Gli *stent* di metallo auto-espansibili, anche se singolarmente più costosi, stanno ottenendo sempre maggiore consenso poiché danno buoni risultati nella maggior parte dei casi di ostruzione ilare, hanno un diametro maggiore e rimangono pervi più a lungo di quelli di plastica, richiedendo così meno interventi ripetuti (33). Inoltre gli *stent* di metallo auto-espandenti comportano una minore degenza ospedaliera e un trattamento antibiotico minore, benché non vi siano differenze significative nella sopravvivenza dei pazienti con *stent* di plastica e di metallo. Nell'insieme, l'inserimento di *stent* di metallo rappresenta il trattamento più economico per una stenosi maligna inoperabile del coledoco, soprattutto nei pazienti senza metastasi epatiche per i quali è prevista una maggiore sopravvivenza (3-6 mesi) (28, 33) mentre gli *stent* di plastica dovrebbero essere posizionati in pazienti con una aspettativa di vita più breve (33). Prima di posizionare uno *stent* metallico auto-espandente si dovrebbe sempre ottenere la conferma istologica di neoplasia poiché questi *stent* non possono essere rimossi se non chirurgicamente. A seconda dell'entità della stenosi possono essere inseriti *stent* singoli o multipli. Quelli singoli sono adatti alle stenosi del dotto biliare principale al di sotto della confluenza (Tipo Bismuth I). Ci sono tuttavia delle controversie circa l'uso di *stent* singoli o multipli per stenosi ilari o di tipo Bismuth II-IV. Poiché soltanto circa il 25% del fegato necessita di essere drenato per una corretta palliazione, in assenza di sepsi del tratto biliare dovrebbe essere sufficiente posizionare un singolo *stent* in un lobo epatico (1, 28).

La radioterapia palliativa è indicata in pazienti con un tumore localmente avanzato non resecabile e senza metastasi a distanza o in quelli sottoposti a resezione palliativa o a bypass (28) in quanto contribuisce alla decompressione biliare e alla riduzione del dolore (34). Gli studi hanno riportato risultati variabili con la radioterapia ad irradiazione esterna con o senza iridio 192 intraluminari, montati per via endoscopica o per cutanea su un catetere e posizionati a livello della stenosi. I benefici sulla sopravvivenza sono discutibili e non vi sono studi controllati. La brachiterapia intraluminale può ulteriormente accrescere il rischio di complicanze secondarie alla colangite (35).

La chemioterapia sistemica palliativa è indicata in pazienti con malattia metastatica . Tuttavia, a causa della rarità di questi tumori, vi è una limitata esperienza per i colangiocarcinomi ilari e non esistono ampi *trial* di fase III, ma soltanto alcuni di fase II (36). La risposta alla chemioterapia palliativa è bassa e non sono stati comprovati benefici sulla sopravvivenza rispetto al drenaggio biliare da solo (37). Alcuni studi sull'uso del 5-FU combinato ad agenti come l'etoposide ed il leucovorin hanno riportato risposte parziali paragonabili a quelle di altri tumori chemiosensibili, valutate con la riduzione delle dimensioni della neoplasia e la stabilizzazione della malattia (36-38). I dati preliminari suggeriscono che la gemcitabina, il docetaxel, e un analogo del rebeccamicina potrebbero avere una certa attività contro il colangiocarcinoma (39).

TERAPIA FOTODINAMICA (PDT)

In questo nuovo trattamento, un sodio porfimerico fotosensibilizzante, che si localizza nei mitocondri, viene somministrato e.v. diffondendosi nel tessuto neoplastico entro 24-48

ore. Il processo è seguito dall'illuminazione diretta per via endoscopica della sede del tumore con luce a una particolare lunghezza d'onda che attiva il porfimer, generando radicali privi di ossigeno e causando la morte delle cellule tumorali ischemizzate (28, 40). È stato anche dimostrato che con questa tecnica è possibile ottenere la regressione di carcinomi della cute, dei polmoni, della faringe, dell'esofago e dello stomaco.

L'azione tumoricida arriva ad una profondità di 4 mm per cui la PDT è considerata una opzione terapeutica palliativa. La progressione del tumore è stimata a circa 6 mesi e ciò significa che la PDT è necessaria 2 volte l'anno (40). Diversi studi di fase II hanno riportato i benefici della PDT con una sopravvivenza mediana di 330-439 giorni e una sopravvivenza a 1 anno del 45-78% (40-42). Un recente studio randomizzato ha riportato un aumento significativo della sopravvivenza (Gruppo A con PDT: 493 giorni vs. Gruppo B senza PDT: 98 giorni; $p < 0.01$) ed un migliore drenaggio biliare e della qualità della vita (43). Questo studio è stato criticato poiché in nessuno dei due gruppi il solo posizionamento dello *stent* è riuscito a migliorare la colestasi (44). Ulteriori studi sono necessari soprattutto sulla PDT associata alla radio o alla chemioterapia o ad entrambe (1).

BIBLIOGRAFIA

1. Khan SA et al. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314.
2. Anderson CD et al. Diagnosis and Treatment of Cholangiocarcinoma. *Oncologist* 2004; 9: 43-57.
3. Puhalla H et al. Treatment and outcome of intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Am J Surg* 2005; 189: 173-177.
4. Nishio H et al. Left Hepatic Trisectionectomy for Hepatobiliary Malignancy: Results and an Appraisal of Its Current Role. *Ann Surg* 2005; 242:267-75
5. Jan YY et al. Prognostic analysis of surgical treatment of peripheral cholangiocarcinoma: Two decades of experience at Chang Gung Memorial Hospital. *World J Gastroenterol* 2005;11:1779-1784.

