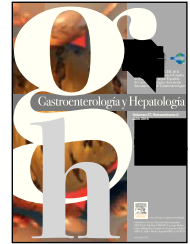




# Gastroenterología y Hepatología

www.elsevier.es/gastroenterologia



## CARCINOMA HEPATOCELULAR

# Utilidad del perfil molecular en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento del carcinoma hepatocelular

Jordi Bruix

Unidad de Oncología Hepática (BCLC), Servicio de Hepatología, Hospital Clínic, Barcelona, IDIBAPS, Universidad de Barcelona, Barcelona, España  
Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBEREHD)

### PALABRAS CLAVE

Carcinoma  
hepatocelular;  
Perfil molecular;  
Tratamiento

### Resumen

El carcinoma hepatocelular es una de las causas más importantes de muerte por cáncer y actualmente es la principal causa de muerte en pacientes con cirrosis hepática. Diversas sociedades científicas han compilado guías de práctica clínica basadas en la evidencia y de este modo se dispone de criterios homogéneos para establecer y predecir el pronóstico y orientar la opción de tratamiento más favorable para cada estadio evolutivo. En todos estos aspectos la valoración de los pacientes se basa en instrumentos convencionales: evaluación clínica, determinaciones analíticas y exploración mediante técnicas de imagen. Por el momento, la investigación de perfiles moleculares no ha llevado a que esta información modifique la decisión clínica. Múltiples investigaciones han aportado información relevante de la posible clasificación del tumor en función de anomalías genéticas y de la posible identificación de dianas moleculares, y en el futuro este tipo de datos se incorporará a la práctica convencional de manera similar a lo que ha ocurrido en cáncer de mama, pulmón, colorrectal o melanoma.

© 2014 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Correo electrónico: [jbruix@clinic.ub.es](mailto:jbruix@clinic.ub.es)

**KEYWORDS**

Hepatocellular carcinoma;  
Molecular profile;  
Treatment

**Usefulness of the molecular profile in the diagnosis, prognosis and treatment of hepatocellular carcinoma****Abstract**

Hepatocellular carcinoma is one of the most significant causes of death from cancer and is currently the main cause of death in patients with hepatic cirrhosis. Various scientific societies have compiled evidence-based clinical practice guidelines. Homogeneous criteria are therefore available for establishing and predicting the prognosis and directing the most favorable treatment option for each evolutionary stage. In all of these aspects, patient assessment is based on conventional instruments: clinical assessment, laboratory tests and examinations using imaging techniques. For now, research into molecular profiles has not resulted in this information impacting the clinical decision. Numerous investigations have provided relevant information on the possible classification of tumors based on genetic abnormalities and on the possible identification of molecular targets. In the future, this type of data will be incorporated into conventional practice in a similar manner as has occurred with breast, lung, colorectal and melanoma.

© 2014 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

El carcinoma hepatocelular (CHC) representa la sexta causa de muerte por cáncer a nivel global y en la actualidad es la principal causa de muerte en pacientes con cirrosis hepática<sup>1,2</sup>. Todos los agentes que pueden dar lugar a daño hepático con evolución a cirrosis constituyen factores de riesgo para esta neoplasia, pero el riesgo es clínicamente relevante cuando se ha establecido la cirrosis hepática y especialmente cuando hay hipertensión portal (HTP)<sup>3-5</sup>. Años atrás se creía que el diagnóstico de CHC no se podía efectuar en fases iniciales de su desarrollo y que, en cualquier caso, el tratamiento era absolutamente ineficaz y además inducía pérdida de calidad de vida. Esta situación se ha modificado radicalmente en los últimos 20 años<sup>6</sup>. Actualmente se dispone de instrumentos para diagnosticar precozmente la enfermedad (lo que posibilita establecer planes de detección temprana) y hay tratamientos que aumentan la supervivencia de los pacientes en cada una de las fases en que se establece el diagnóstico<sup>6</sup>. La relevancia del CHC en el seguimiento de los pacientes con enfermedades crónicas del hígado ha motivado que diversas sociedades científicas relacionadas con las enfermedades del hígado, o con oncología en general, hayan elaborado guías de práctica clínica con recomendaciones para un óptimo manejo de estos pacientes<sup>4,5,7</sup>. En todos estos documentos se exponen los criterios para intentar la detección precoz, establecer el diagnóstico y pautar el tratamiento. Lamentablemente, el proceso de decisión clínico se basa exclusivamente en parámetros clínicos y analíticos convencionales y, por el momento, no se ha generado la evidencia científica que justifique el uso de información biológica de las células tumorales o del hígado circundante<sup>4,5,7</sup>. En este capítulo se exponen brevemente las recomendaciones clínicas actuales y los datos moleculares más sugestivos aunque, por el momento, sin valor para la toma de decisiones específicas.

**Riesgo de carcinoma hepatocelular y detección precoz**

Como se ha mencionado, cualquier agente o circunstancia que induzca daño hepático crónico (virus de las hepatitis B y C, ingesta de alcohol, esteatohepatitis no alcohólica, hemocromatosis hereditaria) puede llevar a cirrosis y, en ese momento, existe el riesgo relevante de CHC<sup>4,5,7</sup>. No obstante, no todos los pacientes desarrollan cáncer y, por tanto, debe haber un mecanismo que facilite o impida su aparición, aunque la enfermedad hepática sea aparentemente idéntica. Los mecanismos relacionados con el desarrollo de cáncer incluyen estrés oxidativo, detoxificación, metabolismo del hierro, inflamación, síntesis y reparación de ADN<sup>8</sup>. Obviamente, la anulación de la replicación viral, el abandono del alcohol y el control del sobrepeso<sup>9</sup> contribuyen a disminuir el riesgo, pero factores intrínsecos del paciente pueden ser determinantes para un mayor riesgo de CHC. Agentes como el café<sup>10-12</sup>, la metformina<sup>13-15</sup> o los bloqueadores beta<sup>16</sup> se han asociado con menor riesgo a través de mecanismos no conocidos, pero que seguro participan en la oncogénesis. Determinados fenotipos relacionados con la respuesta inflamatoria o la respuesta metabólica se han correlacionado con mayor riesgo<sup>17,18</sup>. En este sentido se ha demostrado en modelos experimentales que la traslocación bacteriana y la liberación de citocinas resultante se hallan involucradas en el desarrollo tumoral y que el tratamiento antibiótico puede prevenir la oncogénesis<sup>19,20</sup>. De hecho, la mayor prevalencia en el sexo masculino se puede explicar también por una respuesta diferente a la inflamación<sup>21</sup> y, por tanto, este mecanismo biológico es altamente relevante dado que incluso podría ser la base de estrategias de prevención.

