

EUROPEAN JOURNAL OF ONCOLOGY

GIORNALE EUROPEO DI ONCOLOGIA

Organo Ufficiale
della Società
Italiana Tumori
SIT

Prevenzione, Diagnosi, Terapia

Official Organ of
the Italian Society
of Tumours
SIT

Prevention, Diagnosis, Therapy

Direttori Scientifici / Scientific Editors

LEONARDO CALDAROLA
Torino, Italia/Turin, Italy

CESARE MALTONI†
Bologna, Italia/Italy

Comitato Scientifico / Scientific Committee

JOHN CHRISTIAN BAILAR III
Chicago, IL, USA

TULLIO BATTELLI
Ancona, Italia/Italy

VANNI BELTRAMI
Roma, Italia/Italy

EMILIO BOMBARDIERI
Milano, Italia/Italy

SALVATORE CARIELLO
Salerno, Italia/Italy

GIUSEPPE COLUCCI
Bari, Italia/Italy

MASSIMO CRESPI
Roma, Italia/Rome, Italy

ANDERS ENGLUND
Solna, Svezia/Sweden

GIOVAN GIACOMO GIORDANO
Napoli, Italia/Naples, Italy

MICHAEL J. HILL
Slough, Gran Bretagna/UK

JAMES E. HUFF
Research Triangle Park, NC, USA

LINDA C. KOO
New York, NY, USA

OLE KRONBORG
Odense, Danimarca/Denmark

JOSEPH LADOU
San Francisco, CA, USA

PHILIP J. LANDRIGAN
New York, NY, USA

MASSIMO LOPEZ
Roma, Italia/Rome, Italy

FRANCESCO MORINO
Torino, Italia/Turin, Italy

ANTONIO MUSSA
Torino, Italia/Turin, Italy

MARIO NANO
Torino, Italia/Turin, Italy

COSTANZO NATALE
Foggia, Italia/Italy

ANNA PALAZZINI
Bologna, Italia/Italy

HÉLÈNE SANCHO-GARNIER
Montpellier, Francia/France

FIorenzo STIRPE
Bologna, Italia/Italy

ADRIAN TOOKMAN
Londra, Gran Bretagna/London, UK

EDOARDO TRIGGIANI
Palermo, Italia/Italy

GUIDO TUVERI
Trieste, Italia/Italy

Redazione / Editorial Staff

DONATA CARRETTI (Redattore Capo/Head Editor)

IORELLA BELPOGGI

MAURIZIO DI BISCEGLIE

FRANCO MINARDI

ANNA PALAZZINI

LAURA PIERI

MORANDO SOFFRITTI

DANILA VALENTI

Redattore Tecnico / Technical Editor

JILL V. BRAZIER

Direttore Responsabile / Journal Director

FEDERICO CIONI



Fondazione Europea di Oncologia
e Scienze Ambientali "B. Ramazzini"
*European Foundation of Oncology
and Environmental Sciences "B. Ramazzini"*



MATTIOLI 1885 - SPA
CASA EDITRICE

Autorizzazione del Tribunale di Parma n. 14/97 del 11/6/1997 - ISSN 1128-6598

*The European Journal of Oncology is indexed by Excerpta Medica (EMBASE) and the Elsevier BioBASE
Il Giornale Europeo di Oncologia è recensito su Excerpta Medica (EMBASE) e su Elsevier BioBASE*

INDICE/CONTENTS

VOLUME 8 - N. 4 - 2003

EDITORIALE / EDITORIAL

The origin and rôle of an international organization: the International Agency for Research on Cancer (IARC) / Origine e ruolo di un'organizzazione internazionale: l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC)

L. Tomatis

249

RIVISTE CRITICHE / CRITICAL REVIEWS

SEDI ANATOMICHE / ANATOMIC SITES

Pleura, peritoneo / *Pleura, peritoneum* (C38.4 - C48.2)

Geografia del mesotelioma / Geography of mesothelioma

L. Giarelli, C. Bianchi e T. Bianchi

253

ARGOMENTI GENERALI / GENERAL TOPICS

Accesso venoso centrale a lungo termine in oncologia: parte integrante del piano di cura o procedura di necessità? / Long-term central venous access in oncology: who, why, when?

L. Aldrighetti e G. Ferla

259

ARTICOLI SU STUDI E RICERCHE ORIGINALI / ARTICLES ON ORIGINAL STUDIES AND RESEARCH

SEDI ANATOMICHE / ANATOMIC SITES

Colon-retto / *Colon-rectum* (C18.9 - C20.9)

Correlazione tra biologia molecolare, anatomia patologica e clinica nei tumori del colon-retto /

The link between molecular biology, pathological anatomy and clinical medicine in colorectal cancer

C. Natale e F. Natale

263

Pancreas / *Pancreas* (C25.9)

Le basi anatomiche della chirurgia pancreatico nerve sparing / Nerve sparing pancreatic surgery: anatomical bases

M. Solej, M. Ferronato e M. Nano

269

ARGOMENTI GENERALI / GENERAL TOPICS

Dose-response relationships of granular bio-durable dusts in rat lungs: does a cancer threshold exist? /

Correlazioni dose-risposta delle polveri granulari bio-persistenti nei polmoni di ratto: esiste una dose soglia per i tumori?

M. Roller

277

Polydimethylsiloxane as an aspecific immune adjuvant and cytokine slow-release medium in local cancer treatment. Pilot trial report / Il polidimetilsiloxano, un immunoadiuvante aspecifico e veicolo di citochine a lento rilascio nel trattamento locale dei tumori. Resoconto di uno studio pilota
B. Palmieri and G. Benuzzi

295

CASI CLINICI / *CLINICAL CASES*

Stomaco / *Stomach* (C16.9)

**Alterazioni morfopatologiche nell'angiodisplasia gastrica: presentazione di un caso clinico /
*Morphopathological alterations in gastric angiodysplasia: a case report***

M. Accardo, M. De Falco, D. Parmeggiani ed A. Barbarisi

301

Sistema emopoietico / *Haemopoietic system* (C42.4)

**Non Hodgkin's lymphoma of the adrenal gland in a patient with HCV-related cirrhosis /
*Linfoma non Hodgkin surrenalico in paziente con cirrosi HCV correlata***

N. La Verde, D. Pedretti, A. Bertolini, G. Casella, D. Perego, V. Baldini, G. Gherardi and A. Scanni

307

The origin and rôle of an international organization: the International Agency for Research on Cancer (IARC)

Origine e ruolo di un'organizzazione internazionale: l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC)

Lorenzo Tomatis

International Society of Doctors for the Environment, Aurisina (TS), Italy

Summary

The International Agency for Research on Cancer (IARC) was established in 1965 following an initiative launched by the President of France, General Charles de Gaulle. The IARC's rôle is to collect and disseminate information on the occurrence of cancer and on cancer research worldwide, to identify the causes of cancer, and to promote international collaboration in the implementation of cancer prevention. The IARC is enjoying an excellent solid reputation within the international scientific community, and has contributed substantially to the adoption of preventive measures to protect human health with its Programme on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International organizations, in spite of the official and formal recognition of their usefulness, have generally lacked the real power to make their views to prevail over those of the countries that established them. However, it is in the interest of scientists, the general public, public health authorities and governments that an international organization like IARC be allowed to deliberate authoritatively, but also autonomously and independently from any external pressure. Eur. J. Oncol., 8 (4), 249-252, 2003

Key words: international organizations, research and prevention, cancer

The International Agency for Research on Cancer (IARC), a specialized agency of the World Health Organization (WHO), was established by the World Health Assembly in Geneva in 1965. Its origin, however, goes back to November 1963, when a group of 12 French intellectuals invited General Charles de