6. Masato N et al. Anatomic" Right Hepatic Trisectionectomy (Extended Right Hepatectomy) With Caudate Lobectomy for Hilar Cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006; 243:28-32
7. Hemming AW et al. Surgical Management of Hilar Cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2005; 241:693-9
8. Silva MA et al. Surgery for hilar cholangiocarcinoma; a 10 year experience of a tertiary referral centre in the UK. *EJSO* 2005; 31, 533–539.
9. Jarnagin WR et al. Surgical management of cholangiocarcinoma, *Semin Liver Dis* 2004, 24: 189–199.
10. Hemming AW et al. Preoperative portal vein embolization for extended hepatectomy. *Ann Surg* 2003;237: 686–691.
11. Patel T. Cholangiocarcinoma. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2006;3:33-42.
12. D'Angelica MI et al. Resectable Hilar Cholangiocarcinoma: Surgical Treatment and Long- Term Outcome. *Surg Today* 2004; 34:885-890.
13. Weber SM et al. Staging laparoscopy in patients with extrahepatic biliary carcinoma. *Ann Surg* 2002;235:392–9.
14. Corvera CU et al. Role of laparoscopy in the evaluation of biliary tract cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2002; 11: 877–891.
15. Ebata T et al. Hepatectomy with portal vein resection for hilar cholangiocarcinoma: audit of 52 consecutive cases, *Ann Surg* 2003; 238: 720–727.
16. CH S et al. Factors influencing postoperative morbidity, mortality, and survival after resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 1996;223:384–394.
17. Fong Y et al. Outcome of treatment for distal bile duct cancer. *Br J Surg* 1996; 83: 1712–1715
18. Wade TP et al. Experience with distal bile duct cancers in U.S. Veterans Affairs hospitals: 1987–1991. *J Surg Oncol* 1997; 64: 242–245.
19. Kitagawa Y et al. Lymph node metastasis from hilar cholangiocarcinoma: audit of 110 patients who underwent regional and para-aortic node dissection. *Ann Surg* 2001; 233: 385–392.
20. Figueras J et al. Changing strategies in diagnosis and management of hilar cholangiocarcinoma. *Liver Transpl* 2000; 6:786–794.
21. Meyer CG et al. Liver transplantation for cholangiocarcinoma: results in 207 patients. *Transplantation* 2000;69:1633–1637.
22. Iwatsuki S et al. Treatment of hilar cholangiocarcinoma (Klatskin tumors) with hepatic resection or transplantation. *J Am Coll Surg* 1998;187:358–364.
23. Alessiani M et al. Assessment of five-year experience with abdominal organ cluster transplantation. *J Am Coll Surg* 1995;180:1–9.
24. Shimoda M, Farmer DG, Colquhoun SD et al. Liver transplantation for cholangiocellular carcinoma: analysis of a single-center experience and review of the literature. *Liver Transpl* 2001;7:1023–1033.
25. JK Heimbach, GJ Gores and MG Haddock et al., Liver transplantation for unresectable perihilar cholangiocarcinoma, *Semin Liver Dis* 2004; 24: 201–207.
26. World Health Organization. National cancer control programmes: policies and managerial guidelines. 2002.
27. Berr F. Photodynamic therapy for cholangiocarcinoma, *Semin Liver Dis* 2004; 24: 177–187.

28. Singhal D.. Palliative management of hilar cholangiocarcinoma. *Surg Onc* 2005; 14:59–74.
29. Baer HU, Rhyner M, Stain SC, et al. The effect of communication between the right and left liver on the outcome of surgical drainage for jaundice due to malignant obstruction at the hilus of the liver. *HPB Surgery* 1994;8(1):27–31.
30. Chari RS et al. Treatment of cholangiocarcinoma II. In: BD Rose, Editor, *Up To Date*, UpToDate, Wellesley, MA (2003).
31. Prat F et al. Predictive factors for survival of patients with inoperable malignant distal biliary strictures: a practical management guideline. *Gut* 1998; 42: 76–80.
32. Gerhards MF et al. Palliative treatment in patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma: results of endoscopic drainage in patients with type III and IV hilar cholangiocarcinoma. *Eur J Surg* 2001;167:274–80.
33. 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
34. Ishii H, Furuse J, Nagase M, et al. Relief of jaundice by external beam radiotherapy and intraluminal brachytherapy in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma: results without stenting. *Hepatogastroenterology* 2004;51:954–7.
35. Gerhards MF, TM van Gulik, D Gonzalez Gonzalez, EA Rauws and DJ Gouma, Results of postoperative radiotherapy for resectable hilar cholangiocarcinoma, *World J Surg* 2003; 27:173–179.
36. Taieb J, Mitry E, Boige V, et al. Optimization of 5-fluorouracil (5-FU)/cisplatin combination chemotherapy with a new schedule of leucovorin, 5-FU and cisplatin (LV5FU2-P regimen) in patients with biliary tract carcinoma. *Annals of Oncology* 2002; 13:1192–6.
37. Patt YZ et al., Phase II trial of cisplatin, interferon alpha-2b, doxorubicin, and 5-fluorouracil for biliary tract cancer, *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3375–3380.
38. Chen JS, Lin YC, Jan YY, et al. Mitomycin C with weekly 24-h infusion of high-dose 5- fluorouracil and leucovorin in patients with biliary tract and periampullar carcinomas. *Anticancer Drugs* 2001;12:339–43.
39. Tsavaris N, Kosmas C, Gouveris P, et al. Weekly gemcitabine for the treatment of biliary tract and gallbladder cancer. *Investigational New Drugs* 2004;22:193–8.
40. Berr F. Photodynamic therapy for cholangiocarcinoma, *Semin Liver Dis* 2004; 24: 177–187.
41. Ortner MA, Liebetrueth J, Schreiber S, et al. Photodynamictherapy of nonresectable cholangiocarcinoma. *Gastroenterology* 1998;114:536–42.
42. Berr F, Wiedmann M, Tannapfel A, et al. Photodynamic therapy for advanced bile duct cancer: evidence for improved palliation and extended survival. *Hepatology* 2000;31:291–8.
43. Ortner ME, Caca K, Berr F, et al. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology* 2003;125:1355–63.
44. Gores GJ. A spotlight on cholangiocarcinoma. *Gastroenterology* 2003;125:1536–8.

STUDIO CLINICO

**IMPATTO PROGNOSTICO DELLE RESEZIONI
ALLARGATE NEL TRATTAMENTO DEL
COLANGIOCARCINOMA ILARE NELL'ERA
GENOMICA: ANALISI DI CENTRO**

SCOPO DELLO STUDIO

Il Colangiocarcinoma è un tumore relativamente raro con una incidenza media stimata attorno ai 3000 nuovi casi/anno negli USA nel 2005 (1). In una review di 294 pazienti portatori di colangiocarcinoma, Nakeeb et al. (2) dimostrano che nei 2/3 dei casi siamo di fronte a forme ilari (HC), nel 6% dei casi a forme intraepatiche (IC) e nel 27% sono neoplasie della via biliare distale.

