



## **Trattamento loco regionale dell'epatocarcinoma non resecabile mediante chemioembolizzazione con microparticelle caricate con epirubicina: valutazione di efficacia, tollerabilità e analisi farmacocinetica in uno studio clinico monocentrico**

Erica Quaquarini<sup>1</sup>, Giovanni Bernardo<sup>1</sup>, Alberto Riccardi<sup>1</sup>, Cristina Sottani<sup>2</sup>, Guido Poggi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Unità operativa di Oncologia II, e*

<sup>2</sup>*Laboratorio di Analisi Ambientali e Tossicologiche, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Salvatore Maugeri, Pavia, Italia*

---

### ***Trattamento loco regionale dell'epatocarcinoma non resecabile mediante chemioembolizzazione con microparticelle caricate con epirubicina: valutazione di efficacia, tollerabilità e analisi farmacocinetica in uno studio clinico monocentrico***

La chemioembolizzazione intrarteriosa epatica (TACE) rappresenta la terapia di prima linea nei pazienti affetti da epatocarcinoma (HCC) in stadio intermedio non resecabile. Recentemente, è stato introdotto l'utilizzo di microparticelle embolizzanti in grado di essere pre-caricate di farmaci chemioterapici (DEBs = Drug Eluting Beads), i più utilizzati dei quali sono la doxorubicina, il cisplatino e l'epirubicina. Ad oggi, i due tipi di particelle più utilizzati nella pratica clinica sono le DC Bead® e le HepaSphere MicroSphere®. La TACE con microparticelle è in grado di ridurre gli effetti collaterali sistemici della chemioterapia ed aumentare l'efficacia terapeutica locale poiché, oltre a determinare un effetto embolizzante arterioso, le micro particelle rilasciano gradualmente il chemioterapico nel sito tumorale, permettendo il raggiungimento di elevati valori di farmaco intratumorali con bassi livelli plasmatici sistemici. L'obiettivo di questo studio è determinare la prevalenza delle complicanze in pazienti affetti da HCC in stadio intermedio trattati mediante chemioembolizzazione intrarteriosa con i due tipi di microparticelle.

Tra gennaio 2007 e dicembre 2009, 80 pazienti sono stati sottoposti a trattamento di chemioembolizzazione epatica, per un totale di 125 trattamenti. Tutti i soggetti erano affetti da epatocarcinoma in stadio intermedio, per lo più in stadio BCLC B, e sono stati sottoposti a TACE con DC Bead o con HepaSphere precaricate con epirubicina (50 mg/provetta). Per valutare la tossicità della procedura di embolizzazione, sono stati effettuati prelievi di sangue venoso periferico prima della TACE e a distanza di 4 e 24 ore per monitorare l'andamento temporale di alcuni parametri ematochimici (emocromo e piastrine, bilirubinemia, transaminasi, gammaGT, amilasi, lipasi, alfa fetoproteina e funzionalità renale). L'eventuale sviluppo di effetti avversi post-embolizzazione è stato classificato secondo i Common Toxicity Criteria. La risposta al trattamento è stata valutata mediante TC addome con mdc dopo 40 giorni della procedura in base ai criteri mRECIST (modified Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). Si è così evidenziato che la pratica della chemioembolizzazione intrarteriosa non aumenta il rischio di complicanze post-procedurali e la prevalenza degli effetti avversi maggiori è simile alla TACE convenzionale. Inoltre, non abbiamo evidenziato differenze statisticamente significative nella prevalenza di effetti av-

versi maggiori tra i pazienti trattati con DC Bead e quelli trattati con HepaSphere. In un gruppo selezionato di 20 pazienti sono stati, inoltre, effettuati prelievi seriati di sangue venoso periferico al termine della iniezione della soluzione embolizzante e a 5, 10, 20, 40, 60, 120, 180, 360, 1,440 minuti dalla procedura, con lo scopo di studiare la farmacocinetica sierica dell'epirubicina. I risultati ottenuti hanno mostrato un basso picco di concentrazione sierica del chemioterapico, che ha raggiunto livelli di  $73.5 \pm 24.5$  ng/mL per il gruppo DC Bead e di  $33.9 \pm 11.0$  ng/mL per il gruppo HepaSphere. Il picco di concentrazione plasmatica del farmaco è stato osservato a 5 minuti dalla procedura in tutti i pazienti e le concentrazioni di epirubicina non hanno mai raggiunto valore zero fino alla fine delle nostre rilevazioni (24 ore) con valori medi compresi tra 2.3 e 24.2 ng/mL per entrambi i tipi di micro particelle. I dati ottenuti da questo studio permettono, quindi, di dedurre che entrambe le particelle siano in grado di rilasciare il chemioterapico in modo continuo e protratto nel tempo.

***Locoregional treatment of intermediate stage non resectable hepatocarcinoma with microparticles pre - loaded with epirubicin: efficacy and tolerability evaluation and pharmacokinetic analysis in a monocentric clinical italian trial***

Image-guided transcatheter arterial chemoembolization (TACE) is the first-line treatment for patients with intermediate stage HCC not candidate for curable therapies. Recently, microembolizing particles have been introduced in clinical practise; they are able to be loaded with chemotherapeutic agents, in particular doxorubicin, cisplatin and epirubicin. By now, two types of microparticles are mostly used in clinical practise: DC Bead® and HepaSphere Microsphere®. Drug Eluting Beads (DEBs)-TACE reduces side effects and improve local efficacy because the microparticles have a double effect: they embolize the arteries feeding the neoplastic lesion and they gradually realise the chemotherapeutic agent in the tumoral bed, to obtain high intratumoral drug levels and low systemic drug concentrations. The purpose of this study is to determine the prevalence of complication in patients affected by intermediate stage HCC treated with DEBs-TACE. Between January 2007 and December 2009, 80 patients have been treated with DEBs-TACE for a total of 125 treatments. Everyone was affected by intermediate stage HCC, mostly BCLC B; they received Drug Eluting Beads (DEBs)-TACE with DC Bead or HepaSphere MicroSphere pre-loaded with epirubicin (50 mg/vial). Biochemical blood analysis were performed before, 4 and 24 hours after the procedure to monitor some hematologic parameters. Side effects were reported following the Common Toxicity Criteria in order to evaluate post-TACE toxicity. Tumor response was assessed after 40 days from the procedure with CT scans according to the modified Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (mRECIST). This study shows that the use of drug-eluting microspheres did not increase the risk of post-procedural complication and the prevalence of major adverse events are similar to conventional TACE, according to data reported in literature. We, also, noticed no differences in the prevalence of adverse events between patients treated with DC Bead-TACE and HepaSphereTACE. Moreover, in a selected group of 20 patients, 12 treated with DC Bead and 8 with HepaSphere, we performed peripheral blood samples analysis at the end of the embolic solution delivery and at 5, 10, 20, 40, 60, 120, 180, 360, 1,440 minutes after the procedure to assess epirubicin serum pharmacokinetic. The pharmacokinetic study showed low peak serum epirubicin concentrations as median peak level was  $73.5 \pm 24.5$  ng/mL for the DC Bead group and  $33.9 \pm 11.0$  ng/mL for the HepaSphere cohort. The highest drug concentration was observed after microspheres injection at 5 minutes in all 20 patients. The PK profile never dropped to zero up until the end of the experiment. In the time-interval included between 1 and 24 hours, persisting levels of epirubicin were detected in patients' peripheral blood samples, ranging from 2.3 to 24.2 ng/mL for both embolics. This study suggests that, after an earlier release effect, occurring during the very first few minutes, both microspheres are capable of a sustained kinetic release.