Recientemente se ha descrito un perfil molecular del hígado cirrótico asociado a una mayor incidencia de CHC<sup>22</sup>. Esta firma molecular se describió inicialmente en pacientes con CHC tratados mediante resección quirúrgica y se correlacionó con recidiva tardía de la enfermedad, supuesta-

mente en relación con tumor metacrónico generado en el hígado cirrótico con capacidad oncogénica. Posteriormente, la misma firma se ha validado en pacientes con cirrosis hepática por virus de la hepatitis C y ello evidencia que el perfil biológico de la cirrosis está involucrado en la magnitud del riesgo de cáncer<sup>23</sup>. No obstante, estos estudios adolecen de ciertas limitaciones. Al ser estudios retrospectivos, no se controlan los eventos durante el seguimiento, que pueden asociarse a mayor riesgo. Por tanto, la firma molecular descrita puede reflejar, en parte, la actividad inflamatoria asociada a la persistencia del daño generado por el agente etiológico de la enfermedad o ser meramente un reflejo del distinto momento evolutivo con mayor o menor HTP. Debe señalarse que la magnitud de la HTP medida mediante cateterismo de venas suprahepáticas se correlaciona con riesgo de cáncer<sup>24</sup> y que la misma correlación se ha descrito mediante elastografía, tanto en pacientes con cirrosis por virus C como por virus B<sup>25-27</sup>. Por tanto, en el momento actual no se puede definir un patrón molecular asociado a mayor riesgo o a su ausencia.

Las guías de práctica clínica recomiendan iniciar planes de detección precoz en el momento en que se establece el diagnóstico de cirrosis hepática, siempre y cuando el paciente fuera candidato a tratamiento si se diagnosticase un CHC. Ello excluye de la recomendación a los pacientes con cirrosis descompensada que no puedan ser candidatos a trasplante y a aquellos con comorbilidad relevante y/o edad avanzada. La técnica para la detección precoz es la ultrasonografía abdominal y el intervalo de la exploración se ha establecido en 6 meses, según los pocos datos de crecimiento tumoral de que se dispone<sup>4,5,7</sup>. Un mayor riesgo medido por cualquier característica (actividad inflamatoria, edad, sexo, grado de HTP, etc.) no implica mayor velocidad de crecimiento y, por tanto, necesidad de aplicar un intervalo más corto.

Los marcadores tumorales no son de utilidad para la detección precoz<sup>4,5,7</sup>. La alfa-fetoproteína (AFP) es frecuentemente normal en tumores en fase inicial y su elevación se correlaciona con estadio avanzado y peor pronóstico<sup>28,29</sup>. Por tanto, su uso no puede facilitar la detección del CHC en fase precoz. Otros marcadores que se han propuesto (glypican, osteopontina, desgammacarboxiprotrombina) no han demostrado mayor utilidad y no se recomiendan<sup>4,5,7</sup>.

## Diagnóstico

Establecer el diagnóstico de manera inequívoca antes del tratamiento es fundamental. Cuando el tumor es de gran tamaño y/o multifocal, las dificultades diagnósticas son escasas, tanto por técnicas de imagen como por biopsia<sup>30</sup>. El examen anatomopatológico muestra células con pobre diferenciación y patrón proliferativo, sin que emerjan dudas en cuanto a la naturaleza maligna de origen hepatocitario. La situación es claramente compleja cuando se trata de tumores de pequeño tamaño (< 2 cm). Si el nódulo en el seno de un hígado cirrótico presenta el patrón de intensa captación arterial seguida de hipointensidad en fases venosas en resonancia magnética o tomografía computarizada, el diagnóstico se halla confirmado con casi un 100% de especificidad<sup>31-34</sup>. Si el patrón no es específico, la distinción con otras

neoplasias o con nódulos de regeneración o displásicos debe hacerse por biopsia. Dado que en fases precoces el CHC se halla compuesto de células con buena diferenciación, la sensibilidad de la biopsia en estos casos se halla alrededor del 60%<sup>35</sup>. Tinciones inmunohistoquímicas para glypican, survivina o glutamintasa pueden reforzar la sospecha diagnóstica, pero no poseen una sensibilidad o especificidad del 100%<sup>36,37</sup>. Perfiles de expresión de mRNA para estas proteínas se han estudiado en muestras quirúrgicas<sup>38</sup>, pero no hay estudios que validen su uso en material de biopsia.

Recientemente se ha sugerido que la detección de células circulantes, fragmentos de ADN o ARN encapsulado podrían ser de utilidad para detección, diagnóstico y quizás, pronóstico<sup>39,40</sup>. No obstante, la tecnología no está plenamente desarrollada y, por tanto, no es aplicable en el ámbito clínico.

## Cribado y pronóstico

La valoración de la extensión tumoral se realiza mediante técnicas de imagen, la evaluación de la función hepática se basa en parámetros de laboratorio (usualmente se emplea la clasificación de Child-Pugh) y la detección de síntomas relacionados con cáncer forma parte de la práctica clínica (*performance status*)<sup>6</sup>. Con estas 3 dimensiones se define el momento evolutivo de la enfermedad, de acuerdo al sistema BCLC (Barcelona Clínic Liver Cancer), que es el que se recomienda internacionalmente<sup>4,7</sup>. Los pacientes se estratifican en 5 estadios, que van desde una fase muy inicial a una fase terminal y el modelo vincula cada estadio con una potencial indicación de tratamiento. Obviamente, la valoración de cada paciente debe individualizarse teniendo en cuenta parámetros que no se puede esperar que formen parte de un modelo general de decisión. Esta personalización de la decisión se ha realizado siempre en el ámbito clínico (nunca se toman decisiones basadas en meros algoritmos electrónicos) y, actualmente, se intenta incorporar datos de perfil molecular para dar lugar al concepto de "medicina personalizada". Por el momento, el único parámetro que se ha consolidado como marcador de enfermedad avanzada y predictor de peor pronóstico es la AFP. Los pacientes con AFP elevada presentan mayor probabilidad de progresión en lista de espera para trasplante y también mayor recidiva postrasplante<sup>41-43</sup>.

