

DOI: 10.5281/zenodo.3979740
UDC: 616.36-006.6-089.843

TRANSPLANT HEPATIC PENTRU CARCINOM HEPATOCELULAR. MANAGEMENTUL PREOPERATOR OPTIMAL.

LIVER TRANSPLANT FOR HEPATOCELLULAR CARCINOMA. OPTIMAL PREOPERATIVE MANAGEMENT.

Serghei Burgoci*Laboratorul de cercetări științifice „Chirurgia reconstructivă a tractului digestiv”, IP USMF „Nicolae Testemițanu”***Rezumat**

Introducere: Carcinomul hepatocelular (CHC) reprezintă o cauză importantă de morbiditate și mortalitate la nivel mondial. Se află pe locul șase printre toate tipurile de cancer și prezintă a patra cauză de deces prin cancer. Transplantul de ficat este o modalitate cheie în tratamentul acestei boli. Prin urmare, carcinomul hepatocelular devine indicație primară pentru alocarea grefei. Cu toate că transplantul de ficat reprezintă o terapie remarcabilă pentru rezolvarea carcinomului hepatocelular, deficitul de organe, precum și necesitatea de selectare și gestionare minuțioasă a pacienților care pot prezenta un beneficiu major în plan de supraviețuire, în urma alocării de grefă, rămâne o întrebare fundamentală. De fapt, CHC este susceptibil pentru transplant doar în unele etape ale bolii, ceea ce provoacă discuții asupra criteriilor potrivite pentru selectarea candidaților. În acest articol, ne-am axat asupra criteriilor actuale pentru a selecta pacienții cu carcinom hepatocelular, eligibili pentru transplant hepatic, precum și pe strategiile de a evita progresia bolii și excluderea candidaților de pe lista de așteptare, utilizând tratamente specifice utilizate pentru a reduce stadiul bolii și a obține criterii acceptabile pentru transplant (“downstaging”). În cele din urmă, am examinat rata de recidivă a tumorii după transplant hepatic. S-a analizat apariția recidivei, ce este estimată la aproximativ 8-20%, și posibilele abordări pentru a preveni recurența bolii după transplant, care sunt raportate cu rezultatele corespunzătoare.

Concluzii: Deși este clar un interes din ce în ce mai mare în admiterea pacienților cu tumori mai mari, pentru transplant hepatic, totuși, criteriile Milan rămân primordiale în selectarea pacienților cu CHC pentru transplant. Terapia “bridging” și de “downstaging” tumoral sunt utile pentru micșorarea abandonării pacienților care așteaptă transplant hepatic.

Cuvinte cheie: carcinom hepatocelular, transplant hepatic, terapie “bridging”, terapie “downstaging”.

Summary

Background: Hepatocellular carcinoma (HCC) is a major cause of morbidity and mortality worldwide. It ranks sixth among all cancers and is the fourth leading cause of death by cancer. Liver transplant is a key way of treating this disease, therefore, hepatocellular carcinoma grows as a primary indication for graft allocation. Although, liver transplant is a remarkable therapy for hepatocellular carcinoma, organ deficiency, as well as careful selection and management of patients who may have a major survival benefit after the transplant, remains a fundamental question. In fact, HCC is susceptible to transplantation only in some stages of the disease, which provokes discussions about the appropriate criteria for candidates' selection. In this article, we focused on the current criteria for selecting patients with hepatocellular carcinoma, eligible for liver transplant, as well as strategies to prevent disease progression and the exclusion of candidates from the waiting list, using specific treatments used to reduce the stage of the disease and obtain acceptable criteria for transplantation (“downstaging”), when their tumor burden exceeds standard transplant criteria. Finally, we examined tumor recurrence after liver transplantation. We examined the occurrence of relapse, which is estimated to be about 8-20%, and possible approaches to prevent the recurrence of the disease after liver transplant, that are reported with appropriate results.

Conclusions: Although, there is a clear growing interest in admitting patients with larger tumors for liver transplant, the Milan criteria remains essential in selecting patients with HCC for transplant. Bridging and tumor downstaging therapies are helpful in reducing the abandonment of patients awaiting liver transplant.

Keywords: hepatocellular carcinoma, liver transplant, bridging therapy, downstaging therapy

Introducere

Carcinomul hepatocelular (CHC) reprezintă cea mai răspândită tumoră hepatică primară și a devenit o problemă relevantă de sănătate în populație. Cu o incidență de 9,3 cazuri la 100 000 de persoane/an, CHC este a șasea cea mai frecventă tumoră și a patra cauză de deces prin cancer [1]. CHC apare, în special, în cazul prezenței bolilor hepatice cronice și a cirozei, iar incidența acestuia este în creștere [2].

În general, transplantul hepatic (TH) este cel mai bun tratament pentru CHC în stadiul incipient, deoarece tratează

simultan tumora și patologia hepatică existentă (principalul factor de risc pentru dezvoltarea tumorii). Astfel, numărul pacienților transplantați pentru CHC este în creștere, TH pentru CHC reprezentând 15-50% din totalul TH efectuat în majoritatea centrelor specializate în transplant [3]. Totuși, din cauza lipsei de organe, selecția și gestionarea atentă a pacienților care pot prezenta un beneficiu major în plan de supraviețuire după TH, rămâne o întrebare fundamentală. Într-adevăr, limitarea recurenței tumorii după TH este o modalitate de optimizare a distribuției grefelor. Acest reviu literar se axează

asupra stadiilor actuale de selecție, alocare a organelor și gestionare a pacienților transplantați pentru CHC.

Criterii de selecție și supraviețuire

Studiul fundamental realizat de Mazzaferro V, et al, din Milano, în 1996, a stabilit TH de la donatorul decedat ca fiind o strategie terapeutică importantă pentru CHC. Studiul a arătat că atunci când transplantul a fost efectuat în stadiul incipient al bolii (un nodul ≤ 5 cm sau ≤ 3 leziuni, fiecare > 3 cm și absența invaziei vasculare, metastazelor sau afectarea ganglionilor limfatici), supraviețuirea la patru ani a reprezentat 75%, cu o rată de recidivă < 10 -15%. Aceste rezultate ale TH nu sunt diferite de cele observate la pacienții cirofici fără CHC. Așa-numitele criterii Milano au fost apoi aplicate pe scară largă asupra indicațiilor pentru TH la pacienții cu CHC [4]. Dar, totuși, mulți autori consideră criteriile Milano prea restrictive. Aceștia exclud mulți pacienți din lista de transplant, prin urmare a apărut un interes considerabil pentru extinderea acestor criterii [5, 6, 7].