La reale difficoltà terapeutica risiede sicuramente nella stima e nella giusta indicazione a un trattamento chirurgico avente finalità curative e dove la chirurgia resettiva allargata possa rappresentare un determinante prognostico significativo nel trattamento di questi pazienti. Jarnagin et al. (3) descrivono come solo il 30% dei soggetti con HC gestiti e diagnosticati all'interno di un centro di chirurgia epatobiliare sono da giudicare come inoperabili, perchè portatori di una malattia non suscettibile di trattamento resettivo, mentre nel 70% dei casi tale terapia è relativamente attuabile. Inoltre il 50% di questi malati trattabili chirurgicamente ha potenzialità curative. Ne consegue che il basso tasso di pazienti trattati, soprattutto nei centri Italiani ed Europei, con resezioni chirurgiche aventi finalità curative è da imputare o a un ritardo diagnostico oppure al fatto che solo

pochi chirurghi che operano in centri di eccellenza, specializzati in chirurgia epatobiliare, con la giusta esperienza per poter gestire questa patologia.

I primi Reports in letteratura riguardanti il trattamento chirurgico del colangiocarcinoma riportavano la resezione limitata dell'albero biliare principale (VBP) con successivo confezionamento di una anastomosi bilio-digestiva sui dotti intraepatici (4, 5). Blumgart e Launois, per primi hanno proposto di passare a resezioni allargate e regolate nel caso del IC, nonché di aggiungere delle demolizioni parenchimali nel HC (6, 7) suscitando pareri contrapposti nella comunità scientifica. Il progresso tecnico e tecnologico, cui si è assistito negli ultimi 20 anni nell'ambito della chirurgia epatica ha permesso sicuramente di attuare un approccio metodologico più aggressivo al trattamento del colangiocarcinoma ilare: è stata aggiunta la resezione parziale di quei segmenti epatici adiacenti alla confluenza biliare prima, passando alla resezione del I segmento dopo, al fine di ottenere margini di sezione liberi da malattia, nel sospetto di una crescita endocanalicolare della neoplasia biliare (3, 8-10).

Il nostro lavoro osservazionale e retrospettivo include un periodo relativamente lungo di pazienti trattati per Tumore di Klatskin con resezione epatica più o meno associata a resezione della VBP: tale studio mira a esaminare i risultati del trattamento chirurgico associato o meno a terapia adiuvante al fine di standardizzare i criteri di centro nel trattamento del colangiocarcinoma ilare ed evidenziare dei fattori prognostici di sopravvivenza.

PAZIENTI E METODI

Duecentouno soggetti affetti da tumore di Klatskin sono stati osservati presso la Clinica Chirurgica I- Chirurgia Epatobiliare e Trapianto di Fegato dell'Università di Padova fra il Gennaio 1999 e il Dicembre 2009. Centotrentuno casi (65%) sono stati trattati con terapia chirurgica ad intento curativo presso la Clinica Chirurgica I dell'Università di Padova nel periodo compreso fra Gennaio 1999 e Settembre 2009. La diagnosi veniva posta qualora la neoplasia insorgesse a carico del carrefour biliare oppure entro 5 mm distalmente da questo, secondo i criteri di definizione del tumore di Klatskin (5). In tutti i casi la diagnosi di colangiocarcinoma è stata confermata con esame istologico definitivo sul campione chirurgico oppure con biopsia epatica "open" nei soggetti risultati non resecabili alla laparotomia esplorativa.

Valutazione Pre-Operatoria

La stadiazione pre-operatoria di malattia consiste nella esecuzione di una Tomografia Computerizzata (TC) Toraco-Addominale per la valutazione della sede, delle dimensioni, della diffusione locoregionale e a distanza, della linfadenopatia e dell'eventuale coinvolgimento vascolare della lesione stessa. Si aggiunge una Angio/Colangio RMN al fine di studiare al meglio l'eventuale invasione vascolare – qualora dubbia alla TC- e i rapporti con l'albero biliare intra-/extraepatico.

Nei soggetti itterici si è preferito procedere al drenaggio biliare esterno pre-operatorio qualora i valori di bilirubina totale fossero maggiori di 250 mmol/l, con una incipiente colangite o insufficienza renale di grado lieve.

La stadiazione dei tumori è stata eseguita secondo i criteri dell' *International Union Against Cancer (UICC) tumor-node- metastasis (TNM) classification* (10). I margini di

sezione indenni da malattia neoplastica hanno permesso di definire come R0 il programma resettivo, mentre la positività all'esame microscopico definisce il trattamento come R1.

In 5 casi, ove il fegato residuo non garantiva un apporto funzionale ottimale post-resezione è stata praticata una embolizzazione portale del ramo dx, con successiva esecuzione – 4/6 settimane dopo- di una epatectomia destra allargata al IV° segmento.

La terapia adiuvante (Chemioterapia –CT- o Radioterapia -RT) è stata praticata dopo valutazione congiunta di una equipe mista. Fino al 2002 tutti i soggetti trattati con CT hanno praticato uno schema che aveva come farmaco di base il 5-fluorouracile (5-FU), mentre dal 2003 tutti i soggetti sono stati trattati con gemcitabina combinata con la somministrazione orale di capecitabina.

Dopo il trattamento chirurgico il follow up ha incluso ogni 3 mesi (per i primi 2 anni) l'esame obiettivo, la routine ematologica con dosaggio del Ca 19.9, tomografia computerizzata e/o Colangio RMN nei soggetti sottoposti a derivazione bilio-digestiva, esecuzione di PET-TC total body annualmente nel periodo successivo. La Disease-free survival è stata calcolata nei soggetti classificati come R0 dal momento della terapia chirurgica al punto in cui la recidiva di malattia si è resa evidente sotto il profilo clinico, biologico o morfologico.

La sopravvivenza mediana e attuariale è stata calcolata rispetto al tipo di resezione, dei margini di sezione dei parametric T/N/M, dell'infiltrazione vascolare e perineurale, del grading e dell'eventuale trattamento adiuvante radio-/chemioterapico.

Approccio Chirurgico

Tutte le varie procedure chirurgiche intraprese sono state avviate con intento curativo. Una laparoscopia esplorativa, nei casi dubbi alla valutazione morfologica pre-operatoria, è stata eseguita al fine di chiarire una disseminazione extraepatica di malattia. Alla laparotomia il primo tempo consisteva in una accurata esplorazione della cavità addominale al fine di escludere la presenza di malattia a livello omentale o delle maggiori stazioni linfonodali del compartimento sovramesocolico. I soggetti con assenza di malattia extraepatica sono stati giudicati operabili. In tutti i casi si procedeva con una ecografia epatica intraoperatoria per confermare o chiarire la sede e i rapporti della lesione a livello intraparenchimale.

