



## Criterios de entrada en lista de espera de trasplante hepático tras resección de hepatocarcinoma

Andrés Valdivieso

Unidad de Cirugía HP y Trasplante Hepático, Hospital Universitario de Cruces, Universidad del País Vasco, Baracaldo, Bilbao, España

El trasplante hepático (TH) en España ha alcanzado un gran desarrollo, y en los últimos años se llevan a cabo más de 1.000 trasplantes/año, merced a la mayor tasa mundial de donaciones por millón de habitantes de nuestro país (34,3%)<sup>1</sup>. Sin embargo, a pesar de estas elevadas cifras de trasplantes, siguen falleciendo pacientes en lista de espera, habiéndose estabilizado la mortalidad en lista de espera de TH en nuestro país alrededor del 7,5%<sup>1</sup>.

Con el establecimiento de los criterios de Milán<sup>2</sup>, el hepatocarcinoma (HCC) sobre cirrosis hepática se ha convertido en una de las indicaciones más frecuentes de TH en nuestro medio, dado que se consiguen elevadas supervivencias a largo plazo, con baja morbi-mortalidad y, sobre todo, con muy baja tasa de recidiva tumoral (5-15%)<sup>3</sup>.

Sin embargo, a medida que las listas de espera de TH han ido aumentando, el porcentaje de pacientes con HCC que tiene que ser retirado de las listas por progresión tumoral e incumplimiento de los criterios de Milán ha ido en aumento<sup>4-5</sup>. Para intentar obviar o reducir este problema, se ha vuelto a plantear la resección hepática para determinados pacientes con HCC que cumplan una serie de requisitos, que permitan una supervivencia a 5 años de al menos un 50%, con baja mortalidad (0-5%).

Los criterios de indicación de resección hepática en pacientes cirróticos más extendidos hoy en día son<sup>6-8</sup>:

- Tumor único < 5cm.
- Cirrosis Child A.
- Sin hipertensión portal, entendiéndose por tal un gradiente venoso < 10 mmHg, o si no se dispone de gradiente venoso: ausencia de varices esofágicas; no esplenomegalia; plaquetas > 100 × 10<sup>9</sup>/L.
- Retención de verde de indocianina a 15' < 20%.
- Bilirrubina normal.

No obstante, sabemos que cuando resecamos un HCC hay una alta posibilidad de que recidive. Incluso con una óptima selección de pacientes, la recurrencia tumoral afecta al 50% a 3 años y al 70-100% a 5 años, siendo la principal causa de muerte, y la supervivencia global y libre de enfermedad a 5 años es del 25-70% y del 11-29%, respectivamente<sup>9-15</sup>.

La recidiva puede manifestarse de 2 maneras, con distinta repercusión en la supervivencia global y libre de enfermedad:

A. Como metástasis intrahepáticas no detectadas durante la cirugía (60-70%), por diseminación precoz de células tumorales por la vena porta, relacionado con factores tumorales y no con factores del huésped. Suelen aparecer precozmente, en el primer-segundo año tras la resección, y se asocian a mal pronóstico. Los principales factores predictivos son:

- Invasión microvascular.
- Pobre diferenciación histológica.
- Satelitosis.

B. Como tumor de novo (30-40%). Están más influidos por factores del huésped (cirrosis) que tumorales, generalmente son tardías (> 2 años) y se asocia a mejor pronóstico.

La diferenciación entre ambas posibilidades, hoy en día, no es posible por métodos radiológicos, pero sí por métodos genéticos o moleculares<sup>16</sup>. Sin embargo, estos métodos son técnicamente complejos y, por lo tanto, de difícil aplicabilidad todavía en la práctica clínica.

La cuestión que se plantea es qué hacer tras resecar un HCC a un paciente que no sólo tenía indicación de TH sino que tenía altas posibilidades de curación con el trasplante, y que no se le ha realizado por la falta de órganos y el riesgo de progresión durante la espera en lista.

No hay criterios claros para decidir si llevar a cabo o no el trasplante después de la cirugía o en qué momento realizarlo, existiendo 3 posibilidades:

- Trasplantar a todos los pacientes resecados previamente, utilizando la resección como un método puente hasta el trasplante para evitar la progresión de la enfermedad. La resección puede complicar seriamente el trasplante<sup>17</sup>, pero permite tener datos histológicos del tumor que pueden condicionar el manejo de estos pacientes<sup>18</sup>.
- Trasplantar a los pacientes que tienen factores anatomo-patológicos de mal pronóstico antes de que aparezca una recidiva. Sin embargo, estos pacientes podrían tener mayor riesgo de recidiva tras el trasplante.
- Esperar hasta que tengan una recidiva, con el riesgo de que la recidiva no cumpla los criterios de trasplante.