---

## **Introduzione**

Il carcinoma epatocellulare o epatocarcinoma (HCC) è la principale causa di morte tra i pazienti cirrotici e, con 600,000 morti per anno, è la terza più comune causa di decesso cancro-relata al mondo [1]. Si colloca al sesto posto come incidenza globale tra le neoplasie, registrando un costante aumento in USA e nei paesi occidentali, dovuto per lo più all'incremento dell'incidenza dell'infezione da virus

dell'epatite C (HCV) [2]. In Italia, l'epatocarcinoma rappresenta la settima causa di morte per tumore, con circa 5,000 decessi annui, ossia il 3% delle morti per causa neoplastica [3]. Allo stato attuale, il trapianto di fegato, la resezione epatica e la termoablazione locale eco-guidata sono gli unici trattamenti curativi per l'epatocarcinoma in stadio precoce. L'HCC in stadio intermedio comprende soggetti in classe funzionale di Child-Pugh A e B con un singolo nodulo o multifocali lesioni senza sintomi correlati alla neoplasia, invasione macrovascolare o metastasi extraepatiche. Questi pazienti sono ottimi candidati alla terapia con chemioembolizzazione intraarteriosa (TACE), tecnica che è in grado di provocare necrosi tumorale in più del 50% dei pazienti trattati [4]. Infatti, la TACE permette di raggiungere tassi di risposta del 35-42 % e migliora la sopravvivenza se comparata alle sole terapie di supporto [5]. Tipicamente, la TACE convenzionale (cTACE) viene effettuata combinando una agente chemioterapico, il più utilizzato dei quali è la doxorubicina, con un olio emulsificante, il Lipiodol® (Savage Laboratories, Melville, NY). Tuttavia, il processo di emulsificazione tra Lipiodol e farmaci è molto instabile e le due componenti iniziano a separarsi non appena vengono iniettate nella circolazione arteriosa epatica. Come risultato di questa separazione, il profilo farmacocinetico dei chemioterapici è simile sia che vengano infusi per via intrarteriosa sia che vengano somministrati tramite cTACE [6-7].

Negli ultimi anni, l'introduzione delle microparticelle embolizzanti (DEBs) ha significativamente migliorato la pratica della chemioembolizzazione. Queste particelle sono in grado di assorbire l'agente chemioterapico e rilasciarlo nel sito tumorale, dopo essere migrate nei piccoli vasi sanguigni nutrenti la lesione. Inoltre, permettono di ridurre l'afflusso vascolare arterioso alla neoplasia e il wash-out del chemioterapico nella circolazione sistemica, ottenendo così un maggiore tempo di contatto tra farmaco e cellule tumorali [8]. Attualmente, le microparticelle più utilizzate nella pratica clinica sono le DC Bead®, anche chiamate LC Beads negli Stati Uniti, e le HepaSphere Microsphere®, anche chiamate Quadrasphere negli Stati Uniti e superadsorbent microspheres (SAP) dal suo inventore, il giapponese Sinishi Hori [9-12]. Esse hanno varie dimensioni, con diametro compreso tra 40 e 1,200 µm.

La maggior parte dei lavori pubblicati in letteratura ha indagato l'uso delle DC Bead nella DEB-TACE [13] mentre un numero limitato di studi ha analizzato la sicurezza e l'efficacia della TACE con HepaSphere [14]. Ad oggi, non sono stati pubblicati lavori in vivo di confronto tra procedure di chemioembolizzazione eseguiti con i due tipi di microparticelle nell'HCC in stadio intermedio. I risultati recentemente pubblicati dello studio PRECISION V [15] hanno evidenziato come la TACE con microparticelle sia una valida alternativa alla TACE convenzionale con Lipiodol. Infatti, se comparata con la cTACE, la DEB-TACE con doxorubicina è meglio tollerata, con una riduzione significativa della tossicità epatica ( $p < 0.001$ ) e degli effetti collaterali legati al chemioterapico ( $p = 0.0001$ ). L'uso della DEB-TACE migliora, inoltre, la risposta obiettiva nei pazienti in classe Child-Pugh B con malattia ad estensione bilobare o malattia ricorrente ( $p = 0.038$ ) [15].

Per quanto riguarda le analisi di farmacocinetica del chemioterapico precaricato nelle microparticelle, diversi studi hanno dimostrato che, in seguito a DEB-TACE, i livelli sistemici di doxorubicina sono significativamente ridotti rispetto alla cTACE [16-17]. Un lavoro di Valera [18] ha mostrato come la  $C_{max}$  e l'area sotto la curva (AUC) della doxorubicina siano inferiori nei pazienti trattati con DC Bead rispetto a quelli trattati con TACE convenzionale. Allo stesso modo nel 2007, uno studio di fase I/II condotto in 15 pazienti da Poon [19], ha messo in luce come la  $C_{max}$  della doxorubicina sia raggiunta dopo 5 minuti dalla procedura ed è seguita da un rapido decremento nelle successive 12 ore con mantenimento di una concentrazione plasmatica costante nel tempo.

Un primo studio sull'epirubicina risale a Rudolph nel 1995; in esso, il farmaco è stato distribuito nella circolazione arteriosa epatica usando una sospensione di microsfele degradabili di amido (DSM), le Spherex® (Kabi Pharmacia, Erlangen, Germany), ed ha mostrato come la  $C_{max}$  e l'AUC dei pazienti trattati con DEB - TACE fossero inferiori rispetto ai pazienti trattati con cTACE [20]. In uno studio più recente, l'epirubicina è stata caricata su microsfele polimeriche superassorbenti (ELM -TACE) con lo scopo di di-

mostrare la sicurezza e l'efficacia di questo tipo di trattamento in pazienti con HCC in stadio avanzato [21]. Anche se considerata una procedura relativamente sicura, la TACE è stata associata a diverse complicazioni. Alcuni fattori di rischio sono legati all'incremento di prevalenza delle complicanze dopo trattamenti di TACE; i più comuni sono rappresentati da una scarsa riserva funzionale epatica, con aumento dei valori di bilirubina, la presenza di significativa dilatazione delle vie biliari intraepatiche e trombosi venosa nei rami portali maggiori. Altri eventi avversi possono derivare dalla procedura di accesso vascolare o come risultato del trattamento sul tessuto canceroso e non canceroso circostante [18, 22-23].

## Scopo del lavoro

Lo studio si prefigge di analizzare e confrontare in maniera retrospettiva l'efficacia e la tollerabilità delle procedure di DEBs-TACE con DC Bead ed HepaSphere in un gruppo di 80 pazienti affetti da tumore epatico primitivo (HCC). In un gruppo selezionato di 20 pazienti è stata, inoltre, eseguita l'analisi della farmacocinetica dell'epirubicina sierica, utilizzando un metodo di spettrometria di massa già validato in un precedente studio del nostro gruppo [24-25].

## Materiali e metodi

Questa analisi retrospettiva è stata condotta presso la Fondazione IRCCS Maugeri di Pavia, Dipartimento di Oncologia II. Tra gennaio 2007 e dicembre 2009, abbiamo eseguito 125 procedure di chemioembolizzazione intrarteriosa epatica con microparticelle in 80 pazienti affetti da HCC in stadio intermedio.

I criteri di eleggibilità per la procedura erano: età  $\geq 18$  anni, diagnosi istologica di HCC non candidabile a terapie curative, classe Child-Pugh A e B ed ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) Performance Status 0 o 1. I criteri di esclusione erano: conta piastrinica inferiore a  $50 \times 10^9/L$ , livelli di bilirubina sierici maggiori di 3 mg/dl, livelli di transaminasi epatiche maggiori di cinque volte rispetto al valore normale, valori di creatinina maggiori di 2 mg/dl, presenza di shunts porto-sistemici, flusso sanguigno epatofugo, presenza di trombi nel ramo principale della vena porta e metastasi extraepatiche nonché qualsiasi controindicazione alla somministrazione di antracicline.