In presenza di un HC di tipo IIIa, dopo una accurata dissezione ilare e isolamento del dotto epatico sinistro e del ramo sinistro della vena porta alla base del ligamento falciforme, qualora venisse constatata la assenza di malattia a carico del dotto per i segmenti II e III, nonché del ramo portale omolaterale, era possibile una trisegmentectomia destra allargata al lobo caudato.

Nelle localizzazioni sinistre del IC si procedeva con una epatectomia sinistra allargata al lobo caudato, mentre nel caso dei HC tipo IIIb si è sempre preferito eseguire accanto alla epatectomia sinistra allargata al I segmento, una resezione completa della via biliare principale fino al margine superiore del duodeno con successivo confezionamento di una anastomosi bilio-digestiva per la continuità biliare.

Una particolare attenzione per la tattica chirurgica da assumere hanno richiesto le lesioni ilari tipo I e II: in tal caso è stata eseguita in alcuni casi una mesoepatectomia al fine di garantire radicalità oncologica, pur in assenza di chiara infiltrazione del parenchima epatico, con accurata toilette e dissezione della placca ilare.

Nei primi casi esaminati, lungo il periodo 1999-2002 alcuni soggetti sono stati trattati solo con resezione della VBP, al fine di risparmiare un rischio legato alla resezione epatica, senza però ottenere risultati, come vedremo soddisfacenti.

La preservazione della vascolarizzazione arteriosa è stata assicurata sempre mediante il riconoscimento a livello ilare dei rami tributari del parenchima da risparmiare; la via biliare principale è stata sempre sezionata sul margine superiore del duodeno, praticando un esame istologico estemporaneo in maniera routinaria dal 2005 in poi, e una accurata linfadenectomia del legamento epatoduodenale, dell'arteria epatica comune fino al tripode celiaco è stata praticata in tutti i casi. L'asportazione del I segmento è stata eseguita routinariamente in quasi tutti i casi a partire dal 2001.

L'anastomosi bilio-digestiva di ricostruzione dell'asse biliare è stata sempre praticata secondo la modalità termino laterale su ansa esclusa sec. Roux. In tutti i casi è stata eseguita una colecistectomia.

Sono stati candidati a terapia adiuvante di tipo chemio/radioterapico tutti i soggetti N+ o con margini di sezione positivi.

ANALISI STATISTICA

Le caratteristiche basali dei pazienti sono state espresse mediante media \pm deviazione standard (DS) o mediana (range) a seconda delle esigenze descrittive per le variabili continue, e come frequenze (%) per le variabili categoriche - nominali. Il test del chi-quadrato (χ^2), il test esatto di Fisher e la regressione logistica sono stati utilizzati dove appropriato per i confronti tra gruppi. La lunghezza del follow – up, e la sopravvivenza sono stati espressi come mediana (range). Le curve di sopravvivenza dei pazienti sono

state costruite con il metodo di Kaplan-Meier e confrontate con il test Log rank. Per le variabili continue analizzate, il livello di cut-off è stato considerato il loro valore mediano. Il metodo dei rischi proporzionali di Cox è stato utilizzato per l'analisi uni e multivariata. La significatività statistica è stata posta con $P < .05$. I calcoli statistici sono stati effettuati con il software JMP (2004-2008 SAS Institute Inc.).

RISULTATI

Duecentouno soggetti affetti da tumore di Klatskin sono stati osservati presso la Clinica Chirurgica I- Chirurgia Epatobiliare e Trapianto di Fegato dell'Università di Padova fra il Gennaio 1999 e il Dicembre 2009. Centotrentuno casi (65%) sono stati trattati con terapia chirurgica ad intento curativo presso la Clinica Chirurgica I dell'Università di Padova nel periodo compreso fra Gennaio 1999 e Settembre 2009. (M:F= 73:58, ratio 1.57:1). La diagnosi morfologica e anatomo-patologica ha dimostrato (Tabella II) 8 casi (6.1%) tipo I sec. Bismuth e Corlette, 20 di tipo II (15.3%), 40 pz (30.5%) con Klatskin tipo IIIa e 49 casi (48.1%) tipo IIIb (5).

VARIABILE	131 Pz	UNIVARIATA LR - χ^2 (p)	MULTIVARIATA LR - χ^2 (p)
Sesso (maschi/femmine)	73/58	2,40 (0,12)	–
Età (anni)	63.9 (range 40-86)	3,32 (0,07)	–
Tipo diagnosi 1/2/3/4	8/20/40/49	1,87 (0,17)	–
Tipo resezione <i>LPT Espl (0)</i> <i>VBP+bil dig (1)</i> <i>Res.Maggiori – I°</i> <i>R Hep + I°</i> <i>L Hep + I°</i>	9 14 10 48 50	–	–
Resezione epatica maggiore*	98 (74%)	6,06 (0,01)	1,29 (0,25)
Bilirubina	99 (11-606)	0,01 (0,88)	–
CA 19-9	181 (0-141000)	0,18 (0,66)	–
Complicanze	49 (37.4%)	0,22 (0,63)	–
TNM T2/T3/T4 N0/N1/N2** M0/M1*	6/26/99 71/45/15 121/10	4,45 (0,10) 20,45 (<0,01) 12,55 (<0,01)	– 10,51 (<0,01) 0,01 (0,92)
Margini	50 (38%)	2,94 (0,09)	–
Infiltrazione vascolare*	46 (35.1%)	6,22 (0,01)	0,71 (0,39)
<i>Infiltrazione perineurale*</i>	<i>96 (74%)</i>	<i>6,35 (0,01)</i>	<i>3,75 (0,05)</i>
Grading 1/2/3	15/88/28	1,51 (0,46)	–
Drenaggio pre	96 (73%)	0,52 (0,47)	–
RT	77 (60%)	0,01 (0,97)	–
CT	89 (78%)	1,12 (0,28)	–

Tabella I. Caratteristiche dei pazienti operati per tumore di Klatskin. Analisi uni e multivariata.

Novantotto soggetti (74%) sono stati sottoposti a resezione epatica maggiore associata alla asportazione del I segmento, 14 pz (10.7%) hanno subito la resezione della via biliare principale e successiva ricostruzione mediante anastomosi bilio-digestiva al carrefour, 9 pz (6.9%) è stato trattato con sola laparotomia esplorativa per diagnosi di

carcinosi peritoneale misconosciuta alla valutazione pre-operatoria, mentre in 10 casi (7.6%) è stata operata una resezione epatica senza però asportazione del lobo caudato. In 81 casi (61.7%) si è operata una resezione R0, mentre nei restanti 50 soggetti (48.3%) è stata effettuata una resezione R1 per infiltrazione microscopica dei margini di sezione della via biliare principale o del parenchima epatico. In 4 casi (3%) è stata necessaria una ricostruzione vascolare: in un caso è stato sostituito il tronco comune della vena porta con graft iliaco venoso e in un altro caso è stata operata una rivascolarizzazione arteriosa del fegato destro con interposizione di graft da donatore cadavere. 60 soggetti (45.8%) hanno dimostrato metastasi linfonodali all'esame istologico definitivo, con influenza significativa sulla sopravvivenza ($p = 0.01$).