Riassunto

L'International Agency for Research on Cancer (IARC) è stata fondata nel 1965 a seguito di un'iniziativa del Presidente della Francia, Generale Charles De Gaulle. Il ruolo della IARC è di raccogliere e disseminare informazioni sulla frequenza del cancro e sulla ricerca a livello mondiale, di identificare le cause del cancro, e di promuovere la collaborazione internazionale nella messa in atto della prevenzione dei tumori. La IARC si è conquistata un'eccellente e solida reputazione in seno alla comunità scientifica internazionale, e con il suo programma di valutazione dei rischi cancerogeni per l'uomo ha contribuito in modo rilevante all'adozione di misure di protezione della sanità pubblica. Le organizzazioni internazionali, malgrado il riconoscimento ufficiale della loro utilità, non hanno avuto generalmente il potere reale di far prevalere le proprie opinioni su quelle dei paesi che le hanno create. È pertanto nell'interesse del pubblico, dei ricercatori, delle autorità sanitarie e dei governi, che a un'organizzazione internazionale come la IARC sia garantita la possibilità di deliberare autoritativamente, ma anche autonomamente e indipendentemente da ogni possibile pressione esterna. Eur. J. Oncol., 8 (4), 249-252, 2003

Parole chiave: organizzazioni internazionali, ricerca e prevenzione, cancro

Gaulle to take up a universal life strategy initiative, to fight what was at that time the greatest threat to human kind: cancer. They noted that, while certain progress had been made in diagnosis and treatment and more could be anticipated, a real victory over cancer was foreseeable only by more knowledge about its causes and the mechanisms by which they act. A special effort therefore had to be made in that direction.

The group was composed of nationally and internationally renowned individuals, including Emanuel d'Astier de la Vigerie,

Pervenuto/Received 8.9.2003 - Accettato/Accepted 30.9.2003

Indirizzo/Address: Dr. Lorenzo Tomatis, Cave 25/r, 34011 Aurisina (Trieste), Italia - E-mail: ltomatis@hotmail.com

who was the instigator of the initiative, a journalist and a minister; Antoine Lacassagne, an oncologist; Francois Mauriac, the writer; Jean Rostand, a biologist; and Charles Le Corbusier, the architect¹. Their widely different backgrounds provided a clear indication, if one was needed, of the universal character of the issue. General de Gaulle, perhaps also influenced by recent visits to his personal doctor and to his driver, both dying of cancer, responded positively and swiftly. He asked that the ministers of foreign affairs of the United Kingdom, the United States and the USSR and the Director-General of WHO meet in Paris as soon as possible to discuss implementation of a common initiative. The meeting took place the following month, in December 1963, with a rapidity that is rarely seen in international affairs. Ministers from two additional countries, Germany and Italy, were asked to attend in the meantime and agreed to join the first four.

At the meeting, an agreement was reached that a new international organization be created under the auspices of WHO. Following a suggestion by the group of intellectuals, de Gaulle proposed that the organization be endowed with a budget that represented 0.5% of the military expenditures of the six countries involved in the initiative. In 1963, the defense budget of the USA was estimated to be US\$ 53 billions, 0.5% of which would have been US\$ 265 millions. If all six countries had given 0.5% of their defence budgets, the initial annual funding of the new international organization would have been about US\$ 400 millions. At that time, the total amount of money spent annually worldwide for cancer research was estimated to be in the order of US\$ 300 millions. Funding of the new organization at the level originally proposed would therefore have represented a considerable financial boost for cancer research.

The splendid humanitarian proposal of the group of French intellectuals, which General de Gaulle adopted wholeheartedly, met with a series of obstacles, including opposition from the only other existing international organization for cancer research, the International Union for Research on Cancer (better known by its French acronym, UICC), and from part of the international scientific establishment. The heads of some cancer centres, for instance, feared that a new international institution would attract both funds and competent oncologists from their own institutes. The generous initiative managed to survive, however, maintaining the strength of its basic ideals and its original public health orientation. The financial generosity of the Member States, however, was limited. The six initial members finally agreed on a yearly individual contribution of US\$ 150,000, so that the initial annual budget of IARC, instead of being US\$ 400 millions, was only US\$ 900,000. The budget increased over the years with a growing number of participating states, now 16, and a parallel differential increase in the annual contributions, to US\$ 35.8 millions in 2002, which is less than one-tenth of the level originally proposed in 1963.

The rôle of IARC described in a World Health Assembly resolution of 20 May 1965 was to plan, promote and develop research in all phases related to the causes, treatment and prevention of cancer. Under this wide umbrella, it was agreed that IARC should establish a programme of permanent activities that included: 1) collection and dissemination in developed as well as in developing countries of information on the epidemiology of cancer and on cancer research; 2) identification of the causes of cancer; and 3) promotion of international collaboration in the implementation of cancer prevention worldwide. The City of Lyon, which became

the host of IARC, generously offered the land and built a 14-storey building, harbouring laboratories, an animal house, offices, meeting rooms and a library.

A relevant characteristic of the IARC programmes has always been their multidisciplinary nature, made possible by the coexistence under the same roof of offices and laboratories, together with an efficient administration. The availability of laboratory facilities and their involvement in the planning and conduct of research projects made it possible for the Agency to attract competent scientists from different scientific backgrounds, including pathologists, biochemists, chemists, toxicologists, virologists, epidemiologists and biostatisticians, who could collaborate on equal grounds with scientists in any other laboratory around the world.

There is, however, a gap between the bright goals of international organizations, on which there is usually enthusiastic agreement, and what they actually can do. Countries that claim with demagogic enthusiasm to have public health-oriented goals and that recognize the importance of sources of information that are competent, reliable and fully independent, stop short at the implementation of programmes that may jeopardize short-sighted nationalistic interests and/or may have a negative impact on the profits of powerful corporations. In spite of their recognized usefulness international organizations lack the real power that would permit automatic adoption of their deliberations, recommendations and evaluations as the basis for legislative measures. Their views have rarely prevailed over those of the countries that established them. The most powerful States often neglect their advice, suggestions or evaluations, disregarding the basic principle on which international organizations such as the United Nations (WHO and IARC are part of the United Nations family) are based: the existence of a supranational authority that can deliberate autonomously and independently from the interests and pressures of individual States.

A pertinent example is the way in which the governments of industrialized countries ignored the severe occupational risk described in a technical report of the International Labour Office, the specialized international agency for occupational legislation and occupational health. Following a report by Rehn in 1895² and subsequent reports, the Office in 1921 officially declared that two aromatic amines, benzidine and 2-naphthylamine, were human carcinogens³. The report was not followed by any preventive measures. Only in the 1960s did some countries introduce legislative measures to regulate and ban the production and use of certain aromatic amines⁴.

An example of the combined result of the impotence of international organizations and the hypocrisy of governments is the fate of the proposal made in Alma Ata in 1978 by Dr Halfven Mahler, the Director-General of WHO at that time, considered by some as a visionary but who would be better described as a person passionately committed to public health. The proposal was condensed into the well-known slogan "Health for all by the year 2000". Most Member States adhered with enthusiasm to the proposal, but unfortunately the rich countries – those which could have provided the financial and organizational support for implementation of the proposed activities – remained entrenched behind a passive resistance that succeeded in neutralizing WHO's efforts. At the beginning of this third millennium, not only is there not health for all but the disparities in health and health care between the rich and the poor and the gap between wealthy industrialized and developing poor countries have increased further.

Nevertheless, the future plans presented by the recently appointed Director-General of WHO, Dr Jong-wook Lee⁵ offer some hope for substantial improvement in the coming years.

Although the causative agents of many infectious and contagious diseases are now known, allowing the adoption of similar preventive measures all over the world, agents that are known to induce cancer in humans are regulated differently or not regulated at all in some countries. Legislation to limit or ban the use and production of chemicals considered to be human carcinogens has usually been introduced after long delays, in spite of evidence of their carcinogenicity⁶. Certain countries do not even issue warnings about the hazards, as though the carcinogenicity of a chemical stopped at their borders.