După cum a demonstrat un studiu realizat la Universitatea din California, San Francisco (UCSF), pacienții cu CHC, supuși transplantului, cu criterii extinse corespunzătoare: (1) Un singur nodul $\leq 6,5$ cm; sau (2) ≤ 3 noduli cu cel mai mare $\leq 4,5$ cm, cu o suma totală a diametrelor ≤ 8 cm (criterii UCSF), au prezentat rezultate similare cu cei ce au suferit transplant conform criteriilor Milano [4, 5]. Cu toate acestea, un studiu retrospectiv, realizat de Decaens T, et al [8], a demonstrat că supraviețuirea la cinci ani a fost de 45,6% pentru pacienții care au îndeplinit criteriile UCSF, dar nu și criteriile Milano, și 60,1% pentru pacienții care au îndeplinit ambele criterii. Chiar dacă această diferență nu a fost semnificativă statistic, tendințele observate sugerează că selecția pe baza criteriilor UCSF ar putea fi asociată cu o rată de succes mai mică.

Un alt studiu (Decaens T, et al) a analizat datele a 1112 pacienți care au suferit TH pentru CHC în diferite centre specializate în transplant din întreaga lume, care au depășit criteriile Milano, printr-un sondaj realizat online. Scopul analizei a fost de a identifica volumele tumorale care depășesc criteriile Milano, dar nu afectează rata de supraviețuire. Reieșind din acest studiu, au fost identificate așa-numitele criterii „*up-to-seven*”. Conform acestor criterii, scorul maximal este stabilit la șapte și este calculat luând în considerație numărul total de leziuni adunat la diametrul (în cm) al nodulului mai mare (de exemplu: 4 noduli + diametru mai mare 3 cm, „*up-to-seven*” scor = 7). Comparția dintre pacienții ($n=283$) care corespund criteriilor „*up-to-seven*” cu pacienții ($n=444$) ce au suferit transplant în cadrul criteriilor Milano nu a arătat o diferență semnificativă în termenul de supraviețuire la cinci ani [8]. Cu toate acestea, valoarea prognostică a criteriilor „*up-to-seven*” a fost inadecvată în prezența invaziei microvasculare, deoarece rata de supraviețuire a fost semnificativ mai mică în comparație cu cea prevăzută de scor. Din păcate, în practica clinică obișnuită, prezența invaziei microvasculare nu este posibil de evaluat înainte de transplant, limitând astfel aplicarea de rutină a criteriilor „*up-to-seven*” pentru TH.

O altă modalitate de a selecta candidații pentru TH se bazează pe o asociere dintre volumul total al tumorii (VTT) și valoarea alfa-fetoproteinei (AFP). Takada Y, et al [9] au demonstrat, într-un studiu prospectiv, că selecția candidatului cu CHC pentru TH ar putea fi extinsă la pacienții cu VTT ≤ 115 cm³ și AFP ≤ 400 ng/ml, fără invazie macrovasculară sau răspândire extrahepatică. S-a demonstrat un risc crescut

de renunțare pentru includerea în lista de așteptare la acești pacienți, dar cu o supraviețuire post-transplant echivalentă cu cea a pacienților selectați în conformitate cu criteriile Milano.

Începând cu anul 2004, Universitatea din Toronto și-a adoptat criteriile extinse corespunzătoare. Conform acestui sistem, transplantul poate fi oferit fără a ține cont de orice dimensiune sau număr de noduli de CHC, cu condiția că pacientul nu prezintă o răspândire extra-hepatică a bolii sau tumora este slab diferențiată la examenul morfopatologic. Într-un studiu de cohortă (Sapisochin G, et al), care a cuprins pacienții ce au suferit transplant conform criteriilor Toronto, supraviețuirea acestora la cinci ani, din momentul TH, a fost de 68%, ceea ce este ușor diminuat în comparație cu cea a pacienților supuși transplantului după criteriile Milano, dar nu diferă statistic. Cu toate acestea, rata de recurență a CHC a fost mai mare în grupul cu pacienții ce au suferit transplant conform criteriilor Toronto [4, 6].

Un grup din Kyoto a propus următoarele criterii pentru TH în CHC: ≤ 10 tumori; formațiuni ≤ 5 cm; și valoarea des-gamma-carboxi protrobinei (DCP) ≤ 400 mAU/ml [7]. Folosind acest sistem, ratele de supraviețuire și recurență la 5 ani au fost de 80% și, respectiv, 70% atunci când toți pacienții (Milan-in sau Kyoto-in) au fost analizați [4, 7]. Examinând diferite rate de supraviețuire, în funcție de sistemele de selecție eterogene adoptate, se pune o întrebare: Care este rata minimă acceptabilă de supraviețuire la cinci ani la pacienții supuși TH pentru CHC? S-a sugerat că rata estimativă, de 50% de supraviețuire, la 5 ani, este cea mai mică valoare pentru includerea unui pacient pe lista de așteptare [10, 11]. Într-un alt studiu privind alocarea competitivă a grefelor între pacienții cu CHC și fără CHC, folosind un model Markow, a fost propusă o rată minimă de supraviețuire la cinci ani de 61% pentru CHC, pentru a evita dezavantajul pacienților fără CHC pe lista de așteptare [12]. De fapt, la o conferință din 2010 cu tematica CHC și transplant, care a avut loc la Zurich, o supraviețuire de 50% la cinci ani a fost considerată nesatisfăcătoare [13]. Totuși, în prezent, criteriile Milano sunt standardul de aur pentru a selecta pacienții cu CHC pentru un TH de succes și referința pentru evaluarea validității altor criterii sugerate [14].