Sono state osservate complicanze maggiori in 49 soggetti (37.4%): abbiamo avuto 36 leakage biliari trattati in maniera conservativa, 6 fistole biliari ad alta portata che necessitavano di un reintervento chirurgico con riconfezionamento dell'anastomosi bilio-digestiva, 1 episodio di emobilia trattato in maniera conservativa, 5 casi di insufficienza respiratoria da versamento pleurico destro massivo che richiedeva il drenaggio toracico e 1 caso di infezione con deiscenza parziale della ferita chirurgica.

In 96 casi era stato praticato il drenaggio biliare pre-operatorio, di cui 58 pz con drenaggio esterno per cutaneo e 38 soggetti trattati con posizionamento di endoprotesi per via endoscopica.

La sopravvivenza mediana per tutto il gruppo dei pazienti trattati chirurgicamente è stata di 14 mesi, con un follow up mediano di 16.5 mesi (range 6-79). La sopravvivenza attuariale a 1, 3, 5 anni dei pz trattati è stata rispettivamente dell' 80%, 39% e 15 % (Figura 1). Soggetti trattati con resezione epatica maggiore allargata al I segmento hanno una sopravvivenza nettamente migliore rispetto al restante gruppo (actuarial

survival a 1, 3, 5 aa di 90%, 47% e 21% vs 60%, 29% e 0% dei soggetti trattati con altra modalità operatoria; Test di log Rank $p < 0.01$; figura 2).

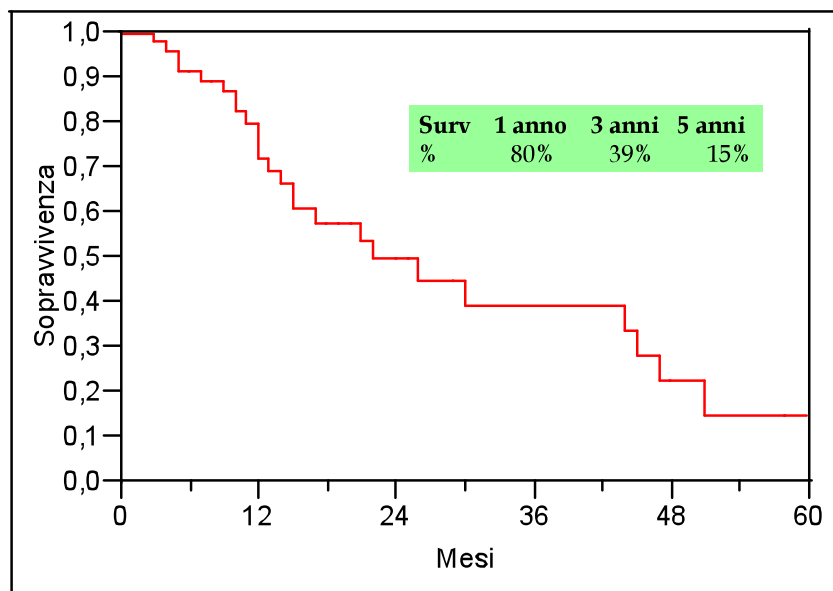


Figura 1. Sopravvivenza dei pazienti trattati chirurgicamente per tumore di Klatskin.

Variabili significative in termini di sopravvivenza all'analisi univariata sono risultate: l'esecuzione di una resezione epatica maggiore (epatectomia + exeresi del lobo caudato), l'infiltrazione linfonodale, perineurale, vascolare e il parametro M+ (figura 3). Fattori non condizionanti la sopravvivenza all'analisi univariata sono stati il sesso, l'età, la sede e il tipo della neoplasia sec. Bismuth e Corlette, i valori di bilirubina e Ca 19.9 pre-operatori, il parametro T, il grading e la terapia adiuvante (CT/RT). Pazienti con invasione linfonodale hanno una sopravvivenza peggiore rispetto ai soggetti N0 (actuarial survival a 1,3,5 aa 73%, 0%, 0% vs 92%, 62%, 23%; $p = 0.01$). Soggetti con invasione vascolare e perineurale hanno sempre una prognosi peggiore con significatività statistica in termini di sopravvivenza ($p < 0.001$).