An international organization such as IARC can contribute substantially to the adoption of unified preventive measures to protect human health, by assembling, evaluating and widely disseminating valid, relevant information about the carcinogenicity of environmental agents. A working group convened within the IARC programme on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans in 1977, for instance, evaluated asbestos in all its commercialized forms as carcinogenic to humans and considered that no level of exposure could be considered safe⁷. In spite of this evaluation, however, and in spite of all the evidence of its carcinogenicity that had existed for several decades⁸, asbestos has continued to be used in many countries. The incidence of mesothelioma is on the rise even in countries where the use of asbestos has been banned for a relatively long time⁹, since, if the banning of asbestos is not accompanied by other pertinent measures of prevention, exposure will continue, because of natural deterioration and during the demolition of structures in which asbestos-cement is the only or main constituent.

Another example is the assembling by IARC of adequate, complete information on the carcinogenicity of tobacco smoke¹⁰, recently updated to provide evidence that it has 12 target organs and also confirming the carcinogenicity of environmental tobacco smoke (passive smoking)¹¹. Nevertheless, the same countries that have instituted intense campaigns against smoking and against any advertisement for smoking within their borders make no move to prevent the powerful tobacco corporations from expanding their advertising and sales in developing countries.

The staff of IARC involved in the Monographs programme had to learn hard lessons about how to manage situations in which scientific interests and public health principles clash with strong economic interests. During this learning phase, mistakes were made; for instance, the evaluation in 1974 that there was no clear evidence for the carcinogenicity of benzene¹². This mistake was partially corrected when benzene was reconsidered in 1977¹³, but to only a limited extent since that evaluation ignored the fact that benzene can cause tumours in humans other than acute myelogenous leukaemia. The experimental work of Maltoni provided definitive evidence that benzene is also carcinogenic in experimental animals and is indeed a multipotent carcinogen¹⁴⁻¹⁷.

The evaluations of carcinogenicity made within the IARC Monographs programme are not intended for direct translation into legislation or regulatory measures, as they are eminently scientific, qualitative judgements about the evidence for carcinogenicity of environmental agents and complex exposures. They can, however, accelerate procedures for official recognition of risks and for setting standards for environmental exposures. They can

also play a rôle in the complex process of issuing regulatory measures, which are the responsibility of individual governments and of other international organizations.

Conversely, the evaluations deriving from the programme can be used to delay, postpone or avoid measures of primary prevention, due to excess caution or to rigid and perhaps myopic scientific reservations. Groups of experts have been misled into making what turned out to be questionable evaluations when certain results were withheld from them or when unproven mechanistic hypotheses were presented in such a way that they were given undue emphasis. Some of these evaluations gave the impression that the experts had yielded to external pressure. This happened with the evaluations of, among others, environmental agents such as 1,3-butadiene, atrazine, di(2-ethyl-hexyl)phthalate, rockwool and insulation glasswool¹⁸.

Several tactics have been used to undermine solid scientific results in the field of public health or to delay their official acceptance^{19, 20}. These tactics, which include industry-sponsored research, delaying or withholding research results and hiring scientists for the specific task of discrediting solid results, have succeeded in undermining large sectors of public health-oriented research as well as implementation of measures of primary prevention.

Concern about certain questionable evaluations of carcinogenicity in the IARC Monographs programme, mentioned above, does not detract, however, from the general usefulness of a programme that has attained a high degree of credibility worldwide through decades of hard work by dedicated staff and by many equally dedicated external experts. The IARC Monographs today represent the most authoritative source of information on the carcinogenicity of environmental agents, together with the Reports on Carcinogens^{21, 22} of the US National Toxicology Program, which were modeled on the IARC Monographs. Similarly, the concern does not detract from the important rôle that IARC has played in several other vital areas of cancer research. The Agency has established and developed a unique programme of descriptive epidemiology, which, among other achievements, has resulted in a publication series that is truly indispensable to epidemiologists around the world, namely *Cancer in Five Continents*, of which Volume VIII was published recently²³. Furthermore it has established and developed successful programmes in occupational, environmental, genetic and molecular epidemiology, nutrition and cancer, the pathology and genetics of tumours, biostatistics, and environmental, radiation, and viral carcinogenesis, to name but a few.

It is therefore in the interest of scientists, the general public, public health authorities and governments that international organizations such as IARC exist, maintain a high degree of autonomy and be protected from undue pressure and surreptitious interference to distort their evaluations.

References

1. Sohler R, Sutherland AGB. La genese du Centre International de Recherche sur le Cancer. Rapport Technique du CIRC n. 6, Lyon: IARC, 1990.
2. Rehn L. Bladder tumours in fuchsin workers. Arch Klin Chir 1895; 50: 588-600.
3. International Labour Office. Cancer of the bladder among workers in aniline factories. Studies and Reports, Series F, n. 1, Geneva.

4. Montesano R, Tomatis L. Legislation concerning chemical carcinogens in several industrialized countries. *Cancer Res* 1977; 37: 310-6.
5. Frankish H. New WHO chief promises greater commitment to HIV/AIDS. *Lancet* 2003; 362: 297-8.
6. Carnevale F, Montesano R, Partensky C, *et al.* Comparison of regulations on occupational carcinogens in several industrialized countries. *Am J Ind Med* 1987; 12: 453-73.
7. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 14. Asbestos. Lyon: IARC, 1977.
8. Castleman B. Asbestos and cancer: history and public policy. *Br J Ind Med* 1991; 48: 427-32.
9. White C. Annual deaths from mesothelioma in Britain to reach 2000 in 2010. *Br Med J* 2003; 326: 141.
10. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 38. Tobacco smoking. Lyon: IARC, 1985.
11. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 83. Tobacco smoke and involuntary smoking. Lyon: IARC, in press.
12. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Vol. 7. Some anti-thyroid and related substances, nitrofurans and industrial chemicals. Lyon: IARC, 1974.
13. IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 29. Some industrial chemicals and dyestuffs. Lyon: IARC, 1977.
14. Maltoni C, Scarnato C. First experimental demonstration of the carcinogenic effect of benzene: long-term bioassay on Sprague-Dawley rats by oral administration. *Med Lav* 1979; 70: 352-7.
15. Maltoni C, Conti B, Scarnato C. Benzene: a multi-potential carcinogen—results of long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Am J Ind Med* 1983; 4: 441-5.
16. Maltoni C, Conti B, Cotti G, *et al.* Experimental studies on benzene carcinogenicity at the Bologna Institute of Oncology: current results and ongoing research. *Am J Ind Med* 1985; 7: 415-46.
17. Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G, *et al.* Benzene, an experimental multipotential carcinogen: results of the long-term bioassays performed at the Bologna Institute of Oncology. *Environ Health Perspect* 1989; 82: 109-24.
18. Tomatis L. The IARC Monographs program: changing attitudes towards public health. *Int J Occup Environ Health* 2002; 8: 143-52.
19. Rosenstock L, Lee LJ. Attacks on science: the risks to evidence-based policy. *Am J Public Health* 2002; 92: 14-8.
20. Greenberg DS. Conference deplors corporate influence on academic science. *Lancet* 2003; 362: 302-3.
21. National Toxicology Program. 10th report on carcinogens. Research Triangle Park, NC: NIEHS, 2002.
22. Huff J. NTP report on carcinogens: history, concepts, procedure, processes. *Eur J Oncol* 1998; 3: 343-55.
23. Parkin DM, Whelan, SL, Ferlay J, *et al.* Cancer in five continents, Vol. VIII. Lyon: IARC, 2003.