De este modo, algunos autores han propuesto excluir a los pacientes con valores > 1.000 ng/dl, aunque su extensión tumoral siga estando dentro de los criterios de Milán<sup>43</sup>. No obstante, si los valores de AFP se normalizan mediante tratamiento, los resultados del trasplante no son diferentes de los de pacientes sin incremento de AFP<sup>44</sup>. Estos estudios que identifican la AFP no emplean un análisis dependiente del tiempo de las variables evolutivas (comportamiento de AFP tras tratamiento) y, por tanto, ello implica un sesgo que menoscaba la solidez del mensaje. En cualquier caso, la indicación de trasplante y la decisión de contraindicarlo en función de la AFP son el único contexto en el que un biomarcador podría tenerse en cuenta para valorar la indicación de tratamiento.

Dado que los pacientes con AFP elevada presentan un peor pronóstico<sup>45</sup> se podría recomendar que en ensayos clí-

nicos se considerase la utilización de AFP como parámetro para estratificar la población, aunque su importancia es menor que parámetros bien establecidos como invasión vascular, diseminación extrahepática y presencia de síntomas. No obstante, en la práctica clínica convencional la concentración de AFP no debe condicionar la indicación de tratamiento, ni tampoco hay datos sólidos que apoyen el uso de la evolución de AFP tras tratamiento para valorar su eficacia y decidir si hay que mantenerlo o suspenderlo<sup>4,7</sup>.

Las investigaciones de la correlación entre perfil molecular (mutaciones, expresión génica, expresión de proteínas) y pronóstico han resultado en sugerencias atractivas, pero necesitan validación<sup>46-52</sup>. Debe remarcar que los tejidos que se han usado para establecer correlaciones con pronóstico se han basado habitualmente en tejido obtenido mediante resección quirúrgica o trasplante, lo que implica un estadio previo a lo observable en fases más avanzadas. Es conocido que el patrón molecular de los tumores evoluciona tanto de manera espontánea como en respuesta a los distintos tratamientos. De manera similar se sabe que los tumores son heterogéneos<sup>53,54</sup> (fig. 1) y, por tanto, el perfil biológico puede ser diferente en áreas separadas de un mismo foco tumoral y/o en nódulos separados de un mismo paciente<sup>53,55</sup>.

El simple examen macroscópico demuestra una gran heterogeneidad que a nivel microscópico se traduce en diferentes grados de diferenciación celular, actividad proliferativa y vascularización. Ello resalta la complejidad de la exploración molecular de esta neoplasia.

Esta complejidad tumoral implica asumir que la información que se pueda obtener mediante biopsia en un punto concreto de la evolución clínica de un paciente puede no ser representativa de la realidad biológica del tumor. Por tanto, además de profundizar en la caracterización a partir de tejido, se ha iniciado la búsqueda de parámetros en sangre periférica. A diferencia de la utilidad en cáncer de mama<sup>56</sup>, su relevancia en cáncer de hígado no está establecida.

Se han propuesto diversas clasificaciones para generar categorías de CHC en función del patrón molecular y poten-

cialmente relacionadas con el pronóstico y posibles tratamientos dirigidos a dianas moleculares<sup>23,55</sup>. Lamentablemente, las propuestas no se han consolidado y no hay consenso al respecto. No existe una mutación génica específica ligada al desarrollo de CHC, ni tampoco una anomalía que constituya una diana terapéutica inequívoca. El análisis genético incluye determinación de mRNA, miARN, secuenciación génica, cuantificación de deleciones cromosómicas y metilación epigenética de ADN. Algunas de las anomalías son relevantes, pero otras pueden ser pasajeras y sin importancia funcional. Las alteraciones pueden ser propias del cáncer o compartidas con el hígado circundante y, por tanto, no ser específicas. El perfil molecular puede variar en función del factor de riesgo que ha inducido el cáncer y, obviamente, del perfil genético poblacional del área geográfica que se analiza. Todo esto resulta en un análisis altamente complejo, que por el momento no alcanza utilidad clínica.

Las propuestas moleculares a nivel tisular deben exceder la información pronóstica que se puede derivar de parámetros convencionales, como grado de diferenciación o actividad proliferativa medida mediante ki67 o PCNA. Este valor añadido del perfil molecular no se ha demostrado, aunque recientemente se ha propuesto que la tinción positiva para citoqueratina 19 reflejaría un patrón de *cancer stem cell* e implicaría peor pronóstico<sup>52</sup>. Este dato concordaría con diversos estudios que han correlacionado patrones de expresión génica que corresponden a *stem cells* con peor pronóstico<sup>57,58</sup>, pero nuevamente debe tenerse en cuenta que antes de aceptar un biomarcador en el proceso de decisión clínica debe disponerse de una validación prospectiva, demostrando que su uso se traduce en una diferencia significativa en un objetivo clínicamente relevante como es la supervivencia.

Recientemente se ha remarcado que el microambiente tumoral puede ser relevante en la evolución del tumor<sup>59,60</sup>.

Por tanto, no toda la información potencialmente útil debe partir de las células tumorales, de modo que la comprensión de la biología del cáncer no debe restringirse a lo que ocurre en las células tumorales. Este concepto se aplica tanto a cáncer de hígado como a todo tipo de neoplasias.