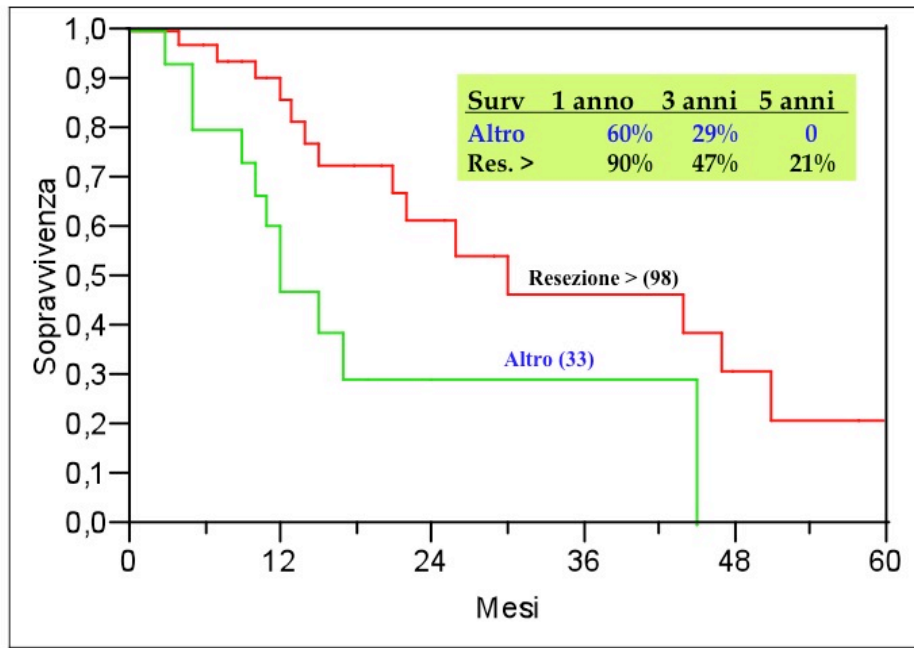
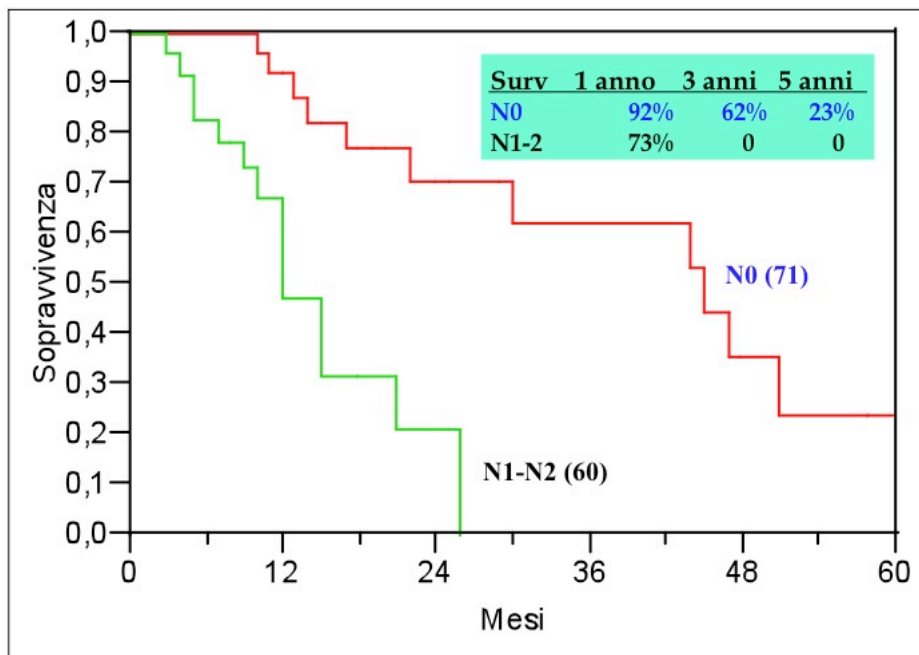


Figura 2 (in alto). Curva di sopravvivenza di Kaplan Meier in base al tipo di resezione epatica nei pazienti operati per tumore di Klatskin (Test di Log Rank; $p < 0,01$).

Figura 3 (in basso). Curva di sopravvivenza di Kaplan Meier in base alla presenza di infiltrazione linfonodale nei pazienti operati per Klatskin (Test di Log Rank; $p < 0,01$).



L'analisi multivariata eseguita con regressione di Cox ha documentato come solo l'infiltrazione linfonodale e perineurale realmente influenzano la sopravvivenza

(rispettivamente $p < 0.01$ e 0.05). Tutto ciò conferma come poi lo staging e la diffusione locoregionale sono parametri predittori di sopravvivenza.

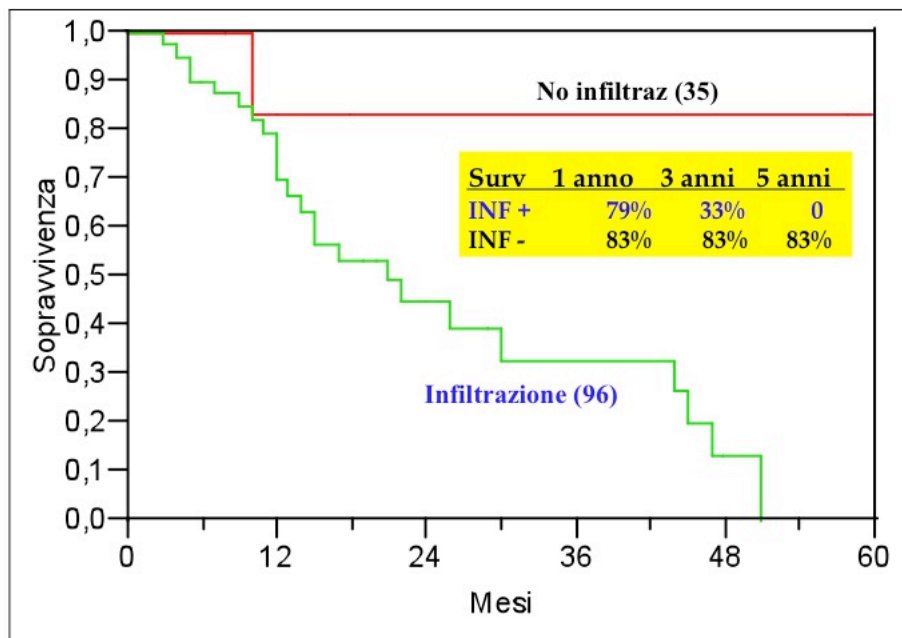


Figura 4. Curva di sopravvivenza di Kaplan Meier in base alla presenza di infiltrazione perineurale nei pazienti operati per Klatskin (Test di Log Rank; $p < 0,01$)

DISCUSSIONE

Il Colangiocarcinoma Ilare rimane una neoplasia di difficile gestione e trattamento con risultati relativamente scarsi in termini di sopravvivenza e di *disease free survival*. La radicalità oncologica richiesta al Chirurgo è l'elemento basilare su cui fondare le premesse per qualunque studio prognostico: infatti la presenza di una ricca rete linfatica, vascolare e nervosa complica molto la tattica chirurgica nonché la gestione tecnica delle varie procedure al fine di ottenere i migliori risultati.

Di recente, esistono alcuni reports in letteratura (11, 12, 13, 14) ove si invitano i chirurghi alla esecuzione di resezioni epatiche allargate al fine di ottenere resezioni R0 e così radicalità oncologica maggiore rispetto alle semplici *wedge resection* o alle

resezioni della via biliare principale. Esse sono la sola pratica che permette di ottenere resezioni R0 eridurre contestualmente il tasso di recidiva loco regionale, vista la progressione intraduttale di malattia che caratterizza il tumore di Klatskin (3, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22). Il reale e attuale problema sta nella morbilità e mortalità riservate alle resezioni epatiche maggiori che, però in mani esperte si attestano oramai su percentuali accettabili nell'ambito della chirurgia maggiore (15, 18, 23).