Geografia del mesotelioma

Geography of mesothelioma

Luigi Giarelli*, Claudio Bianchi** e Tommaso Bianchi**

* Istituto di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Trieste, Trieste, Italia

** Centro di Studio e Documentazione sui Tumori Ambientali, Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori, Monfalcone (GO), Italia

Riassunto

Dati di incidenza/mortalità sul mesotelioma maligno sono disponibili per vari paesi europei, larga parte del Nord America, Australia e Giappone. Per il resto del mondo, generalmente i dati sono scarsi o mancanti del tutto. In Europa i tassi di incidenza grezza più elevati, tra 21 e 30 casi per milione, si riscontrano in Belgio, Gran Bretagna, Olanda. Tassi compresi tra 11 e 20 casi per milione si osservano in Francia, Germania, Italia e nei paesi scandinavi. Una terza fascia con tassi tra 2 e 10 per milione comprende larga parte del centro-Europa e la penisola iberica. L'Australia presenta un'incidenza simile a quelle più elevate dei paesi europei, mentre Giappone e Stati Uniti sono simili al terzo gruppo europeo. L'epidemia di mesoteliomi presumibilmente non ha ancora coinvolto i paesi in via di sviluppo, perché in tali paesi l'industrializzazione è un fenomeno relativamente recente. Dato l'intensissimo consumo di asbesto che si è avuto nel mondo nel periodo 1960-90 e dati i lunghi periodi di latenza del mesotelioma (in media 50 anni) è prevedibile un ulteriore marcato aumento di incidenza del tumore nei prossimi decenni. Eur. J. Oncol., 8 (4), 253-258, 2003

Parole chiave: mesotelioma, pleura, peritoneo, epidemiologia, asbesto, periodi di latenza

Introduzione

Negli ultimi decenni il mesotelioma maligno ha presentato un progressivo aumento di incidenza in vari paesi industriali¹⁻². È stato calcolato che attualmente un totale di circa 10.000 nuovi casi

Summary

Incidence/mortality data on malignant mesothelioma are available for various European countries, large parts of North America, Australia, and Japan. However, data are generally scarce or lacking for the rest of the world. In Europe the highest crude incidence rates, 21-30 cases per million, are observed in Belgium, the United Kingdom, and the Netherlands. Incidence rates between 11 and 20 per million are reported from France, Germany, Italy and Scandinavian countries. A third group with incidence rates between 2 and 10 per million includes most of Central Europe and the Iberian peninsula. Australia shows incidence rates similar to the highest values seen in Europe. Japan and the United States however, are similar to the third European group. Probably, the mesothelioma epidemic has not yet involved the developing countries, because in such countries industrialization is a relatively recent phenomenon. Given the very high world consumption of asbestos in the period 1960-90, and given the very long latency periods of mesothelioma (with a mean of 50 years), a further marked rise in the incidence of mesothelioma is predictable in the next decades. Eur. J. Oncol., 8 (4), 253-258, 2003

Key words: mesothelioma, pleura, peritoneum, epidemiology, asbestos, latency periods

viene diagnosticato ogni anno nel complesso di alcune aree altamente industrializzate del mondo (Nord America, Europa occidentale e settentrionale, Giappone, Australia)³. In alcune parti dell'Australia i tassi di incidenza del mesotelioma sono pari a quelli dei tumori del fegato; per quanto riguarda la mortalità, in Australia il numero di decessi per mesotelioma eguaglia nei maschi i decessi da tumori renali e nelle femmine i decessi da tumori dell'utero⁴. Se i dati ora citati indicano la gravità assunta dal problema mesotelioma, un ulteriore motivo di allarme viene dal fatto che le previsioni per i prossimi decenni non mostrano un miglioramento ma piuttosto un peggioramento della situazione⁴⁻⁷.

Pervenuto/Received 2.7.2003 - Accettato/Accepted 27.8.2003

Indirizzo/Address: Prof. Luigi Giarelli, Istituto di Anatomia Patologica, Università degli Studi di Trieste, Via Stuparich 1, 34100 Trieste, Italia
Tel. 0039/040/3992357

La causa principale del mesotelioma è rappresentata dall'asbesto¹. Molti paesi hanno proibito l'uso del minerale, ma in vaste aree del mondo l'impiego continua. Enormi quantità di asbesto sono inoltre disseminate nei luoghi più disparati, per cui l'esposizione al minerale persiste anche dove la legge ne ha interrotto l'uso.

In questo contesto sarebbe opportuno disporre di un quadro costantemente aggiornato della geografia del mesotelioma. Tuttavia i dati sono del tutto mancanti per vaste aree del mondo e lacunosi o scarsamente attendibili in altre.

Europa

L'incidenza del mesotelioma in Europa è stata oggetto di vari studi recenti che hanno preso in considerazione il continente nella sua globalità o alcune parti di esso^{5, 8-14}. Altre ricerche hanno riguardato singoli paesi europei¹⁵⁻²⁵ o alcune province²⁶.

Nelle Tabelle 1 e 2 sono riportati dati sull'incidenza grezza del mesotelioma in vari paesi europei, quali risultano dalla letteratura e dai risultati di un'inchiesta condotta intervistando ricercatori di vari paesi¹²⁻¹⁴. Le cifre riportate non presentano tutte lo stesso grado di attendibilità. In alcuni paesi, come ad esempio gli stati scandinavi e la Gran Bretagna, i dati sono il frutto di una registrazione in atto da vari decenni, in altri paesi i registri dei tumori o dei mesoteliomi sono in funzione da pochi anni o coprono solo parti limitate del territorio nazionale. Quando non siano disponibili i risultati di una registrazione, è giocoforza far ricorso ai certificati di morte, la cui attendibilità è tuttavia notevolmente inferiore. È inoltre da rilevare che la diagnosi di mesotelioma rimane tuttora difficile. Non tutte le diagnosi sono comprovate da un esame istologico e ciò lascia un margine di dubbio. Alquanto preoccupanti sono a questo proposito i risultati di uno studio recentemente effettuato in Francia. Iwatsubo *et al*²⁷ hanno riesaminata una serie di casi diagnosticati come mesoteliomi pleurici; la revisione dei preparati istologici non ha confermato la diagnosi originaria addirittura nel 37% dei casi. Se queste sono le difficoltà che la diagnosi di mesotelioma comporta anche sul piano istologico, sarebbe opportuno effettuare l'autopsia in tutti i pazienti deceduti con mesotelioma o sospetto tale²⁸. Tuttavia la pratica autoptica presenta un progressivo e inarrestabile declino^{18, 29, 30}.

Il primo elemento emergente dalle Tabelle 1 e 2 è rappresentato dalla differenza esistente tra Europa occidentale e settentrionale da un lato ed Europa centro-orientale dall'altro. Con qualche eccezione soltanto, l'incidenza del mesotelioma è superiore nella prima. Sfortunatamente il confronto tra le due metà dell'Europa può essere un confronto solo parziale per la mancanza di dati relativi a due grandi paesi ad alta industrializzazione, la Russia e l'Ucraina. Il primo di questi è anche il maggior produttore di amianto nel mondo.