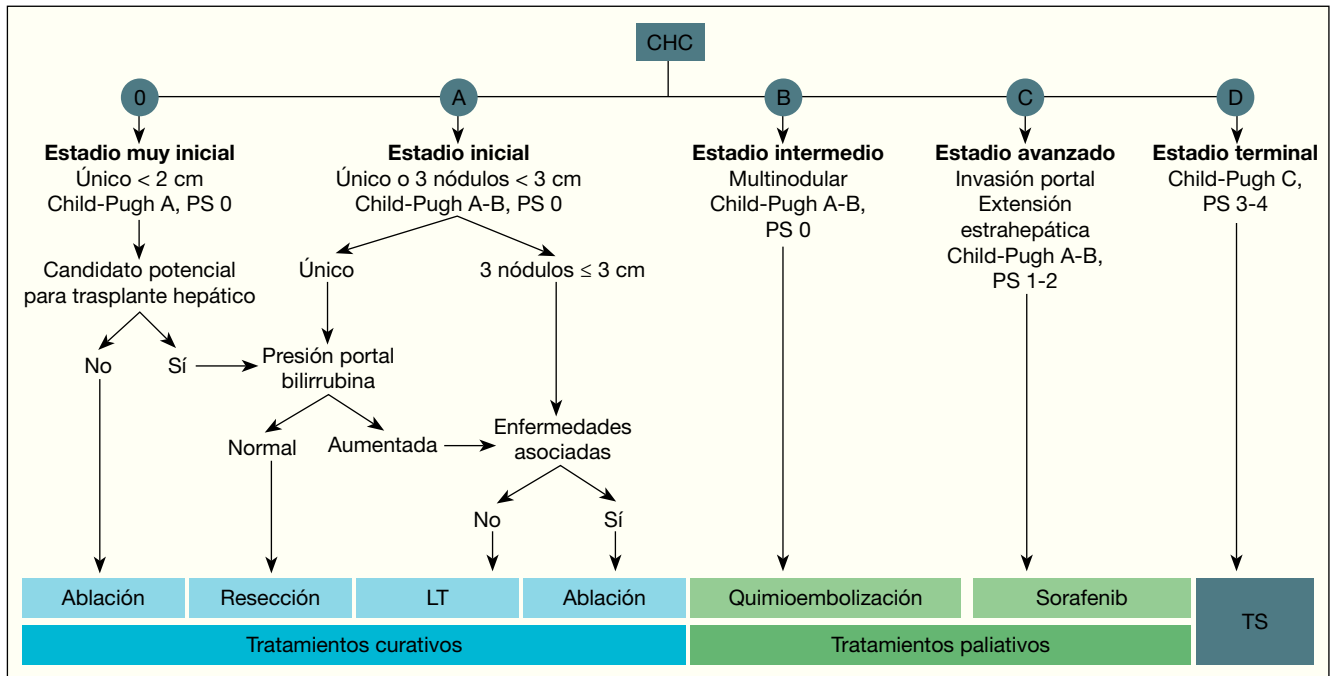


Figura 1 Carcinoma hepatocelular sobre hígado cirrótico.

## Tratamiento

Las guías terapéuticas actuales recomiendan el tratamiento a aplicar según la extensión tumoral, la función hepática y el estado general del paciente<sup>4,7</sup>. En ninguna circunstancia se tiene en cuenta el perfil molecular del tejido tumoral o algún marcador en sangre periférica. Según la estrategia BCLC (fig. 2), los pacientes diagnosticados en fase inicial y con función hepática conservada se consideran para resección quirúrgica, ablación o trasplante.

Estas opciones pueden ofrecer supervivencia libre de enfermedad a largo plazo y, por tanto, se consideran potencialmente curativas. En pacientes asintomáticos con enfermedad multifocal sin invasión vascular o diseminación extrahepática se debe considerar la quimioembolización arterial como primera opción, y para aquellos con tumor más avanzado y/o sintomático debe considerarse el tratamiento con sorafenib<sup>4,7</sup>.



**Figura 2** Esquema BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) para estratificación pronóstica e indicación de tratamiento. CHC: carcinoma hepatocelular; LT: liver transplantation; PS: performance status; TS: tratamiento sintomático. Modificada de referencia 5.

### Tratamiento curativo

La resección quirúrgica y la ablación logran una elevada tasa de respuestas completas en un primer momento, pero se hallan agravadas con una tasa de recidiva que puede superar el 70% a los 5 años<sup>4,7</sup>. El riesgo de recidiva se correlaciona con la detección de invasión vascular, presencia de satélites, grado de indiferenciación celular y actividad inflamatoria del hígado subyacente<sup>61-64</sup>. Se han propuesto múltiples perfiles moleculares basados en tinciones inmunohistoquímicas, expresión de mRNA, miARN o perfil génico. La propuesta más desarrollada, usando múltiples cohortes de pacientes tratados mediante resección quirúrgica, incluye tanto análisis del tejido tumoral como del tejido hepático peritumoral<sup>22,48</sup>. Los genes relevantes para predecir la recidiva a corto plazo se reducen a 5<sup>48</sup>, mientras que la recidiva a largo plazo se correlaciona con un perfil genético que incluye 186 genes<sup>22</sup>. No obstante, la firma genética no permite prescindir de la información clínica convencional y su incorporación a la decisión clínica con modificación del tratamiento propuesto requiere validación prospectiva. Si en un futuro se puede predecir quién va a recidivar a corto plazo sería posible evitar la resección quirúrgica y recomendar trasplante como primera opción. Del mismo modo, si se confirma el mayor riesgo de cáncer basado en el análisis del hígado cirrótico se podría considerar que estos pacientes deberían ser considerados para vigilancia intensiva y, potencialmente, trasplante por riesgo de cáncer metastásico una vez realizada la resección inicial, independientemente del riesgo de recidiva.

Dado que la presencia de invasión vascular es el factor más potente para predecir recidiva postratamiento<sup>61-65</sup> se ha buscado un perfil que pudiera correlacionarse con este parámetro, más allá del simple tamaño tumoral<sup>66</sup>. Debe re-

cordarse que la selección de pacientes para trasplante se basa en tamaño y número de tumores y que la expansión de criterios se ve limitada por el riesgo de que exista invasión vascular no detectada por imagen. Si se validara un perfil molecular predictivo de invasión vascular, los criterios se podrían expandir siempre que el perfil molecular no fuera el de riesgo. Las propuestas preliminares en este sentido se hallan pendientes de validación.

En el campo del trasplante sería crucial no solo poder predecir si un paciente presenta invasión vascular con riesgo de recidiva, sino también poder predecir qué paciente va a progresar más rápidamente durante el período de espera de un donante y, de este modo, poder establecer una política de prioridad basada en el comportamiento biológico. No obstante, los pacientes con tumores que progresan rápidamente deben tener un mayor riesgo de diseminación y recidiva postrasplante; por tanto, quizás no deberían ser seleccionados. Del mismo modo, los tumores de baja proliferación y riesgo podrían beneficiarse de ablación u otras opciones y evitar el trasplante. Así, la información molecular debería poder seleccionar a los pacientes en riesgo intermedio y estos serían los que merecerían prioridad por riesgo tumoral. La priorización por deterioro de función hepática se halla actualmente resuelta por el sistema MELD<sup>67</sup>.