Le caratteristiche basali dei pazienti trattati sono riassunte nella tabella 1. I due gruppi di trattamento erano omogenei e confrontabili poiché i pazienti presentavano caratteristiche simili. La casistica comprendeva 80 pazienti, 60 maschi e 20 femmine, le cui età al momento dell'esecuzione delle procedure era mediamente 65 anni nel gruppo DC Bead e 68 anni nel gruppo HepaSphere. Settantuno pazienti erano in classe Child-Pugh A e 9 in classe Child-Pugh B; 31/80 erano BCLC A, 43/80 BCLC B e 6/80 BCLC C a causa di invasione vascolare minore o Performance Status 1. La causa dell'epatopatia era connessa al virus dell'epatite C in 58 pazienti, in 7 pazienti al virus dell'epatite B, in 5 pazienti esotossica e 10 pazienti presentavano cause concomitanti comprendenti HCV e HBV-positività, HCV-positività ed alcolismo, equamente distribuiti nei due gruppi di trattamento. Inoltre 25 pazienti (31.3%) erano diabetici, mentre 55 (68.8%) non presentavano tale patologia.

Ottanta procedure sono state eseguite con DC Bead® (diametro delle particelle 100-300  $\mu m$ ) e 45 con HepaSphere Microsphere® (diametro delle particelle 50-100  $\mu m$ ). I pazienti hanno ricevuto dosi di epirubicina variabili da 50 a 125 mg e sono stati divisi in due coorti in base alla dose di farmaco somministrata (<75 mg e >75 mg). Non sono stati effettuati aggiustamenti di dose del farmaco in base alla bilirubinemia sierica o alla superficie corporea dei pazienti. Allo scopo di identificare i vasi sanguigni afferenti alla neoplasia e la pervietà della vena porta, sono stati eseguiti studi angio-

grafici preliminari dell'arteria mesenterica superiore, del tronco celiaco e dell'arteria epatica. Per la somministrazione arteriosa del contrasto è stato utilizzato un approccio femorale attraverso un introduttore di 25 cm di calibro 5-6 F allo scopo di rendere rettilineo il punto d'inserzione delle arterie iliache nell'aorta. La sessione di TACE, effettuata con microcateterismo selettivo dell'arteria nutriente la lesione neoplastica, è stata considerata conclusa quando è stata ottenuta una completa devascularizzazione delle lesioni targets al termine della procedura. La TACE è stata ripetuta a discrezione del medico, in presenza di lesione tumorale vitale residua, valutata mediante TC addome con mdc, per un massimo di tre procedure per paziente (numero medio pari a 2).

Il protocollo è stato validato dal Comitato Etico della Fondazione e prima del trattamento è stato somministrato ed ottenuto il consenso informato scritto da parte dei candidati. Di ciascun paziente sono state considerate le caratteristiche cliniche, le eventuali co-morbidità, le caratteristiche del tumore, le variabili legate alla terapia di TACE (tipologia di particelle, dose di farmaco), le complicanze post-procedurali e l'andamento dei parametri ematochimici.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una mirata profilassi farmacologica prima della procedura. I farmaci impiegati nella nostra pratica clinica sono stati: cortisonici in bolo e.v. (metilprednisolone) per sopprimere o ridurre la possibile iperreattività vascolare ormonomediata, farmaci antiemetici (metoclopramide), antibiotici e.v. o per os come profilassi delle batteriemie transitorie (acido clavulanico+amoxicillina).

I pazienti sono stati sottoposti a prelievi di sangue venoso periferico prima della procedura per valutare: emocromo, funzionalità renale ed epatica e i valori di amilasi, lipasi ed alfa fetoproteina. Inoltre, in un gruppo selezionato di 20 pazienti, 12 del gruppo DC Bead e 8 del gruppo HepaSphere, sono stati effettuati prelievi di sangue venoso periferico seriati per determinare il profilo di farmacocinetica dell'epirubicina rilasciata dalle microparticelle.

La procedura di preparazione delle DC Bead è stata eseguita aggiungendo 2 mL di soluzione acquosa sterile alle particelle di diametro 100-300  $\mu\text{m}$ . Il surnatante è stato eliminato dalle colonne e 4 mL di soluzione di epirubicina sono stati aggiunti alle particelle. In seguito, la provetta è stata agitata e mantenuta a 2-8°C per un'ora. La quantità massima di carico raggiunta è stata di 25 mg/mL di epirubicina per un totale di 50 mg/provetta. Una volta completato il tempo di caricamento, sono stati aggiunti, a ogni millilitro di DC Bead caricate, 5 mL di acqua per soluzioni iniettabili e 5 mL di mezzo di contrasto non ionico (Iodixanol; Visipaque 270; Amersham Health, Milan, Italy) in una siringa da 20-30mL. La procedura di caricamento delle HepaSphere è stata, invece, condotta nel modo seguente: 50 mg/provetta di epirubicina sono stati ricostruiti in 20 mL di soluzione fisiologica 0.9 % usando una siringa da 30 mL. È stata, quindi, aggiunta una soluzione di epirubicina cloridrato (10 mL) alle HepaSphere liofilizzate con un diametro a secco compreso tra 50-100  $\mu\text{m}$ . La massima dose di farmaco caricata è stata di 50 mg di epirubicina. Le provette sono state ruotate diverse volte per permettere alle microsfeere di essere ben separate. Dopo questo, la provetta contenente 10 mL di epirubicina (25 mg/10 mL) è stata lasciata riposare per 10 minuti, trascorsi i quali i restanti 10 mL di soluzione di epirubicina sono stati aggiunti e le microsfeere sono state così lasciate per circa 60 minuti per completare il caricamento. Si pensa che entrambe le microparticelle abbiano lo stesso pattern di interazione con il farmaco, basato su un meccanismo di scambio ionico (Figura 1).

Le particelle caricate sono state in seguito diluite con 20 mL di mezzo di contrasto non ionico (Visipaque 270) e somministrate raccordando una siringa a un tre-vie tra due siringhe da 20 mL. Differenti dosi di epirubicina sono state somministrate ai pazienti utilizzando un numero di provette adeguatamente preparato. Le particelle sono state iniettate manualmente sotto continuo controllo fluoroscopico, con una siringa Luer-lock attraverso il microcatetere posizionato il più distalmente possibile in arteria epatica destra o sinistra, avendo cura di evitare ogni possibile dannoso reflusso di chemioterapia all'interno delle arterie che irrorano la colecisti o la parete gastrica. L'iniezione è avvenuta, inoltre, a differenti velocità non solo per ridurre il rischio dell'occlusione del catetere ma anche in funzione del-

le differenti morfologie del tumore da trattare. Dopo la somministrazione, è stato effettuato un secondo studio angiografico epatico con lo scopo di verificare la presenza di tessuto vitale patologico residuo. L'obiettivo angiografico è stato considerato raggiunto quando non era più visibile presa di contrasto nell'area patologica; se presente, è stata praticata una ulteriore iniezione della medesima soluzione embolizzazione nella lesione neoplastica. Dopo la TACE, i pazienti sono stati ospedalizzati per almeno una notte. A seconda delle condizioni cliniche, è stata somministrata terapia antiemetica e/o analgesica. Sono stati eseguiti prelievi ematochimici a 4 e a 24 ore dalla procedura per valutare: emocromo, la funzionalità epatica e renale, dosaggi di amilasi, lipasi ed alfa fetoproteina. Se i pazienti sono stati ricoverati per un tempo maggiore, i prelievi ematochimici di controllo sono proseguiti fino a 7 giorni dopo la procedura. Un esame ecografico di controllo è stato eseguito il giorno dopo la procedura per visualizzare colecisti, pancreas e fegato ed escludere complicanze precoci relate alla embolizzazione in zone non-target. Gli effetti avversi che si sono manifestati sono stati classificati secondo i CT CAE (Common Toxicity Criteria CAE, US National Cancer Institute, NCI-CTC version 4.02) [26-27]. Sintomi tipici come nausea, vomito, dolore e febbre sono stati classificati come sindrome post-chemioembolizzazione (PES). Se questa sintomatologia si è manifestata per più di 5 giorni o è evoluta in grado G3 o 4, è stata riportata come evento a sé stante. L'efficacia del trattamento è stata esaminata mediante TC addome con mdc dopo un mese dalla procedura descrivendo gli aspetti della lesione trattata secondo i criteri mRECIST (modified Response Evaluation Criteria in Solid Tumor Criteria) [28].