Un altro elemento di rilievo risultante dalle tabelle è rappresentato dall'alta incidenza del mesotelioma nel Belgio, in Gran Bretagna e nei Paesi Bassi, incidenza che è superiore a 20 casi per milione. Il fatto che il Belgio risulti primo in questa graduatoria può trovare spiegazione nell'elevata concentrazione di industrie in questo stato. Altri paesi più estesi comprendono zone altamente industrializzate alternate ad altre con basso grado di industrializzazione. È pure da notare che negli anni '70 il Belgio risultava al primo posto tra i paesi dell'Europa occidentale per consumo *pro capite* di asbesto³¹. Per quanto riguarda la Gran Bretagna, a

Tabella 1 - Mesotelioma in Europa: numero annuo approssimativo di casi

Paese	Popolazione (x 1.000) ^a	N. annuo di casi
Russia	147.200	d.n.d. ^b
Germania	82.100	1.011 ^c
Francia	59.087	1.000
Regno Unito	59.000	1.600
Italia	57.723	1.000
Ucraina	50.660	9
Spagna	40.017	143
Polonia	38.800	120
Romania	22.570	133
Paesi Bassi	15.000	310
Jugoslavia	10.731	
Grecia	10.561	
Bielorussia	10.360	d.n.d.
Repubblica Ceca	10.300	
Belgio	10.180	300
Ungheria	10.150	78
Portogallo	9.943	20
Svezia	8.800	107 ^c
Bulgaria	8.330	
Austria	8.000	70
Svizzera	7.100	
Rep. Slovacca	5.400	20
Georgia	5.370	
Danimarca	5.200	65
Finlandia	5.100	57
Croazia	4.677	46 ^c
Norvegia	4.400	72 ^c
Moldavia	4.300	
Bosnia-Erz.	3.838	
Lituania	3.700	12
Irlanda	3.600	
Albania	3.365	
Lettonia	2.470	8
Macedonia	1.984	7
Slovenia	1.977	5
Estonia	1.470	5
Lussemburgo	420	
Islanda	276	

^a Da: 2000 Britannica Book of the Year. Chicago: Encyclopaedia Britannica Inc., 2000.

^b d.n.d = dati non disponibili.

^c Mesoteliomi peritoneali esclusi.

parte l'alto grado di industrializzazione del paese, è da ricordare la rilevanza dell'industria navalmeccanica britannica². Anche nei Paesi Bassi la produzione navale è stata una causa rilevante di mesotelioma³². In rapporto proprio all'attività navale, alcune aree sono state identificate come zone ad altissima incidenza³³⁻³⁴. Il recente studio di Segura *et al*⁷ fa prevedere un ulteriore aumento spiccato di casi nei Paesi Bassi nei prossimi decenni. Il mesotelioma pleurico nei maschi aumenterà secondo i calcoli effettuati fino a raggiungere la cifra di 490 casi per anno.

Nella fascia successiva, con tassi compresi tra 11 e 20 casi per milione, figurano tre grandi paesi dell'Europa occidentale (Francia, Germania, Italia) e i paesi scandinavi. In ciascuno di questi paesi è stata condotta una lunga serie di studi sui mesoteliomi, che hanno riguardato sia il paese nel suo insieme che aree circoscritte ad alta incidenza. Dati a livello nazionale sono stati analizzati in Finlandia¹⁶, Svezia^{17, 23, 24}, Danimarca¹⁸, Germania³⁵, Italia²², Norvegia³⁶. In ciascuno di questi paesi è stato registrato un incremento progressivo negli ultimi decenni. Tra i dati più recenti meritano

Tabella 2 - Stime dell'incidenza grezza annua del mesotelioma in vari paesi europei

Paese	N. annuo di casi per milione
Belgio	29
Regno Unito	27
Paesi Bassi	21
Francia	17
Italia	17
Norvegia	16 ^a
Danimarca	13
Germania	12 ^a
Svezia	12 ^a
Finlandia	11
Croazia	10 ^a
Austria	9
Ungheria	8
Romania	6
Estonia	4
Macedonia	4
Rep. Slovacca	4
Spagna	4
Lettonia	3
Lituania	3
Polonia	3
Slovenia	3
Portogallo	2

^a Mesoteliomi peritoneali esclusi.

particolare segnalazione quelli della Norvegia, dove l'incidenza dei tumori pleurici nel sesso maschile ha presentato negli anni 1995-99 un aumento del 29% rispetto al quinquennio precedente³⁶.

Con tassi compresi tra 2 e 10 casi per milione, figurano gli stati dell'Europa centro-orientale e la penisola iberica. Alcuni paesi del centro Europa presentano tassi vicini a quelli dell'Europa occidentale. Pertanto il confine tra le due metà del continente non è netto. L'incidenza del mesotelioma pleurico in Croazia è stata oggetto di uno studio recente²¹. Tale studio ha messo in evidenza una marcata diversità tra le zone costiere del paese e quelle dell'interno. La più alta incidenza è osservata sulla costa e ciò può essere messo in relazione con la presenza di importanti cantieri navali ed anche di industrie del cemento-amianto. In Ungheria è stato recentemente istituito un registro dei mesoteliomi¹⁹. Tra gli altri paesi del centro-Europa, l'incidenza relativamente bassa riportata dalla Polonia è stata oggetto di discussione³⁷, data la presenza di varie industrie dell'amianto e di due grosse aree cantieristiche, quelle di Danzica e di Stettino. Indagini recenti hanno riguardato anche la Slovenia²⁰ e l'Austria²⁵. In Spagna l'incidenza del mesotelioma sembra essere marcatamente più bassa che negli altri paesi dell'Europa occidentale. L'Atlante di Mortalità spagnolo relativo agli anni 1978-1992 rileva spiccate differenze nella mortalità da tumori pleurici nelle varie aree del paese, con tassi più elevati nelle province di Barcellona e Las Palmas³⁸. Le province di Barcellona e di Cadice sono state oggetto di studi specifici²⁶. Una recente indagine che ha riguardato l'area di Madrid non ha registrato marcate variazioni nell'incidenza del mesotelioma nell'arco degli anni '90³⁹. Si può ipotizzare che un'industrializzazione più tarda rispetto agli altri paesi sia alla base dell'incidenza relativamente bassa. Ciò è vero per lo meno per quanto riguarda la produzione navale, che è diventata importante in Spagna solo dopo il 1960⁴⁰⁻⁴¹.

Sfortunatamente non sono disponibili dati epidemiologici per la Grecia. La Grecia è sede di grosse attività navali, la cui relazione con i tumori asbesto-correlati è ben documentata⁴². All'inizio degli anni '60 la flotta mercantile greca era considerata una delle tre più importanti flotte nel mondo (con 14 milioni di tonnellate). Si tratta di una stima approssimativa in quanto un numero considerevole di navi greche battevano altre bandiere. Nello stesso periodo tra le industrie meccaniche la più importante era rappresentata dalla cantieristica navale. Inoltre il paese è provvisto di vari grossi porti (i principali sono quelli del Pireo, di Salonicco e di Patrasso). La rilevanza dell'esposizione all'asbesto nella categoria dei marittimi è sottolineata anche da studi condotti in Grecia⁴³⁻⁴⁴. Inoltre negli anni '90 la Grecia era il settimo produttore nel mondo di asbesto con la miniera di crisotilo a Kozani (Grecia settentrionale), che produceva in media 70.000 tonnellate annue. La miniera di Kozani ha iniziato la sua attività nei primi anni '80 ed attualmente ha cessato le operazioni. La maggior parte dell'asbesto prodotto veniva esportato. Nell'isola di Creta (popolazione 700.000 abitanti) nel periodo 1992-1997 sono stati osservati 8 casi di mesotelioma.

Asia

Per la Cina non sono disponibili dati sull'incidenza del mesotelioma a livello nazionale. Secondo una stima recentemente riportata, il numero di decessi da mesotelioma nel 1990 si sarebbe aggirato sui 1.500 casi⁴⁵. La Cina è un importante produttore di asbesto, il terzo del mondo dopo la Russia e il Canada. La produzione è aumentata specialmente dopo il 1980, raggiungendo nel 1996 un picco di 441.700 tonnellate. Negli anni '90 le numerose miniere di asbesto contavano 20-30.000 operai. Il consumo annuo di asbesto negli anni '90 era compreso tra 300.000 e 400.000 tonnellate. Alcuni degli stabilimenti di prodotti di amianto sono attivi da vari decenni. Qualche area è stata studiata in particolare. Ad esempio la fabbrica di prodotti di asbesto di Chongqin, nella Provincia di Sichuan, ha iniziato la sua attività nel 1939⁴⁶.