En una revisión de la bibliografía se identifican defensores de las 3 posturas.

Correo electrónico: andres.valdiviesolopez@osakidetza.net

A. Entre los que aconsejan trasplante siempre, incluso en los que se pueden resecar, sólo figuran Adam et al<sup>17</sup> en 2003, que comparan 198 trasplantes por HCC según los criterios de Milán con 98 pacientes resecados, pero potencialmente trasplantables. De los 98 resecados, 75 presentaron recidiva y solamente 17 pacientes (23%) fueron rescatables para TH. Encontraron mayor mortalidad perioratoria y complicaciones postrasplante en aquellos con resección previa. La recidiva postrasplante fue mayor en los resecados (el 53 frente al 18%). La supervivencia global a 5 años (el 61 frente al 41%) y la libre de enfermedad (el 58 frente al 29%) fueron menores entre los resecados.

B. Entre los que aconsejan trasplante sólo si tienen criterios anatomo-patológicos de mal pronóstico destacan:

- Belghiti et al<sup>19</sup> en 2003 comparan retrospectivamente 70 pacientes con TH por HCC según los criterios de Milán con 18 pacientes con resección hepática del HCC y trasplante posterior. De los 18 pacientes, 11 fueron trasplantados por recidiva. De los 7 trasplantados sin recidiva, 4 presentaron un HCC incidental en el explante. No hubo diferencias en morbilidad entre los 2 grupos, aunque hubo mayor número de reintervenciones en el grupo de resección previa (el 39 frente al 13%). No hubo diferencias en el número de recidivas y la supervivencia a 3 y 5 años fue similar en ambos grupos (el 82 frente al 61% en los no resecados previamente y el 82 frente al 59% en los resecados).
- Sala et al<sup>20</sup> en 2004 estudian 17 pacientes con resección de HCC, pero potencialmente trasplantables. Segundo los hallazgos anatomo-patológicos (invasión microvascular, satélites y/o nódulos adicionales) clasifican a los pacientes en "alto riesgo" y "bajo riesgo" de recidiva. Ocho pacientes cumplían los requisitos de alto riesgo de recidiva, por lo que se les indicó TH. De estos 8, 7 presentaron recidiva: 2 en su evolución al rechazar el trasplante, 2 en lista de espera y 3 en el explante; los 9 pacientes con bajo riesgo de recidiva fueron sometidos a seguimiento, presentando 2 de ellos recidiva (22%), una multicéntrica no rescatable y otra única, que fue sometida a trasplante.

C. Entre los que abogan por esperar a la recidiva para hacer el trasplante figuran:

- Poon et al<sup>21</sup> en 2002 estudian retrospectivamente 135 pacientes con HCC resecados, pero potencialmente trasplantables. La supervivencia global y libre de enfermedad a 5 y 10 años para tumores únicos fue del 72 y el 40%, respectivamente, y del 40 y el 24%, respectivamente. El tamaño tumoral  $\leq 3$  o entre 3-5 cm no influyó en la supervivencia. Un 60% de los pacientes presentó recidiva a los 5 años y un 76% a los 10 años, siendo intrahepáticas el 88% y únicas el 56%. El 79% de los pacientes que presentaron recidiva intrahepática pudo ser rescatado para TH.
- Hu et al<sup>22</sup> en 2005 estudian retrospectivamente 179 pacientes potencialmente trasplantables, pero resecados. Presentaron recidiva 154 (86%), pero solamente 80 fueron trasplantados cumpliendo los criterios de Milán. Por lo tanto, el 52% de los pacientes con recidiva pudo ser rescatado para TH.
- Margarit et al<sup>23</sup> en 2005 comparan 36 pacientes con TH por HCC con 37 pacientes con resección hepática de su HCC. De los 37 pacientes con resección, 17 eran potencialmente trasplantables pero solamente 6 fueron trasplantados (el 33% de trasplante de rescate). No hubo diferencias entre ambos grupos en complicaciones y supervivencia global, pero la supervivencia libre de enfermedad fue mayor con trasplante inicial. La recurrencia fue mayor en el grupo de resección previa (el 59 frente al 11%), pero la mayoría fue intrahepática.
- Del Gaudio et al<sup>24</sup> en 2008 comparan 80 pacientes resecados pero potencialmente trasplantables con 147 TH por HCC. De los reseca-

dos, 39 (49%) presentaron recidiva, 12 de ellas fuera de los criterios de Milán. De los 27 con criterios de Milán solamente 10 (26%) fueron rescatados con TH. No hubo diferencias en morbilidad ni mortalidad entre los grupos.