Criteriile alternative extinse pentru TH în CHC, actualmente, nu au fost aduse la un consens, iar întrebarea rămâne restantă și strâns legată de lungimea listei de așteptare, de sistemul de alocare a organelor și de disponibilitatea surselor alternative de grefe (cum ar fi donatorii vii, domino TH și organe marginale). Caracteristicile și rezultatele diferitelor sisteme de alocare adoptate pentru TH în CHC sunt rezumate în tabelul 1.

Alocarea organelor la pacienții cu CHC

Disponibilitatea limitată a donatorilor de grefe a determinat adoptarea unor criterii, care crește prioritatea TH și se bazează pe riscul de mortalitate a pacienților pe lista de așteptare. „Model for end-stage liver disease” (MELD) reprezintă un model statistic, care ia în considerație raportul INR și nivelul seric al bilirubinei și creatininei și a fost adoptat în majoritatea sistemelor de alocare din întreaga lume. Conform acestui sistem, scorurile mai mari identifică pacienții cu un prognostic de viață mai slab pe termen scurt [15].

Pentru pacienții cu CHC, scorul tradițional MELD are o utilitate redusă. Criteriile originale au fost, de fapt, concepute pentru a prezice mortalitatea pacienților cu ciroză hepatică în stadiul final. Mulți pacienți cu CHC au patologii hepatice bine

Tabelul 1

Caracteristicile și rezultatele diferitor sisteme de alocare adoptate pentru TH în CHC

Sistemul de selecție	Anul propunerii	Criterii	Supraviețuire/ ani de urmărire
Criteriile Milano	1996	Leziune unică ≤ 5 cm sau până la trei tumori separate, nu mai mari de 3 cm; fără invazie macrovasculară; fără invazie limfoganglionară și extrahepatică.	85% / 4
Criteriile San Francisco (UCSF)	2007	Un singur nod până la 6,5 cm sau până la trei leziuni, cea mai mare fiind până la 4,5 cm și suma diametrelor nu mai mare de 8 cm	80,9% / 5
Criteriile „up-to-seven”	2009	Suma dintre dimensiunea (în cm) a tumorii mai mari și numărul total de tumori ≤ 7	71.2% / 5
Criteriile VTT și AFP	2009	VTT ≤ 115 cm ³ și valoarea AFP ≤ 400 ng/ml, fără invazie macrovasculară sau răspândire extrahepatică	74,6% / 4
Criteriile Kyoto	2013	≤ 10 tumori; formațiuni ≤ 5 cm; și valoarea des-gamma-carboxi protrombină ≤ 400 mAU/ml	65% / 5
Criteriile Toronto	2016	Orice dimensiune sau număr de tumori, fără simptome sistemice legate de cancer, patologie extrahepatică, invazie vasculară sau o leziune slab diferențiată la biopsie.	68% / 5

compensate, caracterizate printr-un scor MELD scăzut, iar riscul de abandonare a acestora de pe lista de așteptare este legat, mai degrabă, de progresia tumorii, decât de apariția insuficienței hepatice. Din aceste motive, sisteme modificate de notare cu privire la CHC au fost dezvoltate și adoptate de diferite centre de transplant. Această politică a fost adoptată pentru a include în aceeași listă de așteptare pacienți cu neoplasm hepatic și pacienți cu insuficiență hepatică, fără a crea un dezavantaj pentru un grup sau altul. Scorurile de prioritate pentru pacienții cu CHC se bazează, în principal, pe caracteristicile tumorii (mărimea, numărul și nivelul AFP) și timpul de așteptare (se acordă puncte suplimentare pacienților care au perioade mai lungi de așteptare) [16].

Toate sistemele de alocare ar trebui să fie supuse unei evaluări și revizuirii constante în timp, pentru a-și îndeplini obiectivele cu privire la beneficiile pentru transplant [17]. Sistemul de alocare pentru CHC poate fi considerat ca o „problemă dinamică”, care trebuie modificată în diferite zone geografice, în funcție de candidat, tipul de boală și caracteristicile numărului de donatori.

Terapie ”bridging”

Managementul pacienților cu CHC, aflați pe lista de așteptare, are ca scop evitarea progresiei bolii, cu excludere posibilă din această listă. În ciuda lipsei de date din studiile randomizate controlate, cu utilizarea placebo, recente ghiduri europene recomandă diferite terapii neoadjuvante pentru a stopa progresia tumorii, ceea ce va reduce riscul de abandonare a pacienților din lista de așteptare. Această strategie este, în special, sugerată atunci când timpul de așteptare preconizat este de șase luni sau mai mult [14].

Ghidurile actualizate ale Asociației Americane pentru Studiul Bolilor Ficatului (AASLD) recomandă diferite forme de terapie ”bridging” pentru pacienții aflați în lista de așteptare în T2 (criteriile Milano) cu scopul stopării progresiei tumorii; cu toate acestea, nu există nicio recomandare pentru o anumită formă de terapie neoadjuvantă. Pentru pacienții cu ciroză hepatică, care așteaptă TH și care dezvoltă un CHC T1 (un singur nod $\leq 1,9$ cm), se sugerează observarea acestora, pe cale imagistică, înaintea oricărei terapii ”bridging” [18].

Motivul pentru terapia ”bridging” este evidentă, deoarece rata de abandonare din listă, asociată cu extinderea tumorii, este raportată în 10-20% [19]. După această terapie pot fi așteptate efecte pozitive suplimentare ale terapiei neoadjuvante, cu răspuns pozitiv (necroza a cel puțin 60% din tumoră) după terapie locoregională. Cu toate acestea, este necesar să menționăm că

un rezultat îmbunătățit al TH după terapie ”bridging” a fost descris prin studii necontrolate [20]. Și, totuși, este evident posibilul efect benefic al terapiei ”bridging” la pacienții cu CHC, care așteaptă un timp scurt în lista de așteptare. Reieșind din acest fapt, terapia ”bridging” este aplicabilă și pentru pacienții ce se află mai mult timp pe lista de așteptare [21].