## Risultati

Le analisi svolte hanno considerato il singolo trattamento di TACE come unità di valutazione e i conteggi con le relative percentuali sono da intendersi pertanto come percentuali rispetto al numero di TACE e non rispetto al numero di pazienti. Pertanto, ciascuna procedura è stata analizzata indipendentemente, trascurando così l'effetto sommatorio nei pazienti sottoposti a molteplici TACE.

Il confronto tra il trattamento con DC Bead e quello con HepaSphere Microsphere è stato effettuato applicando il test chi-quadrato per le variabili discrete e il test t-Student per dati non appaiati per le variabili continue; per la valutazione degli andamenti temporali dei parametri ematochimici, si sono applicati i modelli di analisi della varianza per misure ripetute ad un fattore (fattore =DC Bead vs HepaSphere). Tale analisi consente di valutare eventuali differenze significative in tempi successivi sia sul totale dei dati presenti sia in relazione al tipo di particelle utilizzate. In questo modo è stata valutata la prevalenza di complicanze sul campione intero di 80 pazienti. Sul totale di 125 TACE analizzate, 18 (14.4%) hanno comportato l'insorgenza di una complicanza e 4 (3.2%) l'insorgenza di due complicanze; di queste, 16 (20%) nel gruppo DC Bead e 6 (13.3%) nel gruppo HepaSphere (Tabella 2). Non sono state riscontrate complicanze maggiori periprocedurali e non si è riscontrato un aumento di prevalenza di eventi avversi in relazione al tipo di particelle utilizzate e alla dose di epirubicina prevaricata. Nello specifico, abbiamo riscontrato una prevalenza di pancreatiti acute pari al 3.2% (4 casi), di cui 3 (3.8%) nel gruppo DC Bead e 1 (2.2%) nel gruppo HepaSphere; di ascessi epatici pari al 3.2% (4 casi), di cui 3 (3.8%) nel gruppo DC Bead e 1 (2.2%) nel gruppo HepaSphere; di colecistiti del 5% (4 casi) tutte in pazienti trattati con DC Bead; di ascite pari a 5.6% (7 casi), di cui 5 (6.8%) nel gruppo DC Bead e 2 (4.4%) nel gruppo HepaSphere. Ulteriori complicanze, più rare, sono state considerate in un unico gruppo con una prevalenza complessiva pari al 4% (5 casi). In tale gruppo sono state incluse: anemizzazione ed ematemesi (1 procedura), nausea G2 (1 procedura) e sofferenza ischemica miocardica (1 procedura) nei pazienti sottoposti a DC Bead-TACE; anemizzazione (1 procedura) e stravasamento emorragico con edema all'arto inferiore omolaterale (1 procedura) nei pazienti sottoposti ad HepaSphere-TACE (Tabella 3).

Separatamente, è stata valutata la prevalenza del più comune effetto collaterale, rappresentato dalla Sindrome Post-chemioembolizzazione che si è manifestata a seguito di 84 procedure (67.2%) equamente distribuite tra i 2 gruppi. In particolare il dolore è risultato presente nel 67.5% (54 procedure) delle TACE eseguite con DC Bead e nel 66.7% (30 procedure) delle TACE eseguite con HepaSphere ( $p=0.649$ ) con intensità mostrate in tabella 3. Nella maggioranza di casi, tuttavia, il dolore è di grado lieve (G1). Tuttavia, le TACE eseguite con DC Bead hanno registrato un 18.5% di procedure con dolore G2 e un 5.6% con dolore G3 ( $p=0.649$ ).

Un totale di 36 procedure è stato eseguito in soggetti diabetici. La prevalenza di complicanze in questo gruppo è stato del 27.8% in confronto al 13.5% nei restanti pazienti ( $p=0.057$ ). Sono stati registrati solo 18 casi di anemia, 12 casi di piastrinopenia e 2 casi di leucopenia equamente distribuiti tra i due gruppi e per lo più di grado 1 o 2. Abbiamo riscontrato solo un caso di eritrocitopenia G4 in un paziente trattato con DC Bead. Non è stato riscontrato incremento del valore delle gamma GT mentre in 21 casi è stato registrato un aumento di grado 1 e 2 dei valori di bilirubinemia sierica, con distribuzione simile nei due gruppi di trattamento. Per quanto riguarda, invece, l'analisi dei valori delle transaminasi, in entrambi i gruppi di pazienti le GOT e le GPT hanno mostrato un andamento temporale di progressiva risalita a 4 ore dalla procedura per poi ritornare ai livelli basali a 24 ore dalla TACE, senza differenze significative in relazione alla tipologia di micro particelle utilizzate (Figura 2). Nel pazienti sottoposti a più procedure, i livelli di transaminasi sono ritornati al valore basale prima dell'esecuzione di una nuova TACE.

Per quanto riguarda la valutazione dell'efficacia, i tassi di risposta sono stati utilizzati come surrogati della sopravvivenza globale e valutati mediante TC con mezzo di contrasto dopo un mese dalla procedura. I diametri delle lesioni trattate vanno da 11.8 a 51 mm (valore medio 31.4 mm). Si è ottenuta risposta completa nel 25% dei casi trattati con DC Bead e 37.5% dei pazienti trattati con HepaSphere; risposta parziale nel 33.3% dei pazienti trattati con DC Bead e 37.5% dei casi trattati con HepaSphere. Non si sono rilevate differenze nelle risposte obiettive tra i due gruppi di trattamento.

Dopo le procedure di chemioembolizzazione, sono stati prelevati campioni di sangue venoso periferico da 20 pazienti a tempo zero (subito dopo aver completato l'iniezione del mezzo embolizzante) e a 5, 10, 20, 40, 60, 120, 180, 360, e 1,440 minuti dalla procedura; sono stati quindi raccolti in provette e processati a temperatura ambiente mediante centrifugazione a 4,000xg per 5 minuti per separare il siero. Il siero, in quantità di 1 mL, è stato immediatamente prelevato e congelato a  $-20^{\circ}\text{C}$  prima delle analisi.

La cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC) combinata con la spettrometria di massa tandem è stata utilizzata per validare un saggio rapido e specifico di LC-ESI-MS/MS con lo scopo di misurare i livelli di epirubicina nei campioni di sangue dei pazienti. È stato, quindi, determinato il più basso limite di quantificazione (LLOQ) analizzando i campioni che hanno dato un picco a una concentrazione di 3.0 ng/L. Il limite di risoluzione è stato fissato a 1 ng/L. Campioni di controllo di qualità sono stati preparati su siero umano in quattro differenti concentrazioni (5.0, 40.0, 80.0, e 150.0  $\mu\text{g/L}$ ). L'accuratezza, la precisione e l'effetto matrice sono stati definiti analizzando quattro controlli di qualità sul tempo necessario a validare l'intera procedura. La riproducibilità della metodica è stata anche valutata prendendo in considerazione l'esteso legame dell'epirubicina alle proteine sieriche ampiamente descritto in letteratura [29]. Per questa regione, ogni campione sierico è stato portato a un valore di pH acido (pH 1.5) aggiungendo 2.0 mL di 0.1 N di acido cloridrico alla matrice.