De manera que el porcentaje de TH de rescate en pacientes cirróticos, tras resección hepática previa y recidiva, es bajo en nuestro medio 10-30%<sup>17,19,20,23,24</sup>, mientras que es alto en los países asiáticos (52-79%)<sup>14,21,22</sup>, y además la resección previa puede complicar el trasplante<sup>17</sup>.

Por lo tanto, aunque en la bibliografía, la mayoría de autores se inclina por esperar la recidiva dada la falta de órganos, no hay unos criterios claros que nos permitan decidir entre las 2 opciones mayoritarias:

- Si la lista se lleva a cabo en función de los criterios de riesgo de recurrencia, corremos el riesgo de otorgar hígados a pacientes que podrían tener una recidiva agresiva y baja supervivencia, pero, por otro lado, un trasplante precoz evitaría la recidiva en algunos pacientes.
- Si se espera la aparición de recurrencia, es posible ver la evolución natural de ese tumor, pero se perderán pacientes para el trasplante porque su recurrencia no cumple los criterios.

¿Cómo se podría actuar para no trasplantar a los pacientes que van a tener una evolución agresiva y, por tanto, recidiva tumoral y mala evolución, y en cambio trasplantar a aquellos en los que el trasplante impedirá la recidiva y se curarán? Aunque hoy en día no hay ningún criterio claramente establecido que permita predecir la recidiva del HCC, sí disponemos de criterios biológicos, anatomo-patológicos y, últimamente, genéticos que combinados entre sí pueden mejorar la capacidad de predecir el pronóstico del HCC.

#### Criterios de recidiva tras resección<sup>9</sup>

- Variables biológicas.
- Variables anatomo-patológicas.
- Variables genéticas.

#### Marcadores biológicos de recurrencia<sup>25,26</sup>

No están claramente definidos y no sirven para detectar tumores precoces. Los más utilizados son:

##### A. Alfa-fetoproteína.

- > 400 mg/ml es considerada diagnóstica de HCC.
- Tiene una sensibilidad baja, 40-65%, y una especificidad entre el 76 y el 96%.

##### B. Alfa-fetoproteína-L3.

- Es más específica que la alfa-fetoproteína total, con baja sensibilidad, 36-96%, pero con alta especificidad (89-94%).
- Aunque puede estar alterada cuando hay una mala función hepática, se asocia a pobre diferenciación tumoral y malignidad.

##### C. Des-gamma-carboxy protrombina (DCP) o PIVKA-II. Es una protrombina anormal producida por las células tumorales que se encuentra elevada en el 50-60% de HCC.

- Valor de corte > 40 mAU/ml.
- Sensibilidad del 28-89% y especificidad del 87-96%.
- Es más específica que la alfa-fetoproteína porque no se eleva por la simple presencia de enfermedad hepática.

- Se asocia con mayor agresividad tumoral: metástasis intrahepáticas, invasión portal, infiltración de la cápsula hepática.

#### D. Glycan-3.

- Detectable en el 40-53% de pacientes con HCC, pero no en sanos.
- Detectable en un tercio de pacientes con alfa-fetoproteína normal.
- Sensibilidad del 53%.

#### Criterios de recurrencia anatomicopatológicos

Las características anatomicopatológicas relacionadas con el tumor son los principales factores de supervivencia y de recurrencia<sup>16</sup>. En la bibliografía están descritos diversos factores histológicos de riesgo de recidiva: invasión vascular, satelitosis, tamaño tumoral, número de tumores y grado de diferenciación tumoral<sup>11,27-29</sup>.

La frecuencia de invasión vascular aumenta con el tamaño, el número y la pobre diferenciación tumoral. Esnaola et al<sup>30</sup> relacionaron la invasión vascular microscópica con el tamaño tumoral ( $\leq 2$  cm, un 25% posibilidad de invasión microvascular; 2-4 cm, un 31%;  $> 4$  cm, un 50%) con el número de tumores (un 30% con tumor único, un 47% con tumor múltiple hasta 3 tumores  $< 3$  cm) y la diferenciación tumoral (un 50% pobemente diferenciado o indiferenciado, un 29% moderadamente diferenciado, un 12% bien diferenciado), mientras que Shirabe et al<sup>31</sup> añadieron la DCP al tamaño y diferenciación tumorales, estableciendo una clasificación de bajo y alto riesgo de invasión vascular, en función de la puntuación de los 3 parámetros anteriores, con una sensibilidad del 75% y una especificidad del 85%.