Terapia ”bridging”, necesară la fiecare pacient, depinde de localizarea tumorii, dimensiunea acesteia, numărul nodurilor și funcția hepatică, și include rezecția hepatică, injecția percutană cu etanol (PEI), ablația cu radiofrecvență (RFA), ablația cu microunde (MWA), chimioembolizarea trans-arterială (TACE), radioembolizarea (TARE) și radioterapia stereotactică.

Rezultatele generale asociate cu TACE sunt destul de inconsistente. Manini MA, et al au descris un beneficiu clinic fără un impact negativ asupra supraviețuirii post-transplant [23]. Unul dintre cele mai pozitive studii a descris 48 de pacienți, selectați în conformitate cu criteriile Milano. Niciunul dintre pacienții tratați cu TACE nu a avut progresie tumorală, unii dintre ei, au fost retrași de pe lista de așteptare. Supraviețuirea la cinci ani după TH la acești pacienți a fost de 93%. Timpul mediu de așteptare a grefei a fost de 178 de zile [22]. În schimb, beneficiile TACE au rezultate incerte în alte studii [24]. O revizuire sistematică a concluzionat că nu au fost disponibile dovezi certe pentru a indica faptul că TACE influențează asupra: (1) îmbunătățirii supraviețuirii post-TH; (2) modificării ratei complicațiilor după TH; (3) ratei de abandonare a pacienților din lista de așteptare [25].

Pentru pacienții selectați, cu tumori mici și funcție hepatică adecvată, poate fi efectuată o altă strategie, constând din rezecția chirurgicală inițială a tumorii, urmată de supraveghere atentă și transplant de „salvare”, dacă apare recidiva tumorii sau deteriorarea funcției hepatice. Într-o analiză retrospectivă a pacienților cu CHC, care au suportat doar TH, comparativ cu cei supuși rezecției inițiale și apoi TH (datorită CHC recidivant sau progresiei bolii hepatice în stadiu final), perioada postoperatorie și supraviețuirea generală sau fără recidivă, nu a fost diferită [26].

În schimb, un studiu observațional francez (Adam R, et al) asupra TH de salvare, efectuat după rezecție hepatică inițială, a raportat o creștere a mortalității perioperatorii și a recurenței CHC. La fel, a fost observată o supraviețuire generală și fără recidivă mai mică la cinci ani, în comparație cu pacienții care au supraviețuit inițial TH. Autorii au ajuns la concluzia că, chiar și atunci când CHC este susceptibil pentru rezecție, TH rămâne, în continuare, opțiunea ideală pentru un pacient cirotic cu CHC

[27]. Pentru toate cele de mai sus, chiar dacă nu trebuie trasă o indicație definitivă, rezecția inițială a tumorii la pacienții cu funcție hepatică bine conservată pare a fi o abordare rezonabilă [28].

PEI, RFA și ablația cu microunde au fost, de asemenea, studiate ca terapie "bridging" [29]. Într-un studiu Lu DS, et al, RFA a fost efectuată la 52 de pacienți ca terapie "bridging", și au fost observate rezultate încurajatoare. Doar trei pacienți (5,8%) au fost abandonați din listă, din cauza progresiei tumorii (timpul mediu aflării în listă = 13 luni), iar 41 de pacienți au suferit TH cu rate de supraviețuire la un an și la trei ani de 85%, și 76%, respectiv. La niciun pacient nu a apărut recidivă de CHC pe perioada de urmărire [29]. Ablația cu microunde a fost, de asemenea, aplicată cu succes ca terapie "bridging", deși sunt disponibile mai puține date [30].

Mai puține date sunt disponibile despre radioembolizarea cu microsferă etichetate cu Litiu90, comparativ cu alte tehnici. Cu toate acestea, s-a demonstrat că această procedură limitează progresia și abandonarea pacienților din programele de transplant [31]. Experiența cu radioterapia corporală stereotactică (SBRT), ca terapie "bridging", este limitată, dar încurajatoare. Un studiu a comparat SBRT cu TACE și RFA, în ceea ce privește rata abandonării, complicațiile postoperatorii și ratele de supraviețuire la 1, 3 și 5 ani după TH. Rezultatele au fost similare în rândul grupurilor [32].

Terapia "downstaging" (tratament pentru diminuarea stadiului tumorii).

Majoritatea tratamentelor utilizate în paralel ca terapii "bridging" sunt, de asemenea, folosite ca terapii "downstaging". Pentru comparație, în tabelul 2 putem observa comparația acestor 2 metode de tratament. În orice caz, necesită de menționat că terapia "downstaging" subînțelege tratamentul utilizat pentru a aduce pacienții la criterii acceptabile atunci când sarcina lor tumorală (volumul și/sau numărul tumorilor) depășește criteriile standard pentru TH.

Mai multe studii au demonstrat că succesul terapiei "downstaging" pentru CHC, efectuată până la stabilirea criteriilor Milano, reduce recidiva tumorii, cu o rată de supraviețuire generală și a grefei comparabilă cu a celor care din start îndeplinesc criteriile Milano [33].

Tabelul 2

Tehnici utilizate pentru terapia "bridging" sau "downstaging", la pacienți cu CHC înainte de transplant hepatic și eficacitatea acestora

	"BRIDGING"	"DOWNSTAGING"
TACE	0-35%	24-77%
Radioembolizare	NA	11-43%
RFA	16.8%	NA
SBRT	16.7%	NA
Rezecție	NA	NA
Abord combinat	NA	56%

Legendă: Coloana "bridging": procentele (când sunt prezente) indică rata abandonării pacienților de pe lista de așteptare, în ciuda efectuării acestei terapii; Coloana "downstaging": procentele (când sunt prezente) indică rata de succes cu terapia downstaging; TACE: chimioembolizare trans-arterială; RFA: ablație prin radiofrecvență; SBRT: radioterapie corporală stereoactivă; NA: Nu este evaluat.