Nelle tabelle 4 e 5, sono elencati i parametri farmacocinetici rilevati nei pazienti; essi includono il massimo picco di concentrazione del farmaco ( $C_{\text{max}}$ ), l'area sotto la curva (AUC) e i tempi di mezza vita. Il confronto tra i gruppi è stato effettuato utilizzando l'ANAVA e Mann-Whitney Test per le variabili continue e il  $\chi^2$  Test per le variabili categoriche. L'AUC è stata calcolata utilizzando la regola trapezoidale. I calcoli sono stati effettuati con l'SPSS package (version 11.0). Abbiamo osservato che la  $C_{\text{max}}$  è raggiunta in 5 minuti in tutti e 20 i pazienti ed è maggiore nei soggetti trattati con DC Bead rispetto a quelli con HepaSphere ( $73.5\pm 24.5$  ng/mL nel gruppo DC Bead e  $33.9\pm 11.0$  ng/mL per il gruppo HepaSphere).

La concentrazione di farmaco è poi rapidamente scesa nei successivi 30 minuti, fino a raggiungere un valore costante che è risultato misurabile nel siero fino alla fine dell'esperimento (24 ore).

Per le analisi e il confronto, i parametri farmacocinetici sono stati quindi normalizzati a una dose di 100 mg di epirubicina. Mentre i valori di  $C_{max}$  sono risultati differenti tra i due gruppi (1.37±0.45 ng/mL nel gruppo DC Bead versus 0.44±0.41 ng/mL nel gruppo HepaSphere), le AUC medie normalizzate sono simili (248.7±65.1 ng•h mL<sup>-1</sup> nel gruppo DC Bead versus 179.0±141.8 ng•h mL<sup>-1</sup> nel gruppo HepaSphere) (Tabella 6). L'emivita sierica media dell'epirubicina è risultata 6.3±5.2 ore per le DC Bead e 12.7±18.3 ore per le HepaSphere. Le figure 3 e 4 mostrano come il grado di variabilità della  $C_{max}$  nei pazienti DC Bead-TACE è più pronunciato rispetto al gruppo HepaSphere-TACE, senza relazione con la dose somministrata (p=0.012 con Mann-Whitney U-test). Al contrario, la variabilità delle AUC è minore nei pazienti trattati con DC Bead rispetto a quelli trattati con HepaSphere. Il confronto tra i due gruppi ha mostrato una più marcata riduzione dell'esposizione sistemica all'epirubicina nei pazienti trattati con HepaSphere rispetto a quelli trattati con DC Bead in modo statisticamente significativo (p<0.05). Come esempio di profili di farmacocinetica, la figura 5 mostra le curve tempo-concentrazione del farmaco ottenuta dall'analisi di due pazienti trattati con le due diverse particelle. In un intervallo di tempo compreso tra 1 e 24 ore, livelli misurabili di epirubicina sono stati calcolati in un range tra 2.3 e 16.6 ng/L nei pazienti trattati con HepaSphere e tra 4.6 e 24.2 µg/L nei pazienti trattati con DC Bead.

## Discussione

Negli ultimi anni la TACE è utilizzata come terapia di prima linea nell'epatocarcinoma in stadio intermedio non resecabile, in combinazione o meno con trattamenti di radiofrequenza (RFTA).

Questo studio si prefigge lo scopo di dimostrare che la DEB-TACE è un potente strumento in grado di minimizzare gli effetti tossici dei farmaci citostatici, aumentando l'efficacia locale senza causare un incremento di tossicità sistemica. Infatti, poiché la TACE è una procedura invasiva, è correlata all'insorgenza di eventi avversi di natura epatica, extraepatica o sistemica [30].

Le complicanze epatiche includono lo sviluppo di insufficienza epatica, ascesso epatico, biloma intraepatico, infarto epatico, aneurismi multipli del fegato e provocare rottura tumorale con emoperitoneo.

Alcune di queste complicanze sono connesse alla presenza di fattori predisponenti [31]. Ad esempio, la genesi di ascessi epatici è stata correlata alla presenza di ostruzione portale e biliare o pneumobilia, che possono favorire un meccanismo d'infezione retrograda. Le complicanze extraepatiche più importanti sono rappresentate da gravi colecistiti, infarto splenico, lesioni a livello della mucosa gastrointestinale, embolizzazione o infarto polmonare e sanguinamento di varici esofagee, pancreatiti acute. Le complicanze sistemiche derivano per lo più dall'effetto del chemioterapico nella circolazione sistemica; le più frequenti sono rappresentate dall'alopecia e dalla soppressione midollare.

L'effetto collaterale più comune legato alla procedura è rappresentato dalla cosiddetta Sindrome Post-chemioembolizzazione caratterizzata da febbre, dolore addominale, nausea e vomito. Essa costituisce un evento molto frequente: in letteratura sono riportati dati di prevalenza attorno al 90%. Nel nostro studio, abbiamo registrato una prevalenza complessiva del 67.2%. Tale valore apparentemente elevato deve essere interpretato in relazione alla natura della Sindrome Post-chemioembolizzazione che descrive un quadro clinico transitorio, responsivo ai trattamenti e di breve durata.

Per quanto riguarda la sicurezza del trattamento di chemioembolizzazione, le analisi statistiche della nostra casistica rivelano che la prevalenza delle complicanze più significative si attesta attorno al 17.6% del totale dimostrando, in accordo con quanto espresso dalla letteratura più recente, come la TACE, pur trattandosi di una procedura invasiva, non si associ ad un elevato rischio di



eventi avversi maggiori e con l'utilizzo di entrambi i tipi di agenti embolizzanti. La maggior parte delle complicanze identificate sono note in letteratura [32]. Nel complesso, i parametri emocromo, i valori di amilasi, lipasi, gamma GT e di funzionalità renale non hanno subito variazioni clinicamente significative. L'incremento temporale dei valori di transaminasi trova spiegazione nella necrosi del tessuto epatico indotta dalla procedura piuttosto che in un meccanismo di tossicità legata al metabolismo dell'epirubicina. L'analisi statistica ha evidenziato una differenza statisticamente significativa tra il numero di complicanze insorte nei pazienti affetti da diabete mellito rispetto a quelli non affetti, con una prevalenza maggiore nei primi (27.8% vs 13.5%,  $p=0.057$ ), come già evidenziato da uno studio del nostro gruppo [22]. Ciò può essere spiegato nella predisposizione all'insorgenza di effetti avversi di natura infettiva presenti in questa patologia.

L'analisi statistica non ha evidenziato differenze nella prevalenza di complicanze in relazione alla tipologia di microparticelle utilizzate nella procedura di TACE; l'uso di un tipo piuttosto che l'altro non è da ritenersi un fattore di rischio per l'insorgenza di complicanze nella nostra popolazione di pazienti. Per quanto concerne, invece, lo studio dei parametri farmacocinetici, anche in questo caso i nostri risultati sono in linea con i dati già pubblicati in letteratura per entrambi i tipi di particelle. Dallo studio di Valera [18] emerge che i valori di area sotto la curva (AUC) e  $C_{max}$  sono significativamente inferiori in pazienti trattati con DC Bead rispetto a quelli trattati con TACE convenzionale (c-TACE). In quest'ultimo caso, la  $C_{max}$  era  $2,341.5 \pm 3,951.9$  ng/mL e l'AUC era  $1,812.2 \pm 1,093.7$  ng/mL/min; nella TACE con DC Bead, invece, la  $C_{max}$  aveva un valore medio di  $78.97 \pm 38.3$  ng/mL al minuto 5 dopo la somministrazione con un valore medio di AUC di  $662.6 \pm 417.6$  ng/mL/min. Dallo studio di Poon [19], il valore medio della  $C_{max}$  è risultato essere  $49.4 \pm 23.7$  ng/mL per l'intero gruppo e  $52.2 \pm 41.5$  ng/mL per la coorte trattata con 150 mg di doxorubicina. L'emivita plasmatica media della doxorubicina è risultata essere  $73.5 \pm 22.7$  ore. Inoltre, il profilo di farmacocinetica della doxorubicina è risultato simile a quello che abbiamo disegnato per l'epirubicina: picco di concentrazione plasmatica dopo 5 minuti dalla procedura seguito da un rapido decremento con raggiungimento di un valore che si mantiene costante nel tempo. Il lavoro di Rudolphi sull'epirubicina caricata nelle Spherex [20] ha mostrato valori di  $C_{max}$  e AUC rispettivamente di  $1,018.55 \pm 679.4$  ng/mL e  $476.3 \pm 179.1$  ng/mL/h.