Los criterios histológicos de recidiva para tumores únicos y pequeños, que son los que se resecan principalmente en nuestro medio, son<sup>16</sup>:

- Invasión microvascular, relacionada directamente con la diferenciación histológica y el tamaño tumorales.
- Satelitosis.
- Pobre diferenciación tumoral.

#### Criterios genéticos de hepatocarcinoma

Las causas potenciales de alteraciones genéticas estructurales en los HCC son numerosas y variadas<sup>32</sup>. La mayoría de los HCC son aneuploides y tienen múltiples anomalías cromosómicas diferentes, probablemente responsables de la variabilidad de resultados tras los tratamientos de los HCC.

Frente a la teoría clásica de que la aparición de recidiva de un HCC es por la progresión tumoral y, por lo tanto, es cuestión de tiempo, en los últimos años ha surgido la teoría de que cada tumor tiene unas alteraciones genéticas que determinarán o no la aparición de recidiva, independientemente de la progresión tumoral<sup>33</sup>. El conocimiento de esas alteraciones genéticas permitiría el desarrollo de unos marcadores moleculares que nos indicarían si cada tumor en concreto sería potencialmente recidivante, adaptando el o los tratamientos más adecuados para cada tumor<sup>32,34</sup>.

Para valorar la actitud que se debe adoptar frente a los HCC resecados, sería importante encontrar, entre los numerosos genes desregulados en el HCC, los genes críticos que juegan un papel principal en la recidiva tumoral o en los estadios precoces del HCC. Actualmente, se dispone de tecnología de ADN por *microarrays* que permite detectar simultáneamente los niveles de expresión de cientos de genes que serían marcadores específicos de HCC<sup>32</sup>. Sin embargo, tiene limitaciones tecnológicas ya que sólo pueden detectar una pequeña parte de los cambios en la expresión genética.

En la bibliografía se encuentran grupos de 12 a 20 genes, por *microarrays*, que identifican riesgo de recidiva precoz en HCC tras resección hepática, con alto valor predictivo<sup>33,35-37</sup>, y otros grupos con 3

pares de genes basados fundamentalmente en glycan, que diagnostican el HCC precoz<sup>38-40</sup>.

De manera que, la genómica y la proteinómica están jugando un gran papel en el estudio y desarrollo de herramientas clínicas, pero, sin embargo, todavía hoy en día, los criterios genéticos son difíciles de aplicar clínicamente por el gran número de variables de genes que se asocian a la recidiva o al desarrollo de nuevos HCC<sup>32</sup>.

A pesar de todos estos marcadores biológicos, histológicos o genéticos de recidiva que podemos combinar para tener un mejor conocimiento de la posibilidad de recidiva tras resección hepática o incluso tras TH por HCC, el problema sigue estando en que hoy en día seguimos sin poder predecir la evolución de cada paciente, es decir, saber si la aparición de la recidiva o el condicionamiento genético de la recidiva va a suponer un fracaso del tratamiento o si, por el contrario, vamos a poder evitarla si aplicamos el tratamiento adecuado antes o cuando aparezca

Se sabe que la recidiva precoz se asocia a baja supervivencia<sup>11,12</sup>, pero no si el paciente con factores histológicos o genéticos de riesgo de recidiva la desarrollará, si lo hará precoz o tardíamente y si el TH precoz, tras conocer esos factores, evitaría o disminuiría el riesgo de recidiva.

La incorporación de criterios de biología molecular en la clínica podría ayudar en la selección de pacientes para rescatarlos tras la resección, pero, lo que es más importante, podría seleccionar los pacientes para resección o para trasplante según las posibilidades de supervivencia a largo plazo.

Por lo tanto, actualmente no se dispone de suficientes datos que permitan basarnos exclusivamente en algún tipo de marcador para predecir la evolución de un HCC resecado y poder indicar el TH como tratamiento de la recidiva. Dada la carencia de órganos, parece razonable la política de esperar la recurrencia tumoral para valorar el TH de rescate, aun sabiendo que el porcentaje de pacientes con recidiva, que cumplen los criterios de Milán y puedan ser rescatados con trasplante, es bajo en nuestro medio (15-30%). No obstante, en los que tienen factores de riesgo de recidiva, mientras no sepamos discernir entre agresiva y no agresiva, también sería válido plantear el TH como tratamiento preventivo-curativo.