Nu există niciun acord universal cu privire la metoda optimă de "downstaging". Majoritatea datelor au fost colectate pentru TACE sau radioembolizare. O revizuire sistematică a terapiei "downstaging" pentru CHC, inclusiv datele a 950 de pacienți, a arătat o rată generală de succes de 48% (95% interval de încredere 39-58%). Diferența dintre TACE și radioembolizare nu a fost semnificativă statistic [34]. Alte rapoarte au obținut rate de succes mai mari (60%), combinând diferite strategii (TACE asociată cu RFA sau radioembolizare) [35]. Interesant este că răspunsul la terapia "downstaging" este un marker important indirect al agresivității biologice a tumorii [36].

La fel, nu există un consens comun în privința priorității pacienților pentru TH, care reintră în criteriile acceptate. O conferință de consens italiană, privind alocarea grefei hepatice, a propus prioritizarea recipientului în funcție de riscul de progresie a tumorii și de răspunsul la terapia "bridging/downstaging" [37]. Ghidul AASLD pentru tratamentul CHC sugerează că pacienții care depășesc criteriile Milano ($\geq T3$) ar trebui să fie supuși transplantului hepatic doar după terapia "downstaging" de succes [18].

Recidivarea tumorii

Recidiva CHC după TH este aproximativ 8-20% [37]. Într-un studiu multicentric pe stadializare a patologiei implantului, Sapisochin G, et al au demonstrat că riscul de recurență al CHC este mai mare atunci când criteriile de volum sau numărul de noduli ai CHC sunt extinse [6]. Reapariția tumorii, în cea mai mare parte, este extrahepatică (plămâni și oase) [38] și, probabil, datorită creșterii metastazelor oculte [39]. Variabilele atribuite stadiului de cancer sunt direct asociate cu prognosticul bolii după TH. Mărimea (volumul) și numărul tumorii [5, 7], nivelurile serice ale markerului tumoral, cum ar fi AFP [40] și DCP [41], și indicele de inflamație (raportul neutrofil-limfocit) sunt direct asociate cu recidivarea.

Câteva studii au analizat caracteristicile tumorii în ficatul explantat, care ar putea influența dezvoltarea recurenței CHC. Din păcate, acești parametri nu pot fi utilizați în analizele pre-transplant, deoarece, în practica clinică curentă, majoritatea diagnosticărilor CHC sunt obținute pe baza investigațiilor radiologice. Caracteristicile cele mai relevante ale patologiei explantului sunt invazia micro- și microscopică vasculară, leziunile satelite și diferențierea tumorii [42].

Cercetările efectuate de către Universitatea din California, San Francisco, au dezvoltat un sistem de scor prognostic (Estimarea riscului recurenței tumorii după transplant (RETREAT) – "Risk Estimation of Tumor Recurrence After Transplant") folosind datele de la 721 pacienți, care au îndeplinit criteriile Milano. Trei variabile sunt independente asociate cu recidiva bolii: invazia microvasculară, nivelul AFP seric la momentul transplantului și diametrul celui mai mare nodul, plus numărul total de noduli în ficatul explantat. Acești parametri au stabilit riscul de recidivă a CHC la un an și cinci ani. Scorul RETREAT a fost capabil să estimeze probabilitatea de recurență, cu un risc $< 3\%$ corespunzător unui scor = 0 și $\geq 75\%$ cu un scor ≥ 5 [43].

Într-un studiu spaniol Reig M, et al au observat o asociere între tratamentul virusului hepatitei C (HCV), care utilizează medicamente antivirale cu acțiune directă (DAA) și recurența scăzută a CHC la pacienții anterior rezecați sau ablați pentru această patologie [44]. Recent, un studiu prospectiv amplu, Calvaruso V, et al efectuat la pacienții cu HCV și cu ciroză

compensată sau decompensată, a constatat că răspunsul viral susținut după tratamentul cu DAA scade incidența CHC după un timp mediu de 14 luni [45]. Pe baza acestor studii, tratamentul infecției cu HCV este recomandat la pacienții cu CHC, care este inclus în lista de așteptare pentru TH.

Un rol important în recurența CHC îl joacă și regimurile imunosupresive posttransplant, care conțin inhibitori de calcineurin, cum ar fi tacrolimus și ciclosporina [46]. Este posibil că excesul de expunere la aceste medicamente, într-un timp scurt după TH, poate inhiba sistemul imun și detectarea celulelor tumorale și, de asemenea, blochează acțiunea organismului asupra celulelor reziduale ale CHC [47]. Într-o revizuire retrospectivă (Wang Z, et al) a pacienților cu CHC (n=70), supuși tratamentului imunosupresiv cu inhibitori de calcineurină, la care sau determinat nivele serice crescute ale acestor medicamente, recurența cancerului a fost mai mare în comparație cu ceilalți pacienți [48].

Prevenirea recurenței tumorii

Inhibitori mTOR (mechanistic Target of Rapamycin), sirolimus și everolimus, sunt agenți imunosupresori, care prezintă proprietăți ciudate în declanșarea CHC. Studiile lui Guba M, et al realizate in vitro și in vivo sugerează că această clasă de medicamente contracarează activitatea proliferativă a CHC, care interferează, probabil, cu factorul de creștere endotelial vascular – *Vascular endothelial growth factor* (VEGF). S-a demonstrat că sirolimus inhibă creșterea și progresia metastatică a CHC [49]. Mai multe studii retrospective și de caz control al unui singur centru (Angelico R, et al) a raportat o recurență tumorală redusă la pacienții cu CHC tratați cu sirolimus, în comparație cu cei tratați cu alte tipuri de agenți imunosupresivi [50].

O meta-analiză a declarat că utilizarea unei imunosupresii pe bază de sirolimus scade semnificativ reparația tumorii și mortalitatea asociată cu recurența [51]. Dar, totuși, Geissler EK, et al au prezentat o etapă de studiu prospectiv internațional controlat randomizat multicentric de faza III a dat rezultate negative. În acest studiu randomizat, pacienții cu CHC au fost tratați cu sirolimus sau fără sirolimus, în urma TH. Supraviețuirea fără recidivă la cinci ani nu a fost diferită între grupuri [52].