Nel nostro lavoro abbiamo riscontrato valori di concentrazione plasmatica media di  $69.8 \pm 24.5$  ng/mL nel gruppo DC Bead e  $36.4 \pm 11.1$  ng/mL nel gruppo Hepasphere, con una differenza statisticamente significativa tra il picco massimo di concentrazione plasmatica ottenuto con le DC Bead e quello ottenuto con le HepaSphere ( $99.3$  ng/mL vs  $56$  ng/mL). Invece, i valori di  $AUC_{0-24h}$  per entrambi i tipi di particelle sono simili. Inoltre, non sono state riportate differenze significative nella  $C_{max}$  e nell' $AUC_{0-24h}$  in base alla dose di epirubicina somministrata (<75 mg e >75 mg). Per quanto riguarda il profilo farmacocinetico dell'epirubicina, nell'intervallo di tempo compreso tra 1 e 24 ore, le concentrazioni plasmatiche del farmaco non hanno mai raggiunto valore zero con un valore medio di  $10.1$  ng/mL per le DC Bead e  $6.9$  ng/mL per le HepaSphere. Dai dati ottenuti, è ipotizzabile pensare a un rilascio continuo di farmaco dalle micro particelle nel tempo. Gli effetti di una bassa e persistente concentrazione di epirubicina nella circolazione periferica dei pazienti che hanno ricevuto la TACE con le due differenti particelle è evidenziato inoltre dal fatto che, nella nostra casistica, non si sono manifestati effetti avversi sistemici maggiori. Basandosi su queste osservazioni, questo singolo studio con DEB-TACE suggerisce la sicurezza e la praticabilità della procedura di chemoembolizzazione sia con le DC Bead che con le HepaSphere. Tuttavia, si rendono necessari ulteriori studi di farmacocinetica dell'epirubicina per indagare il profilo del farmaco in un arco temporale più prolungato.

## Tabelle e figure

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti.

CARATTERISTICHE	TOTALE (n=125)	DC-BEAD (n=80)	HEPASHERE (n=45)	P
<i>Età media, anni</i>	66.2	65	68	
<i>Sesso</i>				0.838
M	93	60 (75 %)	33 (73 %)	
F	32	20 (25 %)	12 (26.7 %)	
<i>ECOG</i>				
0				
1				
2	0	0	0	
<i>Eziologia</i>				0.670
HBV	9	6 (7.5 %)	3 (6.7 %)	
HCV	92	57 (71.3 %)	35 (77.8 %)	
Esotossica	10	6 (7.5 %)	4 (8.9 %)	
Altre	14	11 (13.8 %)	3 (6.7 %)	
<i>Child-Pugh score</i>				0.949
A	113	73 (91.3%)	40 (90.9%)	
B	12	7 (8.85%)	5 (9.1%)	
<i>Invasione macrovascolare</i>				
Si	0	0	0	
No	125 (100%)	0	0	
<i>Trombosi portale minore</i>				0.931
Si	7 (5.6%)	4 (3.2%)	3 (2.4%)	
No	118 (94.4%)	76 (60.8%)	42 (33.6%)	
<i>Metastasi extraepatiche</i>				
Si	0	0	0	
No	125 (100%)	0	0	

Tabella 2. Incidenza delle complicanze in relazione al tipo di microparticelle e alla dose di epirubicina somministrata.

TACE	COMPLICANZE	<75mg EPIRUBICINA	>75mg EPIRUBICINA	TOTALE
<i>DC Bead</i>	No	55 (80.9%)	9 (75%)	64 (80%)
	Si	13 (19.1%)	3 (25%)	16 (20%)
	Totale	68 (100%)	12 (100%)	80 (100%)
<i>HepaSphere</i>	No	30 (83.3%)	9 (100%)	39 (86.7%)
	Si	6 (16.7%)	0	6 (13.3%)
	Totale	36 (100%)	9 (100%)	45 (100%)

Tabella 3. Incidenza delle complicanze.

COMPLICANZE	DC Bead (n=80)						HepaSphere (n=45)					
	Tutti i gradi		Gradi 1/2		Gradi 3/4		Tutti i gradi		Gradi 1/2		Gradi 3/4	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Ematologiche</b>												
Leucopenia	1	1.25	1	1.25	0	0	1	2.2	1	2.2	0	0
Eritrocitopenia	10	12.5	9	11	1	1.25	8	17.7	8	17.7	0	0
Anemia	12	15	12	15	0	0	6	13.3	6	13	0	0
Trombocitopenia	6	7.5	6	7.5	0	0	6	13.3	6	7.5	0	0
Amilasi	22	27	15	19	7	9	9	20	7	15.5	2	4.5
Lipasi	9	11	6	7.5	3	4	12	26.6	7	15.5	5	11
<b>Gastrointestinali</b>												
Nausea e Vomito	25	31.25	19	23.75	6	7.5	14	31.1	9	20	5	11
<b>Costituzionali</b>												
Dolore	54	67.5	51	63.75	3	5.6	30	66.7	28	62.2	2	6.7
<b>Labaratoristiche</b>												
Incremento AST	27	34	17	21	10	12.5	22	49	16	35.5	6	13
Incremento ALT	24	30	12	15	12	15	15	33	13	29	2	4.4
Incremento bilirubina	14	17.5	14	17.5	0	0	7	15.5	7	15.5	0	0
Incremento gammagt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>Altre</b>												
Ascessi epatici	3	3.8	3	3.8	0	0	1	2.2	1	2.2	0	0
Colecistiti	4	5.0	4	5.0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ascite	5	6.8	5	6.8	0	0	2	4.4	2	4.4	0	0
Pancreatiti	3	3.8	3	3.8	0	0	1	2.2	1	2.2	0	0
Bilomi	2	2.2	2	2.2	0	0	2	4.4	2	4.4	0	0
Ematemesi	1	1.25	1	1.25	0	0	0	0	0	0	0	0
Ischemia miocardica	1	1.25	1	1.25	0	0	0	0	0	0	0	0
Stravaso emorragico	0	0	0	0	0	0	1	2.2	1	2.2	0	0

Tabella 4. Parametri di farmacocinetica dell'epirubicina nei pazienti trattati con DC Bead.

Paziente	Dose (mg)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-∞</sub> (ng h/mL)	AUC dose-normalizzata (100 mg)	T <sub>1/2</sub> (h)
1D	50	76.1	124.38	248.76	5.86
2D	50	76.8	124.38	248.78	6.03
3D	50	68.6	119.05	238.1	5.49
4D	50	33.6	136.39	272.78	12.56
5D	50	74.2	110.96	221.93	6.58
6D	50	35.3	260.82	260.82	12.97
7D	50	72.9	126.45	252.91	8.70
8D	50	72.7	211.51	423.02	6.92
9D	150	99.3	347.22	231.03	20.29
10D	100	98.1	264.17	240.15	18.83
11D	100	31.2	137.74	275.48	19.21
12D	100	98.4	130.5	130.5	8.75

Tabella 5. Parametri di farmacocinetica dell'epirubicina nei pazienti trattati con HepaSphere Microsphere.