Nel caso del **colangiocarcinoma ilare** l'esecuzione di una epatectomia allargata in soggetti con ittero e valori elevati di bilirubina sierica può associarsi a un rischio peri-operatorio maggiore (13, 24, 25, 26). Ne consegue che molti Autori (27, 28, 29) consigliano tuttora il drenaggio pre-operatorio, pur considerando altri gruppi l'aumentato rischio di colangiti ascendenti che aumentano la morbilità intraoperatoria. Su questa linea recenti lavori in letteratura dimostrano comunque una riduzione del rischio di insufficienza epatica nei soggetti drenati (30, 31). Nella nostra serie 96 pazienti su 131 (73%) trattati chirurgicamente, sono stati sottoposti a drenaggio pre-operatorio: spesso tale posizionamento è stato effettuato in sedi ospedaliere diverse dalla nostra o comunque senza accurate pianificazione terapeutica. Infatti Blumgart et al. (32) descrivono come il soggetto portatore di HC debba essere pressochè immediatamente riferito a un centro specializzato di chirurgia epatobiliare al fine del corretto management.

Tradizionalmente abbiamo usato la classificazione di Bismuth-Corlette per identificare la sede anatomica del tumore (5), anche se siamo d'accordo sul fatto che spesso tale sistema non è predittivo in alcun modo della resecabilità della neoplasia. Probabilmente sarebbe risultato maggiormente utile il *Blumgart T-staging system* (3, 33), con cui non

solo si riesce a evidenziare il coinvolgimento dell'albero biliare, ma anche quello dell'asse artero-portale, nonché la accurata valutazione dell'atrofia lobare come criterio di non resecabilità: Nella nostra serie tale valutazione non è stata operata perchè purtroppo la serie analizzata ha un inizio antecedente all'introduzione del sistema classificativo di Blumgart, rischiando così la non uniformità dei dati sotto il profilo scientifico.

Uno però dei parametri più controversi rimane la qualità e la quantità di fegato residuo dopo resezione allargata: nella nostra serie la mortalità perioperatoria nei soggetti sottoposti a resezione allargata (98/131, 74%) è risultata nulla, sulla scorta di una accurata valutazione pre-operatoria di funzione residua e, dal 2002 in poi, anche basandoci su criteri di tipo volumetrico. In una recente serie di 58 pazienti sottoposti a resezione maggiore per HC, Seyama et al. (13, 31) usano preoperatoriamente l'embolizzazione portale in tutti i pazienti candidati a una resezione >50% del volume epatico, riportando un tasso di mortalità dello 0% e una morbilità del 43%, pressochè sovrapponibile ai nostri dati. Probabilmente la spiegazione fisiopatologica di tale processo potrebbe risiedere nel fatto che l'iniziale parziale disattivazione funzionale del lobo interessato dalla malattia, indurrebbe una ipertrofia volumetrica compensatoria e funzionale del lobo controlaterale, permettendo così al pz di tollerare lo stress chirurgico.

Il nostro tasso complessivo di complicanze (37.4%%) risulta inferiore agli standard della letteratura, che si attestano fra il 40% e il 52% (23, 30, 31-36): se poi analizziamo solo i soggetti sottoposti a resezione maggiore sempre allargata al I segmento tale tasso cala paradossalmente al 24% (37, 38).

In ogni caso, solo una resezione R0 + N0, assenza di invasione vascolare e perineurale è elemento predittivo in termini di sopravvivenza. Soggetti trattati con una resezione epatica maggiore allargata al I segmento, resezione della via biliare principale, colecistectomia e linfadenectomia di I livello hanno realmente possibilità di sopravvivenza maggiore ($p=0.01$, figura 1). L'invasione linfonodale peggiora in maniera drastica la sopravvivenza nella nostra serie (figura 2): in letteratura il ruolo del parametro N è piuttosto dibattuto. Esistono infatti lavori in cui c'è una profonda associazione fra la presenza di metastasi linfonodali e la sopravvivenza (23, 30, 39, 40) e altri invece in cui non viene attribuito alla N un ruolo definito (3, 23, 37). In ogni caso la presenza di positività neoplastica alle stazioni della *porta hepatis* non pregiudica in alcun modo la radicalità oncologica, dall'altra parte le stazioni maggiormente incriminate di trasformare una resezione R0 in R1 sono quelle lungo la arteria epatica comune fino al tripode celiaco.

Sorprendentemente nella nostra serie i margini di sezione non sono risultati decisivi nella prognosi e nella sopravvivenza dei soggetti esaminati: probabilmente i pz che avevano avuto una resezione R1 hanno beneficiato di chemio/radioterapia adiuvante rispetto ai soggetti con resezione R0 (100 % vs 70%). Tale spiegazione è stata anche giustificata da altre serie riportate in letteratura (13, 30, 32): tutti i soggetti infatti con resezione R1 ricevono programmi di CT/RT adiuvante piuttosto aggressivi che permettono di migliorare la survival.

Un ruolo controverso nella maggior parte delle casistiche internazionali hanno le resezioni vascolari associate a resezione epatica: la resezione portale e la sua ricostruzione non aumenta significativamente la mortalità e la morbidità, ma allo stesso

tempo non migliora la sopravvivenza (41, 42). Negli ultimi anni la “no-touch technique” introdotta da Neuhaus et al. (43) risulta sicuramente vantaggiosa se associate a resezione della biforcazione portale in caso di trisegmentectomia destra, cosa molto più difficile e non redditizia nelle resezioni sinistre.

CONCLUSIONI

Lo studio corrente conferma come un atteggiamento chirurgico aggressivo debba essere annoverato nel trattamento del colangiocarcinoma: resezioni estese parenchimali ed eventualmente dell'asse vascolare nell' HC e resezioni regolate con linfadenectomia nell' IC. La radicalità oncologica con resezioni R0 deve essere l'obiettivo da perseguire: tale risultato va però costruito con timing e precisione diagnostica, in quanto è l'unico fattore che riesce a prolungare la sopravvivenza. L'utilizzo di strategie che ottimizzino la funzione del fegato residuo permetterà di allargare sempre più le demolizioni parenchimali, resezioni R0 e sopravvivenza.

BIBLIOGRAFIA

1. Olnes MJ, Erlich R. A review and update on cholangiocarcinoma. *Oncology*. 2004;66:167–179.
2. Nakeeb A, Pitt HA, Sohn TA, et al. Cholangiocarcinoma: a spectrum of intrahepatic, perihilar, and distal tumors. *Ann Surg*. 1996;224:463–473.
3. Jarnagin WR, Fong Y, DeMatteo RP, Blumgart L, et al. Staging, resectability, and outcome in 225 patients with hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg*. 2001;234:507–517.