Terapia adjuvantă poate, teoretic, reprezenta un beneficiu pentru subiecții CHC, care au suferit TH. De fapt, chirurgia TH necesită o manipulare extinsă a grefei primitoare, expunând, astfel, pacientul la un risc semnificativ de diseminare a celulelor

tumorale. Mai mult, după starea de imunosupresie, TH poate spori creșterea tumorii. Când acest fapt se întâmplă, reparația posttransplant are tendința să se dezvolte mai rapid după LT, decât după rezecție [53]. Cu toate acestea, chimioterapia cu medicamente, cum ar fi cisplatin sau 5-fluorouracil, nu a arătat niciun beneficiu clar [54].

Sorafenib, un inhibitor al tirozin-kinazei, care combate neoangiogeneza CHC, proliferarea celulelor și supraviețuirea tumorii, este terapia recomandată pentru tumora avansată [55]. O mică analiză retrospectivă efectuată de Saab S, et al de caz control demonstrează siguranța și un efect potențial al acestei molecule în reducerea recurenței CHC a grefei, îmbunătățind, astfel, ratele de supraviețuire generală și fără recidivă, la subiecții după TH, cu risc ridicat de recidivă [56]. Un alt studiu efectuat de Bruix J, et al cu sorafenib, controlat cu placebo în faza III dublu orb, comparativ cu placebo, efectuat ca terapie adjuvantă pentru CHC după rezecție sau ablație, nu a arătat niciun efect semnificativ [57]. Au fost identificați alți câțiva agenți activi și, în unele cazuri, aprobați pentru tratamentul CHC avansat, cum ar fi regorafenib, nivolumab și lenvatinib [58], dar niciunul dintre aceste medicamente nu a fost investigat ca terapie adjuvantă.

Concluzii

TH este o opțiune curativă importantă pentru pacienții cu CHC în stadiu incipient, dar, totuși, deficitul de organe impune o selecție atentă a pacienților. Deși este clar un interes din ce în ce mai mare în admiterea pacienților cu tumori mari, pentru TH, totuși, criteriile Milano rămân primordiale în selectarea pacienților cu CHC pentru transplant. Terapia "bridging" și de "downstaging" tumoral sunt utile pentru micșorarea abandonării pacienților care așteaptă TH, chiar dacă beneficiile nu au fost dovedite în studiile controlate. Rolul regimurilor imunosupresive, care utilizează inhibitori ai mTOR în prevenirea recurenței după TH, rămâne controversat. Cu toate că, în prezent, au fost propuși mai mulți biomarkeri, nimeni nu a dovedit validitatea puternică a acestora pentru precizarea reparației tumorii. Cercetarea extinsă asupra predictorilor de recurență, cum ar fi invazia microvasculară, ar putea face posibilă perfecționarea criteriilor de selecție. Datele încurajatoare provin din analiza moleculară a CHC, în ceea ce privește caracteristicile bolii. Un studiu al lui Kudo M, et al a evidențiat un model genetic (semnătura genetică compusă din 35 de gene) cu o valoare predictivă negativă de 0,77 pentru invazia microvasculară a CHC [59].

Bibliografie

1. World Health Organization International Agency for Research on Cancer (IARC). Globocan, 2015. Fact sheets by Population-Globocan-IARC [cited 26 January 2019]. Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx
2. El-Serag HB, Kanwal F. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the United States: Where are we? Where do we go? *Hepatology*. 2014; 60: 1767-1775.
3. Kim WR, Lake JR, Smith JM, Skeans MA, Schladt D. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: Liver. *Am J Transplant*. 2015; 15 Suppl 2: 1-28.
4. Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med*. 1996; 334: 693-699.
5. Yao FY, Xiao L, Bass NM, Kerlan R, Ascher NL. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Validation of the UCSF-expanded criteria based on preoperative imaging. *Am J Transplant*. 2007; 7: 2587-2596.
6. Sapisochin G, Goldaracena N, Laurence JM, Dib M, Barbas A, Ghanekar A, Cleary SP, Lilly L, Cattral MS. The extended Toronto criteria for liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma: A prospective validation study. *Hepatology*. 2016; 64: 2077-2088.
7. Kaido T, Ogawa K, Mori A, Fujimoto Y. Usefulness of the Kyoto criteria as expanded selection criteria for liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Surgery*. 2013;