Nella Cina sud-occidentale, nella contea rurale di Da-Yao, è stata riscontrata la presenza di crocidolite alla superficie del terreno. Ricerche intraprese fin dal 1983 hanno mostrato che i residenti di due villaggi nella zona di Da-Yao presentavano placche pleuriche e un alto numero di mesoteliomi. Il problema dell'esposizione ambientale alla crocidolite in questa zona è stato oggetto di una recente rassegna⁴⁷. Su di una popolazione di 68.000 abitanti, il numero medio annuo di mesoteliomi, già molto elevato nel periodo 1984-95 (6,6 casi per anno), ha presentato un ulteriore spiccato incremento nel periodo 1996-99, nel quale ha raggiunto il valore di 22 casi/anno. In uno degli studi di coorte condotti nella zona i decessi da mesotelioma rappresentavano ben il 22% delle cause di morte.

In India non si hanno dati sull'incidenza del mesotelioma. Sul tumore sono stati condotti solo sporadici studi e non sempre è stato indagato il rapporto con l'asbesto⁴⁸. Nel paese sono attive alcune miniere di asbesto, con una produzione complessiva non elevata, variante tra 18.000 e 25.000 tonnellate annue nel periodo 1995-99⁴⁸. Più cospicue sono state nello stesso periodo le quantità importate, per cui il consumo di asbesto è variato tra 86.000 e 105.754 tonnellate. È da ricordare anche che in India, come in Pakistan e in Bangladesh, esiste un'importante attività di demoli-

zione navale, una fonte certamente cospicua di esposizione all'asbesto.

In Giappone la mortalità da mesotelioma della pleura nei maschi è salita nel periodo 1995-2000 del 66%⁴⁹. Tuttavia il numero annuo dei mesoteliomi osservato nel paese rimane ancora basso se raffrontato a quelli di altri paesi altamente industrializzati. Le ragioni di tale differenza sono state oggetto di valutazioni diverse².

In Corea del Sud secondo le statistiche ufficiali non risultava segnalato fino al 1990 nessun caso di mesotelioma⁵⁰. Dati più recenti parlano di 40-50 casi annui denunciati al Registro Tumori negli anni '90⁵¹. Inoltre anche negli anni '80 erano stati registrati alcuni casi (da un minimo di 12 nel 1983 a 36 nel 1988).

In Vietnam non sono disponibili dati sul mesotelioma a livello nazionale⁵². Nella città di Hanoi nel periodo 1991-93 il tasso di incidenza dei tumori della pleura standardizzato sulla popolazione mondiale era di 1,1/100.000 nei maschi e di 0,5/100.000 nelle femmine.

A Singapore nel periodo 1968-2000 sono stati registrati 83 casi di mesotelioma maligno (65 pleurici, 18 peritoneali). In 31 di questi è stata riconosciuta l'origine professionale⁵³.

Per vari paesi del sud-est asiatico (Filippine⁵⁴, Indonesia⁵⁵, Malesia⁵⁶, Thailandia⁵⁷, Taiwan⁵⁸) non sono disponibili dati sul mesotelioma.

In Israele una serie di studi condotti negli ultimi decenni⁵⁹⁻⁶¹ ha mostrato solo in anni recenti un aumento spiccato nell'incidenza del mesotelioma. Ciò è da riferire al fatto che l'industrializzazione si è realizzata in Israele molto più tardi che nei paesi europei.

Africa

Numerosi studi sul mesotelioma sono stati condotti in Sud Africa. Nell'indagine di Zwi *et al*, pubblicata nel 1989⁶², il Sudafrica veniva definito come il paese a più alta incidenza di mesotelioma nel mondo. Studi più recenti sono quelli di Rees *et al*⁶³ e di Kielkowski *et al*⁶⁴.

Nelle altre parti del continente i dati sono scarsi o assenti. Tassi di incidenza grezza molto bassi sono stati riportati per il Marocco e la Tunisia (rispettivamente 0,7 e 0,6 casi annui per milione)⁶⁴.

America

Negli Stati Uniti l'incidenza annua del mesotelioma pleurico nei maschi di razza bianca è salita da 5,1 per milione nel 1973 a 14,1 per milione nel 1984 e a 16,3 per milione nel periodo 1990-1995⁶⁵. Nello stesso arco di tempo l'incidenza nelle femmine è variata di poco (da 2 a 2,6 per milione).

Il Brasile è uno dei più importanti produttori di asbesto e il maggior utilizzatore del minerale in Sudamerica. Dati sull'incidenza del mesotelioma nel paese non sono disponibili⁶⁸.

Oceania

In Australia il mesotelioma è oggetto di un'accurata registrazione dal 1980. L'incidenza del tumore è progressivamente aumentata. Nella popolazione al di sopra dei vent'anni si è registra-

to nel 1997 un tasso di 35,4 per milione (59,8 per i maschi e 10,9 per le femmine)⁴. Tale incremento riflette l'alto consumo di asbesto verificatosi nel paese negli ultimi decenni.

Un progressivo aumento di incidenza del mesotelioma è stato osservato anche in Nuova Zelanda⁶⁶.

In Nuova Caledonia è stato riscontrato un eccesso di tumori primitivi della pleura⁶⁷, riferibile alla presenza di tremolite nei materiali da costruzione⁶⁸.

Previsioni

Nel periodo 1960-1980 si è verificato un aumento progressivo della produzione mondiale di asbesto, che è passata da 2.210.000 tonnellate nel 1960 a 5.159.000 tonnellate nel 1978. Gli effetti di tale incremento sono stati visti solo in piccola parte. Alcuni dati suggeriscono che i tempi di incubazione del mesotelioma da asbesto siano molto più lunghi di quanto generalmente affermato. In una serie di 400 mesoteliomi pleurici analizzati nell'area di Trieste-Monfalcone⁶⁹, il periodo di latenza era superiore ai quarant'anni nel 75% dei casi. Ciò suggerisce che nei paesi occidentali, in molti dei quali l'uso dell'asbesto è stato interrotto da vari anni, l'epidemia di mesoteliomi continuerà per parecchi decenni. Nei paesi in via di sviluppo l'epidemia scoppierà nel presente secolo.

References

1. Hillerdal, G. Mesothelioma: cases associated with non-occupational and low dose exposures. *Occup Environ Med* 1999; 56: 505-13.
2. Giarelli L, Bianchi C. Geography of mesothelioma: expected findings and paradoxes. *Eur J Oncol* 2000; 5: 77-81.
3. Consensus report. International expert meeting on new advances in the radiology and screening of asbestos-related diseases. *Scand J Work Environ Health* 2000; 26: 449-54.
4. Leigh J, Davidson P, Hendrie L, *et al*. Malignant mesothelioma in Australia, 1945-2000. *Am J Ind Med* 2002; 41: 188-201.
5. Peto J, Decarli A, La Vecchia C, *et al*. The European mesothelioma epidemic. *Br J Cancer* 1999; 79: 666-72.
6. Kjaergaard J, Andersson M. Incidence of malignant mesothelioma and expected number of future cases in men (in Danish). *Ugeskr Laeger* 2001; 163: 3779-83.
7. Segura O, Burdorf A, Looman C. Update of predictions of mortality from pleural mesothelioma in the Netherlands. *Occup Environ Med* 2003; 60: 50-5.
8. Lehtinen S, Tossavainen A, Rantanen J (eds.). Proceedings of the Asbestos Symposium for the Countries of Central and Eastern Europe. 4-6 December 1997, Budapest, Hungary, Helsinki: Finnish Institute of Occupational Health, 1998.
9. Albin M, Magnani C, Krstev S, *et al*. Asbestos and cancer: an overview of current trends in Europe. *Environ Health Perspect* 1999; 107: 289-98.
10. Bianchi C, Brollo A, Ramani L. The epidemic of mesothelioma in Europe. In Jedrychowski W, Vena J, Maugeri U. Challenges to epidemiology in changing Europe. Proceedings of the Conference, Krakow, July 2-3 1999. Krakow: Polish Society for Environmental Epidemiology, 1999, 57-63.
11. Takahashi K, Huuskonen M S, Tossavainen A, *et al*. Ecological relationship between mesothelioma incidence/mortality and asbestos consumption in ten Western countries and Japan. *J Occup Health* 1999; 41: 8-11.
12. Bianchi C, Brollo A, Ramani L, *et al*. Malignant mesothelioma in Central and Eastern Europe. *Acta Med Croatica* 2000; 53: 161-4.
13. Bianchi C, Brollo A, Ramani L, *et al*. Malignant mesothelioma in Europe. *Intl J Med Biol Environ* 2000; 28: 103-7.