### Tratamiento paliativo

Cuando los pacientes se hallan en estado intermedio, el tratamiento de primera línea es la quimioembolización<sup>4,5,7</sup>. Esta opción se basa en la combinación de quimioterapia intraarterial selectiva con obstrucción arterial. La identificación de los tumores en los que la quimioterapia es efectiva

y la predicción de la respuesta al tratamiento permitirían refinar la selección de candidatos. Es conocido que la necrosis tumoral asociada a isquemia desencadena liberación de citocinas, factores proangiogénicos y factores de crecimiento<sup>68</sup>. Lógicamente, predecir si la activación de estas moléculas va a ser beneficiosa o lesiva redundaría también en una mejor selección de candidatos.

Finalmente, cuando los pacientes se hallan en fase avanzada son únicamente tributarios de tratamiento sistémico. En este momento evolutivo es cuando una mejor clasificación de los pacientes, según hallazgos moleculares, podría llevar a un tratamiento más dirigido. La quimioterapia nunca ha demostrado eficacia, pero es posible que solo pueda beneficiar a los pacientes en los que no se exprese el mecanismo de extrusión de fármacos conocido, como MDR (*multidrug resistance gene*), o en aquellos en los que el sistema se pueda saturar o modular<sup>69</sup>. No obstante, en la actualidad, el esfuerzo en investigación de nuevos tratamientos se dirige a las terapias moleculares que pretenden afectar mecanismos moleculares específicos del cáncer. Hasta el momento, el único fármaco que ha demostrado eficacia es sorafenib<sup>70,71</sup>. Los estudios que demostraron su eficacia en aumentar la supervivencia de los pacientes con CHC incluyeron todo el espectro de pacientes tributarios de tratamiento sin ningún tipo de selección basada en perfil molecular, dado que no se disponía de la base racional para ello. En el estudio en fase II se sugirió que el impacto del tratamiento podría predecirse mediante análisis de fosforilación de ERK<sup>72</sup>, pero este dato no se validó en el ensayo en fase III. De este modo, no se ha podido establecer ningún marcador tisular que pudiera predecir la respuesta al tratamiento. Igualmente negativo ha sido el análisis de biomarcadores (factor de crecimiento del endotelio vascular [VEGF, soluble {s}-VEGFR-2 y -3], factor soluble de c-KIT y factor soluble de *ras*, angiopoietina 2, factor de crecimiento fibroblástico, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento similar a insulina-2 y factor de crecimiento hepatocitario [*hepatocyte growth factor*, HGF]) en sangre periférica<sup>45</sup>. De hecho, es conocido que sorafenib es un inhibidor multicitinasa que afecta múltiples dianas con intensidad heterogénea y se ignora cuál es el mecanismo por el que sorafenib es eficaz.

Agentes antiangiogénicos como el bevacizumab, un anticuerpo monoclonal con una diana bien definida (VEGF), presentan evidente actividad antitumoral, pero adolecen de falta de seguridad<sup>73</sup>.

Por tanto, no parece que usar angiogénesis como única diana molecular y seleccionar los pacientes según la mayor o menor capacidad angiogénica vaya a aportar resultados positivos.

Tras el éxito de sorafenib se han desarrollado ensayos clínicos en primera línea frente a sorafenib o en segunda línea tras progresión o intolerancia bajo tratamiento con sorafenib. Los agentes evaluados exhibían un perfil de inhibición de cinasas diferenciado del sorafenib. A pesar de basar su hipotética ventaja en una mayor eficacia sobre determinados mecanismos en fases preclínicas, ninguno de los estudios en fase III se ha diseñado usando una selección basada en algún tipo de diana molecular específica para el fármaco a investigar. Es posible que esta falta de selección de pacientes de acuerdo con la diana molecular perseguida

explique que los ensayos clínicos de linifanib<sup>74</sup>, sunitinib<sup>75</sup>, brivanib<sup>76</sup> o la combinación de sorafenib con erlotinib<sup>77</sup> hayan dado resultados negativos y no hayan superado el beneficio y la seguridad de sorafenib. Interesantemente, brivanib<sup>78</sup> y everolimus<sup>79</sup> evaluados frente a placebo en segunda línea tampoco han alcanzado resultados positivos. Esclarecer la razón por la que los ensayos han sido negativos es altamente relevante. Es verosímil que la selección de pacientes se deba refinar en función de la diana terapéutica que se quiere atacar. El problema radicará en cómo asegurar que dicha diana existe al mismo tiempo que es relevante en un paciente concreto. El CHC es heterogéneo y difícilmente el tejido obtenido por biopsia va a ser informativo de la totalidad del tumor o de la proporción de tumor que va a verse afectada por la intervención terapéutica. Puede augurarse que el futuro se halla en la combinación de agentes para actuar sobre diferentes mecanismos. Esta aproximación es atractiva, pero puede fracasar igualmente dado que el posible beneficio se puede ver compensado por un incremento de la toxicidad. Esta ha sido la experiencia al combinar sorafenib con erlotinib<sup>77</sup> o con everolimus<sup>80</sup>. La combinación de sorafenib con quimioterapia tampoco ofrece un perfil de seguridad prometedor<sup>81</sup>.

A pesar de estas limitaciones teóricas, ya existen ensayos clínicos con selección de pacientes basada en perfil molecular. Tivantinib es un agente inhibidor de c-met que actúa sobre la vía de HGF<sup>82</sup>. En un ensayo aleatorizado en fase II frente a placebo se demostró que los pacientes con tinción positiva para c-met (receptor de HGF) presentaban unos tiempos de progresión y supervivencia más favorables<sup>83</sup>. Basándose en estos datos se está desarrollando un ensayo en fase III (NCT01755767) en el que los pacientes se seleccionan de acuerdo a esta característica. Del mismo modo se ha realizado un ensayo en fase II (NCT01507168) en el que los pacientes se seleccionan de acuerdo a la expresión de glypican, con el objeto de desencadenar una respuesta inmune frente a las células que expresan esta molécula mediante la administración de un anticuerpo frente a glypican<sup>84,85</sup>. Dado que la expresión de glypican es una característica específica del CHC<sup>85</sup>, se trataría de una opción altamente selectiva.