- 154: 1053-1060.
8. Decaens T, Roudot-Thoraval F, Hadni-Bresson S, Meyer C, Gugenheim J, Durand F, Bernard PH. Impact of UCSF criteria according to pre- and post-OLT tumor features: Analysis of 479 patients listed for HCC with a short waiting time. *Liver Transpl.* 2006; 12: 1761-1769.
 9. Takada Y, Ito T, Ueda M, Sakamoto S, Haga H, Maetani Y, Ogawa K. Living donor liver transplantation for patients with HCC exceeding the Milan criteria: A proposal of expanded criteria. *Dig Dis.* 2007; 25: 299-302.
 10. Navasa M, Bruix J. Multifaceted perspective of the waiting list for liver transplantation: The value of pharmacokinetic models. *Hepatology.* 2010; 51: 12-15.
 11. Bruix J, Fuster J, Llovet JM. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Foucault pendulum versus evidence-based decision. *Liver Transpl.* 2003; 9: 700-702.
 12. Volk ML, Vijan S, Marrero JA. A novel model measuring the harm of transplanting hepatocellular carcinoma exceeding Milan criteria. *Am J Transplant.* 2008; 8: 839-846.
 13. Clavien PA, Lesurtel M, Bossuyt PM, Gores GJ, Langer B, Perrier A; OLT for HCC Consensus Group. Recommendations for liver transplantation for hepatocellular carcinoma: An international consensus conference report. *Lancet Oncol.* 2012; 13: e11-22.
 14. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2018; 69: 182-236.
 15. Wiesner R, Edwards E, Freeman R, Harper A, Kim R, Kamath P, Kremers W, Lake J; United Network for Organ Sharing Liver Disease Severity Score Committee. Model for end-stage liver disease (MELD) and allocation of donor livers. *Gastroenterology.* 2003; 124: 91-96.
 16. Toso C, Mazzaferro V, Bruix J, Freeman R, Mentha G, Majno P. Toward a better liver graft allocation that accounts for candidates with and without hepatocellular carcinoma. *Am J Transplant.* 2014; 14: 2221-2227.
 17. Lamas D, Rosenbaum L. Very complicated math--reconfiguring organ allocation. *N Engl J Med.* 2014; 371: 2447-2450.
 18. Heimbach JK, Kulik LM, Finn RS, Sirlin CB, Abecassis MM, Roberts LR, Zhu AX, Murad MH, Marrero JA. AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2018; 67: 358-380.
 19. Majno P, Lencioni R, Mornex F, Girard N, Poon RT. Is the treatment of hepatocellular carcinoma on the waiting list necessary? *Liver Transpl.* 2011; 17 Suppl 2: S98-108.
 20. Lin Y, Chapman WC. Towards more effective liver allocation criteria for hepatocellular carcinoma: Tumor response to locoregional therapy. *Ann Surg Oncol.* 2011; 18: 2416-2418.
 21. Sourianarayanan A, El-Gazzaz G, Sanabria JR, Menon KV, Quintini C, Hashimoto K, Kelly D, Egtesad B, Miller C, Fung J. Loco-regional therapy in patients with Milan Criteria-compliant hepatocellular carcinoma and short waitlist time to transplant: An outcome analysis. *HPB (Oxford).* 2012; 14: 325-332.
 22. Graziadei IW, Sandmueller H, Waldenberger P, Koenigsrainer A. Chemoembolization followed by liver transplantation for hepatocellular carcinoma impedes tumor progression while on the waiting list and leads to excellent outcome. *Liver Transpl.* 2003; 9: 557-563.
 23. Manini MA, Sangiovanni A, Martinetti L, Viganò D, La Mura V, Aghemo A, Iavarone M, Crespi S, Nicolini A, Colombo M. Transarterial chemoembolization with drug-eluting beads is effective for the maintenance of the Milan-in status in patients with a small hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* 2015; 21: 1259-1269.
 24. Decaens T, Roudot-Thoraval F, Bresson-Hadni S, Meyer C, Gugenheim J, Durand F, Bernard PH, Boillot O, Boudjema K, Calmus Y, Hardwigsen J, Ducerc C, Pageaux GP. Impact of pretransplantation transarterial chemoembolization on survival and recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl.* 2005; 11: 767-775.
 25. Lesurtel M, Müllhaupt B, Pestalozzi BC, Pfammatter T, Clavien PA. Transarterial chemoembolization as a bridge to liver transplantation for hepatocellular carcinoma: An evidence-based analysis. *Am J Transplant.* 2006; 6: 2644-2650.
 26. Belghiti J, Cortes A, Abdalla EK, Régimbeau JM, Prakash K. Resection prior to liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg.* 2003; 238: 885-92; discussion 892-3.
 27. Adam R, Azoulay D, Castaing D, Eshkenazy R, Pascal G, Hashizume K, Samuel D, Bismuth H. Liver resection as a bridge to transplantation for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: A reasonable strategy? *Ann Surg.* 2003; 238: 508-18; discussion 518-9.
 28. Fuks D, Dokmak S, Paradis V, Diouf M, Durand F, Belghiti J. Benefit of initial resection of hepatocellular carcinoma followed by transplantation in case of recurrence: An intention-to-treat analysis. *Hepatology.* 2012; 55: 132-140.
 29. Lu DS, Yu NC, Raman SS, Lassman C, Tong MJ, Britten C, Durazo F, Saab S, Han S, Finn R. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as a bridge to liver transplantation. *Hepatology.* 2005; 41: 1130-1137.
 30. Zanus G, Boetto R, Gringeri E, Vitale A, D'Amico F, Carraro A, Bassi D, Bonsignore P. Microwave thermal ablation for hepatocarcinoma: Six liver transplantation cases. *Transplant Proc.* 2011; 43: 1091-1094.
 31. Kulik LM, Atassi B, van Holsbeeck L, Souman T, Lewandowski RJ, Mulcahy MF, Hunter RD, Nemcek AA, Abecassis MM, Haines KG. Yttrium-90 microspheres (TheraSphere) treatment of unresectable hepatocellular carcinoma: Downstaging to resection, RFA and bridge to transplantation. *J Surg Oncol.* 2006; 94: 572-586.
 32. Sapisochin G, Barry A, Doherty M, Fischer S, Goldaracena N, Rosales R, Russo M. Stereotactic body radiotherapy vs. TACE or RFA as a bridge to transplant in patients with hepatocellular carcinoma. An intention-to-treat analysis. *J Hepatol.* 2017; 67: 92-99.
 33. Rubin A, Berenguer M. Remnant vital tissue following locoregional therapy for hepatocellular carcinoma: Another player in the game. *Transpl Int.* 2018; 31:972-974.
 34. Parikh ND, Waljee AK, Singal AG. Downstaging hepatocellular carcinoma: A systematic review and pooled analysis. *Liver Transpl.* 2015; 21: 1142-1152.
 35. Barakat O, Wood RP, Ozaki CF, Ankoma-Sey V, Galati J, Skolkin M, Toombs B, Round M. Morphological features of advanced hepatocellular carcinoma as a predictor of downstaging and liver transplantation: An intention-to-treat analysis. *Liver Transpl.* 2010; 16: 289-299.
 36. Cillo U, Burra P, Mazzaferro V, Belli L, Pinna AD, Spada M, Nanni Costa A, Toniutto P; I-BELT (Italian Board of Experts in the Field of Liver Transplantation). A Multistep, Consensus-Based Approach to Organ Allocation in Liver Transplantation: Toward a "Blended Principle Model". *Am J Transplant.* 2015; 15: 2552-2561.
 37. Silva MF, Sherman M. Criteria for liver transplantation for HCC: What should the limits be? *J Hepatol.* 2011; 55: 1137-1147.
 38. Valdivieso A, Bustamante J, Gastaca M, Uriarte JG, Ventoso A, Ruiz P, Fernandez JR. Management of hepatocellular carcinoma recurrence after liver transplantation. *Transplant Proc.* 2010; 42: 660-662 [PMID: 20304217 DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.02.014].
 39. Toso C, Mentha G, Majno P. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Five steps to prevent recurrence. *Am J Transplant.* 2011; 11: 2031-2035.
 40. Duvoux C, Roudot-Thoraval F, Decaens T, Pessione F, Badran H, Piardi T, Francoz C, Compagnon P, Vanlemmens C, Dumortier J, Dharancy S, Gugenheim J, Bernard PH, Adam R; Liver Transplantation French Study Group. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: A model including α -fetoprotein improves the performance of Milan criteria. *Gastroenterology.* 2012; 143: 986-94.e3; quiz e14-5.
 41. Fujiki M, Takada Y, Ogura Y, Oike F, Kaido T, Teramukai S, Uemoto S. Significance of des-gammacarboxy prothrombin in selection criteria for living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Am J Transplant.* 2009; 9: 2362-2371.