14. Bianchi C, Ramani L, Bianchi T. Malignant mesothelioma in Europe and the Mediterranean region. *Int J Cancer* 2002; 13 suppl, 420: abstr P907.
15. Peto J, Hodgson JT, Matthews FE, *et al.* Continuing increase in mesothelioma mortality in Britain. *Lancet* 1995; 345: 535-9.
16. Karjalainen A, Pukkala E, Mattson K, *et al.* Trends in mesothelioma incidence and occupational mesotheliomas in Finland in 1960-1995. *Scand J Work Environ Health* 1997; 23: 266-70.
17. Järholm B, Englund A, Albin M. Pleural mesothelioma in Sweden: an analysis of the incidence according to the use of asbestos. *Occup Environ Med* 1999; 56: 110-3.
18. Kjaergaard J, Andersson M. Incidence rates of malignant mesothelioma in Denmark and predicted future number of cases among men. *Scand J Work Environ Health* 2000; 26: 112-7.
19. Mándi A, Posgay M, Vadász P, *et al.* Role of occupational asbestos exposure in Hungarian lung cancer patients. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 555-60.
20. Kovac V, Debevec M, Plaper-Vernik M, *et al.* Malignant pleural mesothelioma (MPM) in Slovenia, 1980-1997. *Lung Cancer* 2001; 32 suppl. 1: S 57 (abstract).
21. Ćurin K, Šarić M, Strnad M. Incidence of malignant pleural mesothelioma in coastal and continental Croatia: epidemiological study. *Croat Med J* 2002; 43: 498-502.
22. Mastrantonio M, Belli S, Binazzi A, *et al.* La mortalità per tumore maligno della pleura nei comuni italiani, 1988-1997. *Rapporti ISTISAN* 2002; 02/12.
23. Hemminki K, Li X. Time trends and occupational risk factors for peritoneal mesothelioma in Sweden. *J Occup Environ Med* 2003; 45: 451-5.
24. Hemminki K, Li X. Time trends and occupational risk factors for pleural mesothelioma in Sweden. *J Occup Environ Med* 2003; 45: 456-61.
25. Neuberger M, Vutuc C. Three decades of pleural cancer and mesothelioma registration in Austria where asbestos cement was invented. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76: 161-6.
26. Agudo A, Gonzalez CA, Bleda MJ, *et al.* Occupation and risk of malignant pleural mesothelioma: a case-control study in Spain. *Am J Ind Med* 2000; 37: 159-68.
27. Iwatsubo Y, Matrat M, Michel E, *et al.* Estimation of the incidence of pleural mesothelioma according to death certificates in France. *Am J Ind Med* 2002; 42: 188-99.
28. Giarelli L, Bianchi C. Mesotelioma pleurico: contributi dell'esame autoptico alle conoscenze della storia naturale. *Eur J Oncol* 2001; 6: 129-32.
29. Lindström P, Janzon L, Sternby NH. Declining autopsy rate in Sweden: a study of causes and consequences in Malmö, Sweden. *J Intern Med* 1997; 242: 157-65.
30. Chariot P, Witt K, Pautot V, *et al.* Declining autopsy rate in a French hospital. Physicians' attitudes to the autopsy and use of autopsy material in research publications. *Arch Pathol Lab Med* 2000; 124: 739-45.
31. Neuberger M. Asbestos: epidemiological contributions to risk evaluation. Wien: Facultas-Verlag, 1981.
32. Meijers JMM, Planteydt, Slangen JJM, *et al.* Trends and geographical patterns of pleural mesotheliomas in the Netherlands 1970-87. *Br J Ind Med* 1990; 47: 775-81.
33. Damhuis RAM, van Gelder T. Malignant mesothelioma in the Rotterdam area, 1987-1989. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 1478-9.
34. Damhuis AM, Planteydt HT. Trends in incidence of pleural mesothelioma in the Rotterdam area. *Int J Cancer* 1995; 60: 883 (letter).
35. Neumann V, Günther S, Müller K-M, *et al.* Malignant mesothelioma - German mesothelioma register 1987-1999. *Int Arch Occup Environ Health* 2001; 74: 383-95.
36. Cancer Registry of Norway. *Cancer in Norway 1999*. Oslo: Krefregisteret, 2002.
37. Indulski JA, Szeszenia-Dabrowska N. Asbestos in Poland. In Lehtinen S, Tossavainen A, Rantanen J (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Countries of Central and Eastern Europe*. 4-6 December 1997, Budapest, Hungary. Helsinki: Finnish Institute of Occupational Health, 1998, 55-62.
38. López-Abente Ortega G, Pollán Santamaría M, Escolar Pujolar A, *et al.* Atlas de mortalidad por cancer i otras causas en España, 1978-1992. Madrid: Institut de Salud Carlos III, 2001.
39. Rincón A, Gandarillas A, Zorrilla B, *et al.* Mortalidad por mesotelioma en la comunidad de Madrid, 1991-1999. *Gac Sanit* 2002; 16 suppl. 1, 78: abstr 155.
40. Lloyd's Register of Shipping Annual Summary of Merchant Ships Launched in the World during 1965. London, 1966.
41. Lloyd's Register of Shipping Annual Summary of Merchant Ships Launched in the World during 1972. London, 1973.
42. Bianchi C. Mesothelioma and naval work. *Eur J Oncol* 2002; 7: 159-60.
43. Velonakis EG, Tsorva A, Tzonou A, *et al.* Asbestos-related chest X-ray changes among Greek merchant marine seamen. *Am J Ind Med* 1989; 15: 511-6.
44. Varouchakis G, Velonakis EG, Amfilochiou S, *et al.* Asbestos in strange places: two case-reports of mesothelioma among merchant seamen. *Am J Ind Med* 1991; 19: 673-6.
45. Feng Y, Liu J, Zhang T, *et al.* Asbestos in China: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 51-7.
46. Yano E, Wang Z-M, Wang X-R, *et al.* Cancer mortality among workers exposed to amphybole-free chrysotile asbestos. *Am J Epidemiol* 2001; 154: 538-43.
47. Luo S, Liu X, Mu S, *et al.* Asbestos related diseases from environmental exposure to crocidolite in Da-yao, China. I. Review of exposure and epidemiological data. *Occup Environ Med* 2003; 60: 35-42.
48. Joshi TK, Gupta RK. Asbestos in developing countries. The magnitude of risk and its practical implications. *Eur J Oncol Library* 2003; 2: 221-9.
49. Takahashi K, Furuya S, Murayama T, *et al.* Asbestos in Japan: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 58-64.
50. Johanning E, Goldberg M, Kim R. Asbestos hazard evaluation in South Korean textile production. *Int J Health Serv* 1994; 24: 131-44.
51. Paek D, Choi JK. Asbestos in Korea: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 42-50.
52. Ngoan LT, Lan TTN, Kiem LM, *et al.* Asbestos in Viet Nam: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 65-9.
53. Lee HS, Oei HP, Chia KS. Asbestos in Singapore: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 36-41.
54. Villanueva MBG, Granadillos NG, Cucueco MTS, *et al.* Asbestos in the Philippines: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 70-5.
55. Matulesy PF, Aditama TY, Ichsan S, *et al.* Asbestos in Indonesia: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 86-9.
56. Rampal KG, Chye GLC. Asbestos in Malaysia: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 76-80.
57. Taptagaporn S, Siriruttanapruk S. Asbestos in Thailand: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 81-5.
58. Chang H-Y, Wang J-D, Chen C-W, *et al.* Asbestos in Taiwan: country report. In Takahashi K, Lehtinen S, Karjalainen A (eds.). *Proceedings of the Asbestos Symposium for the Asian Countries*, September 26-27, 2002 Kitakyushu, Japan. *J UOEH* 2002; 24 suppl. 2: 90-4.
59. Lemesch C, Steinitz R, Wassermann M. Epidemiology of mesothelioma in Israel. *Environ Res* 1976; 12: 255-61.
60. Lemesch C, Katz L, Steinitz R. Mesothelioma in Israel (1973-1982). *JRSH* 1986; 4: 141-2.
61. Ariad S, Barchana M, Yukelson A, *et al.* A worrying increase in the incidence of mesothelioma in Israel. *IMAJ* 2000; 2: 828-32.