#### Conclusiones

Los criterios histológicos, invasión vascular microscópica, satelitosis y pobre diferenciación tumoral, son los únicos que han demostrado su eficacia en la actualidad, pero no sirven para predecir la evolución de los pacientes. Los criterios biológicos son prometedores pero necesitan confirmar sus resultados con estudios más amplios, y posiblemente necesiten combinarse con otros. Los criterios genéticos representan el futuro inmediato, pero todavía sólo son elementales. El desarrollo de marcadores genéticos específicos parece posible y supondría un gran avance en la aplicación de los tratamientos a estos pacientes.

Mientras se desarrollan marcadores con mayor especificidad, la presencia de factores de riesgo histológico en las piezas de resección sigue siendo lo que marca hoy en día los posibles tratamientos de estos pacientes. Si hay factores de riesgo, estaría indicado igualmente llevar a cabo un TH como tratamiento preventivo o esperar la aparición de recidiva y posteriormente realizar el trasplante si cumple los criterios de Milán. Si no hay factores de riesgo de recidiva tras la resección hepática lo más indicado sería esperar la aparición de recidiva, y si cumple los criterios de Milán, llevar a cabo el trasplante como mejor método de tratamiento.

#### Bibliografía

1. Disponible en: <http://www.ont.es/estadísticas>
2. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996;334:693-9.

3. Schwartz M. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:5268-76.
4. Llovet JM, Fuster J, Bruix J. Intention-to-treat analysis of surgical treatment for early hepatocellular carcinoma: resection versus transplantation. *Hepatology*. 1999;30:1434-40.
5. Yao FY, Bass NM, Nikolai B, Davern TJ, Kerlan R, Wu V, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: analysis of survival according to the intention-to-treat principle and dropout from the waiting list. *Liver Transpl*. 2002;8:873-83.
6. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. 2005; 42:1208-36.
7. Makuchi M, Sano K. The surgical approach to hepatocellular carcinoma: our progress and results in Japan. *Liver Transpl*. 2004;10 Suppl 2:S46-52.
8. Poon RT-P, Fan S-T. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma: patient selection and postoperative outcome. *Liver Transpl*. 2004;10 Suppl 2:S39-45.
9. Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J Hepatol*. 2008;48 Suppl 1:S20-37.
10. Thomas MB, Zhu AX. Hepatocellular carcinoma: the need for progress. *J Clin Oncol*. 2005;23:2892-9.
11. Regimbeau JM, Abdalla EK, Vauthey YN, Lauwers GY, Durand F, Nagorney DM, et al. Risk factors for early death due to recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma: results of a multicentre study. *J Surg Oncol*. 2004;85:36-41.
12. Kaibori M, Ishizaki M, Saito T, Matsui K, Kwon AH, Kamiyama Y. Risk factors and outcome of early recurrence after resection of small hepatocellular carcinomas. *Am J Surg. En prensa 2009*.
13. Sha S, Greig P, Gallinger S, Cattral M, Dixon E, Kim R, et al. Factors associated with early recurrence after resection for hepatocellular carcinoma and outcomes. *J Am Coll Surg*. 2006;202:275-83.
14. Tanaka S, Noguchi N, Ochiai T, Kudo A, Nakamura N, Ito K, et al. Outcomes and recurrence of initially resectable hepatocellular carcinoma meeting Milan criteria: rationale for partial hepatectomy as first strategy. *J Am Coll Surg*. 2007;204:1-6.
15. Morris-Stiff G, Gómez D, De Liguori Carino N, Prasad KR. Surgical management of hepatocellular carcinoma: is the jury still out? *Surg Oncol. En prensa 2008*. On line December 2008, doi:10.1016/j.suronc.2008.08.003
16. Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis*. 2005;25:181-200.
17. Adam R, Azoulay D, Castaing D, Eshkenazy R, Pascal G, Hashizume K, et al. Liver resection as a bridge to transplantation in hepatocellular carcinoma on cirrhosis: a reasonable strategy? *Ann Surg*. 2003;238:508-19.
18. Belghiti J, Carr BI, Greig PD, Lencioni R, Poon RT. Treatment before liver transplantation for HCC. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:993-1000.
19. Belghiti J, Cortes A, Abdalla EK, Regimbeau JM, Prakash K, Durand F, et al. Resection prior to liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg*. 2003; 238:885-93.