El diseño de ensayos según el perfil en sangre periférica aún es muy preliminar. La detección de células circulantes y su caracterización aún no es una técnica establecida, al igual que ocurre con la búsqueda de material genético circulante. No obstante, recientemente se ha abierto un estudio con un inhibidor de MEK (refametinib) en el que los pacientes se pretenden seleccionar de acuerdo con la detección de mutación de *ras* (<http://clinicaltrials.gov>, identificador: NCT01915589). Esta anomalía afecta a menos del 3% de pacientes con HCC y, por tanto, se trata de una propuesta con una selección incluso más restrictiva que la que se ha desarrollado en cáncer de pulmón para seleccionar pacientes con mutación de *ALK*, los cuales se benefician de crizotinib<sup>86,87</sup>.

Posiblemente, en los próximos ensayos clínicos se deba incorporar de manera rutinaria la obtención de tejido tumoral para una posible caracterización molecular en la selección de pacientes. Con ello se podría intentar establecer relación entre el beneficio clínico y un posible patrón celular no definido inequívocamente en el momento de iniciar el ensayo. En otras neoplasias, como el cáncer colorrectal,

esta recogida de muestras ha permitido identificar la relevancia de la mutación de *k-ras* para predecir el beneficio a obtener mediante cetuximab<sup>88</sup>.

No obstante, al mismo tiempo que se intenta la caracterización molecular, también deberá refinarse el diseño de los ensayos. Recientemente hemos puesto de manifiesto que los episodios evolutivos previos a recibir un tratamiento (toxicidad secundaria a tratamiento de primera línea, patrón de progresión) determinan la supervivencia de los pacientes<sup>89,90</sup>, y ello obliga a considerar este tipo de información para la estratificación previa a la entrada en un ensayo.

En resumen, la esperanza de que un mejor conocimiento de la biología molecular del cáncer y su genética se tradujera en un gran avance en el diagnóstico y tratamiento del cáncer no se ha confirmado en los pacientes con CHC. Esto no debe verse como un fracaso, sino como la necesidad de no generar expectativas demasiado optimistas en cualquier área del conocimiento y aceptar que los avances científicos no son nunca súbitos. Al contrario, son el resultado de numerosas investigaciones a lo largo del tiempo, y seguro que los esfuerzos actuales basados en la colaboración generosa y abierta entre la investigación clínica y de laboratorio acabarán fructificando.

## Conflicto de intereses

El autor declara haber colaborado con Abbott, Arqule, Bayer Shering Pharma, Biocompatibles (BTG), BMS, Chugai, Glaxo-Wellcome, Imclone, Kowa, Lilly, Novartis, OSI, Roche, Shering-Plough (Merck) y Terumo.

## Bibliografía

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127:2893-917.
2. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012;380:2095-128.
3. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006;44:217-31.
4. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*. 2011;53:1020-2.
5. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2012;56:908-43.
6. Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2012;379:1245-55.
7. Verslype C, Rosmorduc O, Rougier P. Hepatocellular carcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2012; Suppl 7:vii41-8.
8. Farazi PA, DePinho RA. The genetic and environmental basis of hepatocellular carcinoma. *Discov Med*. 2006;6:182-6.
9. Calle EE, Rodríguez C, Walker-Thurmond KJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*. 2003;348:1625-38.
10. Inoue M, Yoshimi I, Sobue T, Tsugane S; JPHC Study Group. Influence of coffee drinking on subsequent risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study in Japan. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97:293-300.
11. Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Bagnardi V, Gallus S, Negri E, et al. Coffee drinking and hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis. *Hepatology*. 2007;46:430-5.
12. Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Gallus S, La Vecchia C. Coffee Reduces Risk for Hepatocellular Carcinoma: An Updated Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11:1413-21.
13. Saito T, Chiba T, Yuki K, Zen Y, Oshima M, Koide S, et al. Metformin, a diabetes drug, eliminates tumor-initiating hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One*. 2013;8:e70010.
14. Zheng L, Yang W, Wu F, Wang C, Yu L, Tang L, et al. Prognostic significance of AMPK activation and therapeutic effects of metformin in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2013;19:5372-80.
15. Chen HP, Shieh JJ, Chang CC, Chen TT, Lin JT, Wu MS, et al. Metformin decreases hepatocellular carcinoma risk in a dose-dependent manner: population-based and in vitro studies. *Gut*. 2013;62:606-15.
16. Nkontchou G, Aout M, Mahmoudi A, Roulot D, Bourcier V, Grand-Lemaire V, et al. Effect of long-term propranolol treatment on hepatocellular carcinoma incidence in patients with HCV-associated cirrhosis. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2012;5:1007-14.
17. Nahon P, Sutton A, Rufat P, Charnaux N, Mansouri A, Moreau R, et al. A variant in myeloperoxidase promoter hastens the emergence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV-related cirrhosis. *J Hepatol*. 2012;56:426-32.
18. Guyot E, Sutton A, Rufat P, Laguillier C, Mansouri A, Moreau R, et al. PNPLA3 rs738409, hepatocellular carcinoma occurrence and risk model prediction in patients with cirrhosis. *J Hepatol*. 2013;58:312-8.
19. Haybaeck J, Zeller N, Wolf MJ, Weber A, Wagner U, Kurrer MO, et al. A lymphotoxin-driven pathway to hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell*. 2009;16:295-308.
20. Dapito DH, Mencin A, Gwak GY, Pradere JP, Jang MK, Mederacke I, et al. Promotion of hepatocellular carcinoma by the intestinal microbiota and TLR4. *Cancer Cell*. 2012;21:504-16.
21. Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, et al. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science*. 2007;317:121-4.
22. Hoshida Y, Villanueva A, Kobayashi M, Peix J, Chiang DY, Camargo A, et al. Gene expression in fixed tissues and outcome in hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2008;359:1995-2004.
23. Hoshida Y, Villanueva A, Sangiovanni A, Sole M, Hur C, Andersson KL, et al. Prognostic gene expression signature for patients with hepatitis C-related early-stage cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013;144:1024-30.
24. Ripoll C, Groszmann RJ, García-Tsao G, Bosch J, Grace N, Burroughs A, et al. Hepatic venous pressure gradient predicts development of hepatocellular carcinoma independently of severity of cirrhosis. *J Hepatol*. 2009;50:923-8.
25. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sato T, Ohki T, Imamura J, et al. Prospective risk assessment for hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis C by transient elastography. *Hepatology*. 2009;49:1954-61.
26. Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Yoshida H, Sato S, Kato N, et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients by transient elastography. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42:839-43.
27. Jung KS, Kim SU, Ahn SH, Park YN, Kim do Y, Park JY, et al. Risk assessment of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma development using liver stiffness measurement (FibroScan). *Hepatology*. 2011;53:885-94.
28. Giannini EG, Marengo S, Borronovo G, Savarino V, Farinati F, Del Poggio P, et al; Italian Liver Cancer (ITA.LI.CA) group. Alpha-fetoprotein has no prognostic role in small hepatocellular carcinoma identified during surveillance in compensated cirrhosis. *Hepatology*. 2012;56:1371-9.