Paziente	Dose (mg)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-∞</sub> (ng h/mL)	AUC dose-normalizzata (100 mg)	T <sub>1/2</sub> (h)
1H	50	36.3	95.35	381.39	1.48
2H	50	24.0	87.54	175.07	9.01
3H	50	46.2	208.33	416.67	9.62
4H	100	26.5	80.67	80.67	7.81
5H	100	28.3	50.32	50.32	5.69
6H	125	56.0	56.31	45.25	9.18
7H	100	31.5	203.75	203.75	18.59
8H	100	42.2	182.95	182.95	11.85

Tabella 6. Parametri farmacocinetici normalizzati alla dose di 100 mg di epirubicina nei pazienti trattati con i due diversi tipi di microparticelle.

DC Bead-TACE					
	C <sub>max</sub> (ng/mL)	C <sub>max</sub> dose-normalizzata (100 mg)	AUC <sub>0-∞</sub> (ng•h/mL)	AUC <sub>0-∞</sub> dose-normalizzata (100 mg)	T <sub>1/2</sub> (h)
Media	69.7	1.09	174.4	253.7	11.0
Mediana	73.5	1.37	133.4	248.7	8.7
DS	24.5	0.45	77.3	65.1	5.6
HepaSphere MicroSpheres-TACE					
Media	36.3	0.57	120.6	191.9	8.4
Mediana	33.9	0.44	91.4	179.0	8.4
SD	11.0	0.41	66.4	141.8	5.3

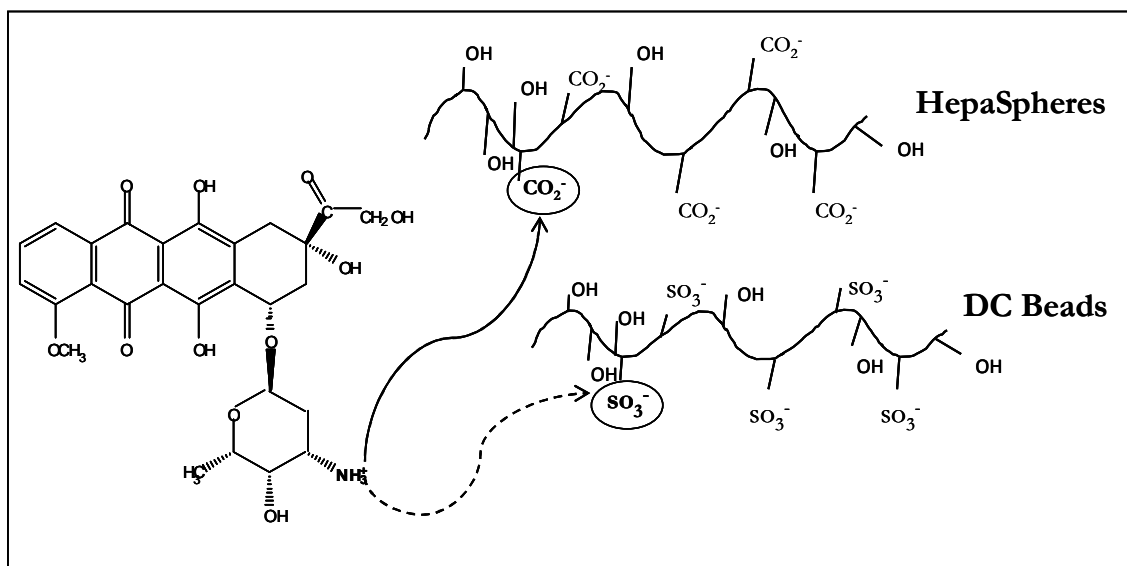


Figura 1. Meccanismo di caricamento del chemioterapico nelle microparticelle: i gruppi carichi negativamente del polimero di alcool vinilico interagiscono con gli ioni carichi positivamente della molecola di daunosamina dell'epirubicina.

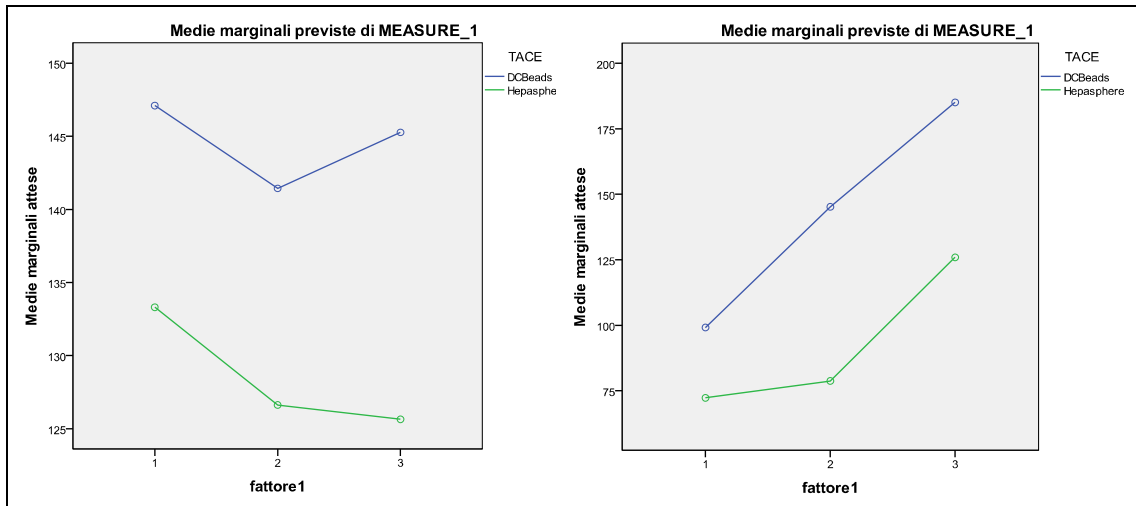


Figura 2. Andamento nel tempo dei valori di GOT (sinistra) e GPT (destra).

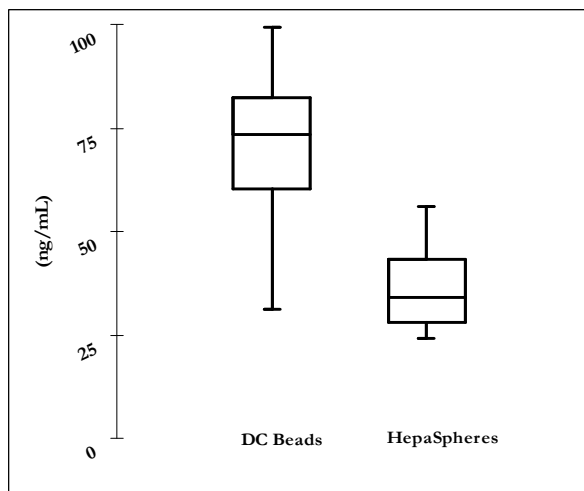


Figura 3. Il grado di variabilità della C<sub>max</sub> nei pazienti DC Bead-TACE è più pronunciato rispetto al gruppo HepaSpheres-TACE, senza relazione con la dose somministrata (p=0.012).

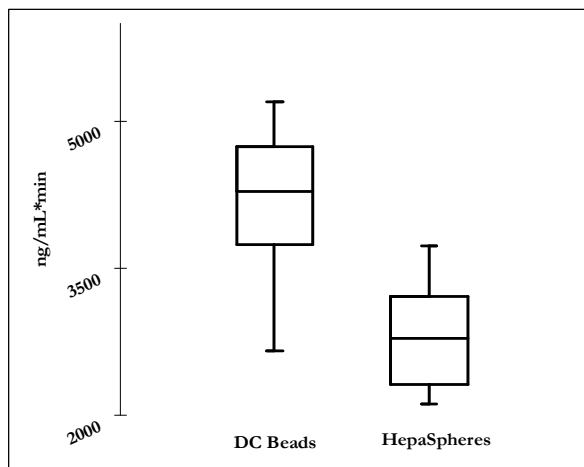


Figura 4. La variabilità delle AUC è minore nei pazienti trattati con DC Bead rispetto a HepaSpheres.