20. Sala M, Fuster J, Llovet JM, Navasa M, Solé M, Varela M, et al. High pathological risk of recurrence after surgical resection for hepatocellular carcinoma: an indication for salvage transplantation. *Liver Transpl*. 2004;10:1294-300.
21. Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Long-term survival and pattern of recurrence after resection of hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation. *Ann Surg*. 2002; 235:373-82.
22. Hu RH, Ho MC, Wu YM, Yu SC, Lee PH. Feasibility of salvage liver transplantation for patients with recurrent hepatocellular carcinoma. *Clin Transplant*. 2005;19: 175-80.
23. Margarit C, Escartin A, Castells L, Vargas V, Allende E, Bilbao I. Resection for hepatocellular carcinoma is a good option in Child-Turcotte-Pugh class A patients with cirrhosis who are eligible for liver transplantation. *Liver Transpl*. 2005;11:1242-51.
24. Del Gaudio M, Ercolani G, Ravaioli M, Cescon M, Lauro A, Vivarelli M, et al. Liver transplantation for recurrent hepatocellular carcinoma on cirrhosis after liver resection: University of Bologna experience. *Am J Transplant*. 2008;8:1177-85.
25. Spangenberg HC, Thimme R, Blum HE. Serum markers of hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis*. 2006;26:385-90.
26. Marrero JA, Su GL, Wei W, Emick D, Conjeevaram HS, Fontana RJ, et al. Des-gamma carboxy prothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from non-malignant chronic liver disease in American patients. *Hepatology*. 2003;37:1114-21.
27. Poon RTP, Ng IOL, Fan ST, Lai ECS, Lo CM, Liu CL, et al. Clinicopathologic features of long-term survivors and disease-free survivors after resection of hepatocellular carcinoma: a study of a prospective cohort. *J Clin Oncol*. 2001;19: 3037-44.
28. Shah S, Cleary SP, Wei AC, Yang I, Taylor BR, Hemming AW, et al. Recurrence after liver resection for hepatocellular carcinoma: risk factors, treatment and outcomes. *Surgery*. 2007;141:1330-9.
29. Kim BK, Han KY, Park YN, Park MS, Kim KS, Choi JS, et al. Prediction of microvascular invasion before curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*. 2008;97:246-52.
30. Esnaola NF, Lauwers GY, Mirza NQ, Nagorney DM, Doherty D, Ikai I, et al. Predictors of microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma: who are candidates for orthotopic liver transplantation. *J Gastrointest Surg*. 2002;6:224-32.
31. Shirabe K, Itoh S, Yoshizumi T, Soejima Y, Taketomi A, Aishima SI, et al. The predictors of microvascular invasion in candidates for liver transplantation with hepatocellular carcinoma – with special reference to the serum levels of des-gamma-carboxy prothrombin. *J Surg Oncol*. 2007;95:235-40.
32. Lemmer ER, Friedman SL, Llovet JM. Molecular diagnosis of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: the potential of gene expression profiling. *Semin Liver Dis*. 2006;26:373-84.
33. Yoshioka S, Takemasa I, Nagano H, Kittaka N, Noda T, Wada H, et al. Molecular prediction of early recurrence after resection of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*. 2009;45:881-9.
34. Mann C, Neal C, Garcea G, Manson M, Dennison A, Berry D. Prognostic molecular markers in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *Eur J Cancer*. 2007;43: 979-92.
35. Kurokawa Y, Matoba R, Takemasa I, Nagano H, Dono K, Nakamori S, et al. Molecular-based prediction of early recurrence in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2004;41:284-91.
36. Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Nishida M, Maeda Y, Mori N, et al. Oligonucleotide microarray for prediction of early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection. *Lancet*. 2003;361:923-9.
37. Ho MC, Lin JJ, Chen CN, Chen CC, Lee H, Yang CY, et al. A gene expression profile for vascular invasion can predict the recurrence after resection of hepatocellular carcinoma: a microarray approach. *Ann Surg Oncol*. 2006;13:1474-84.
38. Marrero JA, Lok AS. New markers for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:S113-9.
39. Di Tommaso L, Destro A, Seok JY, Balladore E, Terracciano L, Sangiovanni A, et al. The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2009;50:746-54.
40. Llovet JM, Chen Y, Wurmbach E, Roayaie S, Rel I, Schwartz M, et al. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis. *Gastroenterology*. 2006;131:1758-67.