29. Sherman M. Alphafetoprotein: an obituary. *J Hepatol.* 2001;34:603-5.
30. International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology.* 2009;49:658-64.
31. Forner A, Vilana R, Ayuso C, Bianchi L, Solé M, Ayuso JR, et al. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: Prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2008;47:97-104.
32. Sangiovanni A, Manini MA, Iavarone M, Romeo R, Forzenigo LV, Fraquelli M, et al. The diagnostic and economic impact of contrast imaging techniques in the diagnosis of small hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *Gut.* 2010;59:638-44.
33. Khalili K, Kim TK, Jang HJ, Yazdi LK, Guindi M, Sherman M. Indeterminate 1-2-cm nodules found on hepatocellular carcinoma surveillance: biopsy for all, some, or none? *Hepatology.* 2011;54:2048-54.
34. Sersté T, Barrau V, Ozenne V, Vullierme MP, Bedossa P, Farges O, et al. Accuracy and disagreement of computed tomography and magnetic resonance imaging for the diagnosis of small hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules: role of biopsy. *Hepatology.* 2012;55:800-6.
35. Forner A, Vilana R, Ayuso C, Bianchi L, Solé M, Ayuso JR, et al. Diagnosis of hepatic nodules 20 mm or smaller in cirrhosis: Prospective validation of the noninvasive diagnostic criteria for hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2008;47:97-104.
36. Di Tommaso L, Destro A, Fabbri V, Spagnuolo G, Laura Fracanzani A, et al. Diagnostic accuracy of clathrin heavy chain staining in a marker panel for the diagnosis of small hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2011;53:1549-57.
37. Tremosini S, Forner A, Boix L, Vilana R, Bianchi L, Reig M, et al. Prospective validation of an immunohistochemical panel (glypican 3, heat shock protein 70 and glutamine synthetase) in liver biopsies for diagnosis of very early hepatocellular carcinoma. *Gut.* 2012;61:1481-7.
38. Llovet JM, Chen Y, Wurmbach E, Roayaie S, Fiel MI, Schwartz M, et al. A molecular signature to discriminate dysplastic nodules from early hepatocellular carcinoma in HCV cirrhosis. *Gastroenterology.* 2006;131:1758-67.
39. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10:472-84.
40. Basik M, Aguilar-Mahecha A, Rousseau C, Díaz Z, Tejpar S, Spatz A, et al. Biopsies: next-generation biospecimens for tailoring therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2013;10:437-50.
41. Llovet JM, Schwartz M, Mazzaferro V. Resection and liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis.* 2005;25:181-200.
42. Toso C, Mentha G, Majno P. Selection of patients with hepatocellular carcinoma before liver transplantation: need to combine alpha-fetoprotein with morphology? *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2010;9:460-1.
43. Duvoux C, Roudot-Thoraval F, Decaens T, Pessione F, Badran H, Piardi T, et al; Liver Transplantation French Study Group. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a model including alpha-fetoprotein improves the performance of Milan criteria. *Gastroenterology.* 2012;143:986-94 e3; quiz e14-5.
44. Merani S, Majno P, Kneteman NM, Berney T, Morel P, Mentha G, et al. The impact of waiting list alpha-fetoprotein changes on the outcome of liver transplant for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2011;55:814-9.
45. Llovet JM, Pena CE, Lathia CD, Shan M, Meinhardt G, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Plasma biomarkers as predictors of outcome in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2012;18:2290-300.
46. Lee JS, Chu IS, Heo J, Calvisi DF, Sun Z, Roskams T, et al. Classification and prediction of survival in hepatocellular carcinoma by gene expression profiling. *Hepatology.* 2004;40:667-76.
47. Roessler S, Long EL, Budhu A, Chen Y, Zhao X, Ji J, et al. Integrative genomic identification of genes on 8p associated with hepatocellular carcinoma progression and patient survival. *Gastroenterology.* 2011;142:957-66 e12.
48. Nault JC, De Reynies A, Villanueva A, Calderaro J, Rebouissou S, Couchy G, et al. A hepatocellular carcinoma 5-gene score associated with survival of patients after liver resection. *Gastroenterology.* 2013;145:176-87.
49. Lee JS, Heo J, Libbrecht L, Chu IS, Kaposi-Novak P, Calvisi DF, et al. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med.* 2006;12:410-6.
50. Laurent-Puig P, Legoix P, Bluteau O, Belghiti J, Franco D, Binot F, et al. Genetic alterations associated with hepatocellular carcinomas define distinct pathways of hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology.* 2001;120:1763-73.
51. Boyault S, Rickman DS, De Reynies A, Balabaud C, Rebouissou S, Jeannot E, et al. Transcriptome classification of HCC is related to gene alterations and to new therapeutic targets. *Hepatology.* 2007;45:42-52.
52. Govaere O, Komuta M, Berkers J, Spee B, Janssen C, De Luca F, et al. Keratin 19: a key role player in the invasion of human hepatocellular carcinomas. *Gut.* 2014;63:674-85.
53. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med.* 2012;366:883-92.
54. Bruix J, Gores G, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut.* 2014 Feb 14. doi: 10.1136/gutjnl-2013-306627 [Epub ahead of print].
55. Villanueva A, Llovet JM. Impact of intra-individual molecular heterogeneity in personalized treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* 2012;56:2416-9.
56. Yu M, Bardia A, Wittner BS, Stott SL, Smas ME, Ting DT, et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science.* 2013;339:580-4.
57. Woo HG, Wang XW, Budhu A, Kim YH, Kwon SM, Tang ZY, et al. Association of TP53 mutations with stem cell-like gene expression and survival of patients with hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2010;140:1063-70.
58. Becker D, Sfakianakis I, Krupp M, Staib F, Gerhold-Ay A, Victor A, et al. Genetic signatures shared in embryonic liver development and liver cancer define prognostically relevant subgroups in HCC. *Mol Cancer.* 2012;11:55.
59. Rian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell.* 2010;141:39-51.
60. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell.* 2012;21:309-22.
61. Ikeda K, Saitoh S, Tsubota A, Arase Y, Chayama K, Kumada H, et al. Risk factors for tumor recurrence and prognosis after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 1993;71:19-25.
62. Nagasue N, Uchida M, Makino Y, Takemoto Y, Yamanoi A, Hayashi T, et al. Incidence and factors associated with intrahepatic recurrence following resection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 1993;105:488-94.
63. Izumi R, Shimizu K, Ii T, Yagi M, Matsui O, Nonomura A, et al. Prognostic factors of hepatocellular carcinoma in patients undergoing hepatic resection. *Gastroenterology.* 1994;106:720-7.
64. Okada S, Shimada K, Yamamoto J, Takayama T, Kosuge T, Yamasaki S, et al. Predictive factors for postoperative recurrence of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 1994;106:1618-24.