42. Halazun KJ, Hardy MA, Rana S, Tamura AA, Woodland DC 4th, Luyten EJ. Negative impact of neutrophil-lymphocyte ratio on outcome after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg.* 2009; 250: 141-151.
43. Mehta N, Heimbach J, Harnois DM, Sapisochin G, Dodge JL, Lee D, Burns JM, Sanchez W, Greig PD, Grant DR. Validation of a Risk Estimation of Tumor Recurrence After Transplant (RETREAT) Score for Hepatocellular Carcinoma Recurrence After Liver Transplant. *JAMA Oncol.* 2017; 3: 493-500.
44. Reig M, Mariño Z, Perelló C, Iñarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, Díaz A. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy. *J Hepatol.* 2016; 65: 719-726.
45. Calvaruso V, Cabibbo G, Cacciola I, Petta S, Madonia S, Bellia A, Tinè F, Distefano M, Licata A, Giannitrapani L, Prestileo T; Rete Sicilia Selezione Terapia-HCV (RESIST-HCV). Incidence of Hepatocellular Carcinoma in Patients With HCV-Associated Cirrhosis Treated With Direct-Acting Antiviral Agents. *Gastroenterology.* 2018; 155: 411-421.e4.
46. Rodríguez-Perálvarez M, Tsochatzis E, Naveas MC, Pieri G, García-Caparrós C, O'Beirne J, PoyatoGonzález A. Reduced exposure to calcineurin inhibitors early after liver transplantation prevents recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2013; 59: 1193-1199.
47. Rodríguez-Perálvarez M, De la Mata M, Burroughs AK. Liver transplantation: immunosuppression and oncology. *Curr Opin Organ Transplant.* 2014; 19: 253-260.
48. Wang Z, Zhou J, Fan J, Tan CJ, Qiu SJ, Yu Y. Sirolimus inhibits the growth and metastatic progression of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2009; 135: 715-722.
49. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: Involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med.* 2002; 8: 128-135.
50. Angelico R, Parente A, Manzia TM. Using a weaning immunosuppression protocol in liver transplantation recipients with hepatocellular carcinoma: A compromise between the risk of recurrence and the risk of rejection? *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2: 74.
51. Menon KV, Hakeem AR, Heaton ND. Meta-analysis: Recurrence and survival following the use of sirolimus in liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013; 37: 411-419.
52. Geissler EK, Schnitzbauer AA, Zülke C, Lamby PE, Proneth A, Duvoux C, Burra P, Jauch KW, Rentsch M. Sirolimus Use in Liver Transplant Recipients With Hepatocellular Carcinoma: A Randomized, Multicenter, Open-Label Phase 3 Trial. *Transplantation.* 2016; 100: 116-125.
53. Yokoyama I, Carr B, Saito H, Iwatsuki S, Starzl TE. Accelerated growth rates of recurrent hepatocellular carcinoma after liver transplantation. *Cancer.* 1991; 68: 2095-2100.
54. Söderdahl G, Bäckman L, Isoniemi H, Cahlin C, Höckerstedt K, Broomé U, Mäkisalo H, Friman S, Ericzon BG. A prospective, randomized, multi-centre trial of systemic adjuvant chemotherapy versus no additional treatment in liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Transpl Int.* 2006; 19: 288-294.
55. Bernal E, Montero JL, Delgado M, Fraga E, Costán G, Barrera P, López-Vallejos P, Solórzano G, Rufián S, Briceño J, Padillo J, López-Cillero P, Marchal T, Muntané J, de la Mata M. Adjuvant chemotherapy for prevention of recurrence of invasive hepatocellular carcinoma after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006; 38: 2495-2498.
56. Saab S, McTigue M, Finn RS, Busuttil RW. Sorafenib as adjuvant therapy for high-risk hepatocellular carcinoma in liver transplant recipients: Feasibility and efficacy. *Exp Clin Transplant.* 2010; 8: 307-313.
57. Bruix J, Takayama T, Mazzaferro V, Chau GY, Yang J, Kudo M, Cai J, Poon RT, Han KH, Tak WY, Lee HC, Song T, Roayaie S, Bolondi L, Lee KS; STORM investigators. Adjuvant sorafenib for hepatocellular carcinoma after resection or ablation (STORM): A phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* 2015; 16: 1344-1354.
58. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Hsu C, Kim TY, Choo SP, Trojan J, Welling J, TH RD, Kang YK, Yeo YK, Chopra A, Anderson J, Dela Cruz C. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): An open-label, noncomparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet.* 2017; 389: 2492-2502.
59. Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, Baron A, Park JW, Han G, Jassem J, Blanc JF, Vogel A, Komov D, Evans TRJ, Lopez C, Dutcus C, Guo M, Saito K, Kraljevic S. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: A randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet.* 2018; 391: 1163-1173.

Recepționat – 20.05.2020, acceptat pentru publicare – 04.08.2020

Autorii nu au conflicte de interese de declarat.

Citare: Burgoci S. Transplant hepatic pentru carcinom hepatocelular. Managementul preoperator optimal. [Liver transplant for hepatocellular carcinoma. Optimal preoperative management.] *Arta Medica.* 2020; 75(2); 25-31