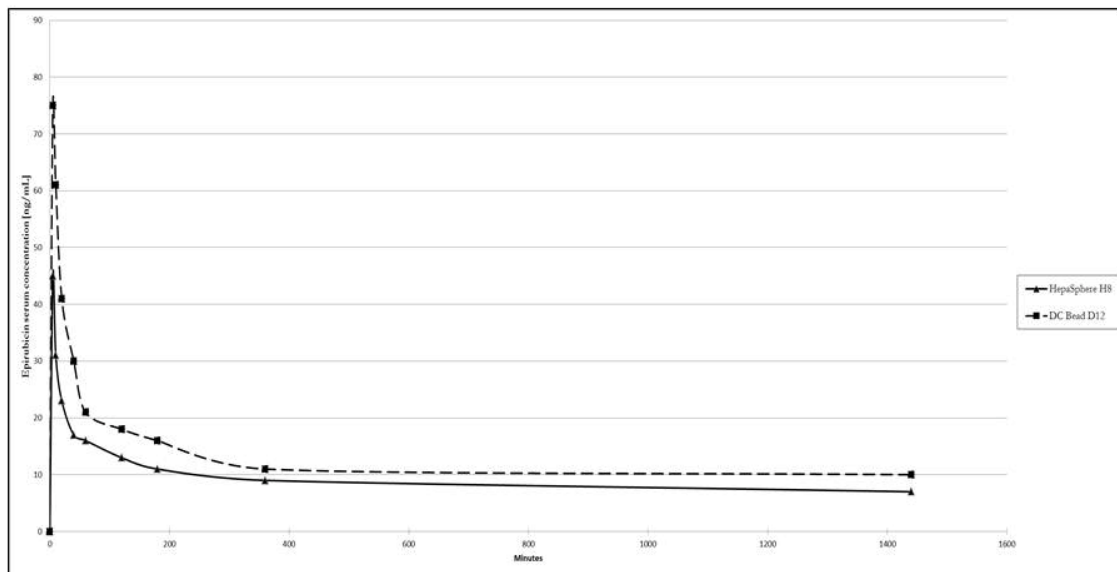


Figura 5. Esempio di profilo farmacocinetico dell'epirubicina in 2 pazienti trattati con le due diverse microsferre.

## Bibliografia

1. Bosetti C, Levi F, Boffetta P et al. Trends in mortality from hepatocellular carcinoma in Europe: 1980-2004. *Hepatology* 2008;48:137-145.
2. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al. Global cancer statistics (2002). *CA Cancer J Clin* 2005;55:74-108.
3. Stroppolini T, Andreone P, Andriulli A et al. Characteristics of hepatocellular carcinoma in Italy. *J Hepatol* 1998;29:944-952.
4. Bruix J, Sherman M. Management of Hepatocellular Carcinoma: An Update. *Hepatology* 2011;53:3.
5. Llovet JM, Real MI, Montana X et al. Arterial embolization versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial. *Lancet* 2002;359:1734-1739.
6. Johnson PJ, Kalayci C, Dobbs N et al. Pharmacokinetics and toxicity of intraarterial adriamycin for hepatocellular carcinoma: effect of coadministration of lipiodol. *J Hepatol* 1991;13:120-127.
7. Sung WS. The current practise of transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Korean J Radiol* 2009;10:425-434.
8. Hong K, Georgiades CS, Geschwind JF et al. Technology insight: Image-guided therapies for hepatocellular carcinoma: intra – arterial and ablative techniques. *Nat Clin Pract Oncol* 2006;3:315-324.
9. Seki A, Hori S, Kobayashi K et al. Transcatheter arterial chemoembolization with epirubicin-loaded superabsorbent polymer microspheres for 135 hepatocellular carcinoma patients: single-center experience. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2011;34:557-565.
10. Liapi E, Lee KH, Georgiades CC et al. Drug-eluting particles for interventional pharmacology. *Tech Vasc Interv Radiol* 2007;10:261-269.
11. Malagari K. Drug-eluting particles in the treatment of HCC: chemoembolization with doxorubicin-loaded DC Bead. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008;8:1643-1650.
12. Malagari K, Alexopoulou E, Chatzimichail K et al. Transcatheter chemoembolization in the treatment of HCC in patients not eligible for curative treatments: midterm results of doxorubicin-loaded DC bead. *Abdom Imaging* 2008;33:512-519.
13. Malagari K, Chatzimichael K, Alexopoulou E et al. Transarterial chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: results of an open-label study of 62 patients. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008;31:269-280.
14. Grosso M, Vignali C, Quaretti P et al. Transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma with drug – eluting microspheres: preliminary results from an Italian multicentre study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008;31:1141-1149.
15. Lammer J, Malagari K, Vogl T et al. Prospective randomized study of doxorubicin – eluting – bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovascular Intervent Radiol* 2010;33:41-52.
16. Valera M, Real MI, Brunet M et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads reduces the systemic availability of doxorubicin. A pharmacokinetic assessment. Presentation at AASLD, San Francisco, CA, 2005.
17. Poon R. Treatment of Asian patients with hepatocellular carcinoma (HCC) using doxorubicin eluting beads embolization (PRECISION ASIA Study). Presentation at CIRSE, Barcelona, SP, 2004.

18. Varela M, Real MI, Burrel M et al Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol* 2007;46:474-481.
19. Poon RT, Tso WK, Pang RW et al. A phase I/II trial of chemoembolization for hepatocellular carcinoma using a novel intra-arterial drug-eluting bead. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1100-1108.
20. Rudolphi A, Vielhauer S, Boos KS et al. Coupled-column liquid chromatographic analysis of epirubicin and metabolites in biological material and its application to optimization of liver cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis* 1995;13(4/5):615-623.
21. Seki A, Hori S, Kobayashi K et al. Transcatheter Arterial Chemoembolization with Epirubicin-Loaded Superabsorbent Polymer Microspheres for 135 Hepatocellular Carcinoma Patients: Single-Center Experience. *Cardiovascular and Interventional Radiology* 2011;34(3):557-565.
22. Poggi G, Pozzi E, Riccardi A et al. Complications of image-guided transcatheter hepatic chemoembolization of primary and secondary tumors of the liver. *Anticancer research* 2010;30:5159-5164.
23. Pleguezuelo M, Marelli L, Misseri M et al. TACE versus TAE as therapy for hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 8 2008;10:1623-1641.
24. Sottani C, Leoni E, Porro B et al. Validation of fan LC-MS/MS method for the determination of epirubicin in human serum of patients undergoing drug eluting microsphere-transarterial chemoembolization (DEM-TACE). *Journal of chromatography B* 2009;877:3543-3548.
25. Poggi G, Quaretti P, Minoia C et al. Transhepatic arterial chemoembolization with oxaliplatin-eluting microspheres (OEM-TACE) for unresectable hepatic tumors. *Anticancer research* 2008;28:3835-3842.
26. Brown DB, Gould JE, Gervais DA et al. Transcatheter therapy for hepatic malignancy: standardization of terminology and reporting criteria. *J Vasc Interv Radiol* 2009;20:S425-434.
27. Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2010;30:52-60.
28. Common Toxicity Criteria CAE, US National Cancer Institute, NCI-CTC version 4.02.
29. Pernkopf I, Tesch G, Dempe K et al. Binding of epirubicin to human plasma protein and erythrocytes: interaction with the cytoprotective amifostine. *Pharmazie* 1996;51:897-901.
30. Sakamoto I, Ao N, Nagaoki K et al. Complication associated with transcatheter arterial embolization for hepatic tumors. *Radiographics* 1998;18:605-619.
31. Chung JW, Park JH, Han JK et al. Hepatic tumors: predisposing factors for embolization of transcatheter oily chemoembolization. *Radiology* 1996;198:33-40.
32. Camma C, Schepis F, Orlando A et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 2002;224:129-134.