4. Tompkins RK, Thomas D, Wile A, et al. Prognostic factors in bile duct carcinoma: analysis of 96 cases. *Ann Surg.* 1981;194:447–457.
5. Bismuth H, Corlette MB. Intrahepatic cholangioenteric anastomosis in carcinoma of the hilus of the liver. *Surg Gynecol Obstet.* 1975;140:170–178.
6. Launois B, Campion JP, Brissot P, et al. Carcinoma of the hepatic hilus: surgical management and the case for resection. *Ann Surg.* 1979;190:151–157.
7. Beazley RM, Hadjis N, Benjamin IS, et al. Clinicopathological aspects of high bile duct cancer: experience with resection and bypass surgical treatments. *Ann Surg.* 1984;199:623–636.
8. Kosuge T, Yamamoto J, Shimada K, et al. Improved surgical results for hilar cholangiocarcinoma with procedures including major hepatic resection. *Ann Surg.* 1999;230:663–671.
9. Neuhaus P, Jonas S, Bechstein WO, et al. Extended resections for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg.* 1999;230:808–818.
10. National Cancer Institute. Liver and biliary ducts tumors, 2006.
11. Nishio H et al. Left Hepatic Trisectionectomy for Hepatobiliary Malignancy: Results and an Appraisal of Its Current Role. *Ann Surg* 2005; 242:267-75
12. Masato N et al. Anatomic” Right Hepatic Trisectionectomy (Extended Right Hepatectomy) With Caudate Lobectomy for Hilar Cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006: 243:28-32
13. Hemming AW et al. Surgical Management of Hilar Cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2005; 241:693-9
14. Puhalla H et al. Treatment and outcome of intrahepatic cholangiocellular carcinoma. *Am J Surg* 2005; 189: 173–177.
15. Ito F et al. Hilar Cholangiocarcinoma: Current Management. *Ann Surg* 2009;250: 210–218.
16. Ito F et al. Resection of hilar cholangiocarcinoma: concomitant liver resection decreases hepatic recurrence. *Ann Surg.* 2008; 248:273–279.
17. Lee SG et al. One hundred and eleven liver resections for hilar bile duct cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2000;7:135–141.
18. Chen XP et al. Extent of liver resection for hilar cholangiocarcinoma. *British Journal of Surgery* 2009; 96: 1167–1175.
19. Jonas S et al. Radical Surgery for hilar Cholangiocarcinoma. *EJSO* 2008; 34: 263-271.
20. Van Gulik TM et al. Multidisciplinary management of hilar cholangiocarcinoma (Klatskin Tumor): Extended resection is associated with improved survival. *EJSO* 2011; 37: 65-71.
21. Igami T et al. Surgical treatment of hilar cholangiocarcinoma in the “new era”: the Nagoya University experience. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17:449–454.
22. Rocha FG et al. Hilar cholangiocarcinoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17:490–496
23. Murakami Y et al. Prognostic Factors After Surgical Resection for Intrahepatic, Hilar, and Distal Cholangiocarcinoma. On line Published Oct 2010.
24. Liu F et al. Preoperative Biliary Drainage Before Resection for Hilar Cholangiocarcinoma: Whether or Not? A Systematic Review. On line published June 2010.

25. Su CH, Tsay SH, Wu CC, et al. Factors influencing postoperative morbidity, mortality, and survival after resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg.* 1996;223:384–394.
26. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, et al. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Arch Surg.* 2003;138: 1198–1206.
27. 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
28. Singhal D.. Palliative management of hilar cholangiocarcinoma. *Surg Onc* 2005; 14:59–74.
29. Hochwald SN, Burke EC, Jarnagin WR, et al. Association of preoperative biliary stenting with increased postoperative infectious complications in proximal cholangiocarcinoma. *Arch Surg.* 1999;134:261–266.
30. Kawasaki S, Imamura H, Kobayashi A, et al. Results of surgical resection for patients with hilar bile duct cancer: application of extended hepatectomy after biliary drainage and hemihepatic portal vein embolization. *Ann Surg.* 2003;238:84–92.
31. Seyama Y, Kubota K, Sano K, et al. Long-term outcome of extended hemihepatectomy for hilar bile duct cancer with no mortality and high survival rate. *Ann Surg.* 2003;238:73– 83.
32. D'Angelica MI et al. Resectable Hilar Cholangiocarcinoma: Surgical Treatment and Long- Term Outcome. *Surg Today* 2004; 34:885-890.
33. Blumgart LH et al. Differential diagnosis of proximal biliary obstruction. *Surgery* 2006 Nov;140(5):756-63.
34. Noshio H et al. TNM classification for perihilar cholangiocarcinoma: comparison between 5th and 6th editions of the AJCC/UICC staging system. *Langenbecks Arch Surg* 2005; 390: 319–327
35. Zervos EE et al. Stage does not predict survival after resection of hilar cholangiocarcinomas promoting an aggressive operative approach. *Am J Surg* 2005; 190: 810–815.
36. Goldberg MJ. Cholangiocarcinoma. *Dis Mon* 2004;50:540-4.
37. Rea DJ, Munoz-Juarez M, Farnell MB, et al. Major hepatic resection for hilar cholangiocarcinoma: analysis of 46 patients. *Arch Surg.* 2004;139:514–523.
38. Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, et al. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Arch Surg.* 2003;138:1198–1206.
39. Gromyer H et al. Perihepatic lymph node assessment in patients undergoing partial hepatectomy for malignancy. *Ann Surg.* 2006; 244:260-4
40. Khan SA et al. Guidelines for the diagnosis and management of cholangiocarcinoma, *Gut* 2002; 51(S6): VI1–VI9.
41. Anderson CD et al. Diagnosis and Treatment of Cholangiocarcinoma. *Oncologist* 2004; 9: 43-57.
42. Liu Cl et al. Improved operative and survival outcomes of surgical treatment for hilar cholangiocarcinoma. *Br J Surg* 2006; 93: 1488–1494
43. Neuhaus P, Jonas S, Settmacher U, et al. Surgical management of proximal bile duct cancer: extended right lobe resection increases resectability and radicality. *Langenbecks Arch Surg.* 2003;388:194–200.

SI RINGRAZIANO:

- *il professor Cillo, uomo di elevatissima intelligenza e vero ispiratore di questo progetto di ricerca e dell'intera scuola di dottorato, per quanto mi ha insegnato nel corso degli anni;*
- *A tutto il Gruppo della Chirurgia Epatobiliare e della "Nostra" Clinica Chirurgica I con cui ho condiviso una splendida esperienza umana e formativa.*