65. Mazzaferro V, Llovet JM, Miceli R, Bhoori S, Schiavo M, Mariani L, et al. Predicting survival after liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma beyond the Milan criteria: a retrospective, exploratory analysis. *Lancet Oncol.* 2009; 10:35-43.
66. Mínguez B, Hoshida Y, Villanueva A, Toffanin S, Cabellos L, Thung S, et al. Gene-expression signature of vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2011;55:1325-31.
67. Malinchoc M, Kamath PS, Gordon FD, Peine CJ, Rank J, ter Borg PC. A model to predict poor survival in patients undergoing transjugular intrahepatic portosystemic shunts. *Hepatology.* 2000;31:864-71.
68. Poon RT, Lau C, Yu WC, Fan ST, Wong J. High serum levels of vascular endothelial growth factor predict poor response to transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Oncol Rep.* 2004;11:1077-84.
69. Asghar U, Meyer T. Are there opportunities for chemotherapy in the treatment of hepatocellular cancer? *J Hepatol.* 2011;56: 686-95.
70. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med.* 2008;359:378-90.
71. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol.* 2009;10:25-34.
72. Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figer A, et al. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 2006;24:4293-300.
73. Siegel AB, Cohen EI, Ocean A, Lehrer D, Goldenberg A, Knox JJ, et al. Phase II trial evaluating the clinical and biologic effects of bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 2008;26:2992-8.
74. Calin C, Shukui Q, Wen-Tsung H, et al. Phase III trial of lenvatinib versus sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol* 2013;30 Suppl 34: abstr 249.
75. Cheng AL, Kang YK, Lin DY, Park JW, Kudo M, Qin S, et al. Sunitinib versus sorafenib in advanced hepatocellular cancer: results of a randomized phase III trial. *J Clin Oncol.* 2013;31:4067-75.
76. Johnson PJ, Qin S, Park JW, Poon RT, Raoul JL, Philip PA, et al. Brivanib versus sorafenib as first-line therapy in patients with unresectable, advanced hepatocellular carcinoma: results from the randomized phase III BRISK-FL Study. *J Clin Oncol.* 2013;31:3517-24.
77. Zhu A, Rosmorduc O, Evans J, et al. e. SEARCH: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of sorafenib plus erlotinib in patients with hepatocellular carcinoma (HCC). *Ann Oncol* 2012;23 Suppl 9: abstract LBA2.
78. Llovet JM, Decaens T, Raoul JL, Boucher E, Kudo M, Chang C, et al. Brivanib in patients with advanced hepatocellular carcinoma who were intolerant to sorafenib or for whom sorafenib failed: results from the randomized phase III BRISK-PS Study. *J Clin Oncol.* 2013;31:3509-16.
79. Zhu AX, Kudo M, Assenat E, et al. EVOLVE-1: Phase 3 study of everolimus for advanced HCC that progressed during or after sorafenib. *J Clin Oncol* 2014;32 Suppl 3:172.
80. Finn RS, Poon RT, Yau T, Klumpen HJ, Chen LT, Kang YK, et al. Phase I study investigating everolimus combined with sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* 2013;59:1271-7.
81. Abou-Alfa GK, Johnson P, Knox JJ, Capanu M, Davidenko I, Lacava J, et al. Doxorubicin plus sorafenib vs doxorubicin alone in patients with advanced hepatocellular carcinoma: a randomized trial. *JAMA.* 2010;304:2154-60.
82. Santoro A, Simonelli M, Rodríguez-Lope C, Zucali P, Camacho LH, Granito A, et al. A Phase-1b study of tivantinib (ARQ 197) in adult patients with hepatocellular carcinoma and cirrhosis. *Br J Cancer.* 2013;108:21-4.
83. Santoro A, Rimassa L, Borbath I, Daniele B, Salvagni S, Van Laethem JL, et al. Tivantinib for second-line treatment of advanced hepatocellular carcinoma: a randomised, placebo-controlled phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2012;14:55-63.
84. Zhu AX, Gold P, El Koueiry A. A phase I study of GC33, a recombinant humanized antibody against glypican-3, in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol.* 2011;29 Suppl: abstr 4085.
85. Takai H, Kato A, Kato C, Watanabe T, Matsubara K, Suzuki M, et al. The expression profile of glypican-3 and its relation to macrophage population in human hepatocellular carcinoma. *Liver Int.* 2009;29:1056-64.
86. Solomon B, Wilner KD, Shaw AT. Current status of targeted therapy for anaplastic lymphoma kinase (ALK) rearranged non-small cell lung cancer. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;95:15-23.
87. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn MJ, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2013;368:2385-94.
88. Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med.* 2009;360:1408-17.
89. Reig M, Rimola J, Torres F, Darnell A, Rodríguez-Lope C, Forner A, et al. Post-progression survival of patients with advanced hepatocellular carcinoma. Rationale for second line trial design. *Hepatology.* 2013;58:2023-31.
90. Reig M, Torres F, Rodríguez-Lope C, Forner A, Llarch N, Rimola J, et al. Early dermatologic adverse events predict better outcome in HCC patients treated with sorafenib. *J Hepatol.* 2014 Apr 2. doi: 10.1016/j.jhep.2014.03.030 [Epub ahead of print].