62. Zwi AB, Reid G, Landau SP, *et al.* Mesothelioma in South Africa – 1976-84: incidence and case characteristics. *Int J Epidemiol* 1989; 18: 320-9.
63. Rees D, Myers JE, Goodman K, *et al.* Case-control study of mesothelioma in South Africa. *Am J Ind Med* 1999; 35: 213-22.
64. Kielkowski D, Nelson G, Rees D. Risk of mesothelioma from exposure to crocidolite asbestos: a 1995 update of a South African mortality study. *Occup Environ Med* 2000; 57: 563-7.
65. Jemal A, Grauman D, Devesa S. Recent geographic patterns of lung cancer and mesothelioma mortality rates in 49 shipyard counties in the United States, 1970-94. *Am J Ind Med* 2000; 37: 512-21.
66. Kjellstrom T, Smartt P. Increased mesothelioma incidence in New Zealand: the asbestos-cancer epidemic has started. *N Z Med J* 2000; 113: 485-90.
67. Goldberg P, Goldberg M, Marne M-J, *et al.* Incidence of pleural mesothelioma in New Caledonia: a 10-year survey (1978-1987). *Arch Environ Health* 1991; 46: 306-9.
68. Goldberg P, Luce D, Billon-Galland MA, *et al.* Rôle potentiel de l'exposition environnementale et domestique à la trémolite dans le cancer de la plèvre en Nouvelle Calédonie. *Rev Epidémiol Santé Publique* 1995; 43: 444-50.
69. Bianchi C, Ramani L, Bianchi T, *et al.* Latency periods in asbestos-related mesothelioma of the pleura. *Med Lav* 2002; 93, 385: abstr T005.

Accesso venoso centrale a lungo termine in oncologia: parte integrante del piano di cura o procedura di necessità?

Long term central venous access in oncology: who, why, when?

Luca Aldrighetti e Gianfranco Ferla

Divisione di Chirurgia Generale I, Istituto Scientifico H San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

Riassunto

I Cateteri Venosi Centrali a Lungo Termine (CVCLT) sono presidi estesamente utilizzati per la somministrazione di chemioterapici, emoderivati, nutrizione parenterale, analgesici, antibiotici. Le indicazioni all'impianto di un CVCLT nel paziente oncologico non sono tuttavia ancora ben definite e mancano specifiche linee-guida, cosicché la necessità di un CVCLT è tutt'ora spesso considerata per assenza di vie alternative di infusione nei casi di severo depauperamento del patrimonio venoso periferico secondario alle continue o ripetute infusioni di sostanze flebotossiche, quali chemioterapici e nutrizione parenterale. Questo approccio è il principale responsabile di numerose complicanze locali (flebite, stravasamento di chemioterapico con ulcere o necrosi, dolore), nonché di inaccettabile ritardo nella somministrazione della terapia. La necessità di un CVCLT deve essere valutata nel corso della definizione del piano terapeutico durante la prima valutazione del paziente e la procedura di impianto pianificata prima dell'inizio del programma di trattamento. L'impianto pre-terapia di un CVCLT è mandatorio in presenza di uno dei seguenti criteri: ridotta reperibilità di accessi venosi periferici, schemi di chemioterapia continua, schemi di chemioterapia ciclica con farmaci vescicanti o dotati di tossicità locale anche senza stravasamento, schemi di chemioterapia ad alte dosi, piano terapeutico complesso, nutrizione parenterale totale. L'impianto pre-terapia di un CVCLT è suggerito nei casi di chemioterapia adiuvante in pazienti ad elevato rischio di recidiva neoplastica a breve termine, bassa compliance del paziente alle ripetute venipunture, terapia domiciliare. In tutti gli altri casi, l'impianto pre-terapia di un CVCLT non è di principio consigliato ma le vie infusionali devono essere ripetutamente valutate durante lo svolgimento della terapia, affinché la necessità di un CVCLT possa essere individuata prima che la terapia debba essere interrotta per mancanza di accessi vascolari. Eur. J. Oncol., 8 (4), 259-261, 2003

Parole chiave: accesso venoso centrale a lungo termine, oncologia, chemioterapia, nutrizione parenterale

Summary

Long Term Central Venous Catheters (LTCVC) are widely used for administration of chemotherapy, blood products, parenteral nutrition, analgesics, antibiotics. Nevertheless, indications for the placement of LTCVC are not well defined in cancer patients and specific guidelines are still missing, so that the need for placement of an LTCVC is often based on the lack of alternative routes for intravenous treatments secondary to the severe loss of peripheral veins by recurrent and/or prolonged infusion of toxic drugs, such as chemotherapy and parenteral nutrition. This approach is the main factor behind several local complications (phlebitis, extravasation of drugs with ulcers or necrosis, pain) as well as an unacceptable delay in the chemotherapy schedule. The need for an LTCVC has to be considered during the first patient assessment while defining the plan of therapy and placement has to be planned prior to therapy administration. The pre-therapy placement of LTCVC is mandatory if one of the following criteria is present: low availability of peripheral venous accesses, schedules of chemotherapy by continuous infusion or by bolus with vesicant drugs with possible local toxicity with or without extravasation, high-dose chemotherapy, multiple infusion requirements (i.e. chemotherapy plus high volumes of intravenous fluids plus blood products), total parenteral nutrition. Pre-therapy placement of LTCVC is suggested for adjuvant chemotherapy in patients at high risk for early tumour recurrence, low patient compliance to multiple venipunctures, domiciliary treatment. In all other conditions, pre-therapy placement of LTCVC is not indicated but infusion routes should be carefully evaluated during the course of therapy so that the need for an LTCVC may be detected before treatment has to be interrupted for lack of vascular access. Eur. J. Oncol., 8 (4), 259-261, 2003

Key words: long term central venous access, oncology, chemotherapy, parenteral nutrition

Pervenuto/Received 8.4.2003 - Accettato/Accepted 19.6.2003

Indirizzo/Address: Dr. Luca Aldrighetti, Istituto Scientifico H San Raffaele, Divisione di Chirurgia I, Via Olgettina 60, 20132 Milano, Italia

Tel. 0039/02/26437808 - Fax 0039/02/26437807

E-mail: aldrighetti.luca@hsr.it

Introduzione

I cateteri venosi centrali a lungo termine (CVCLT) rappresentano presidi frequentemente utilizzati in ambito oncologico per la somministrazione di chemioterapici e terapie di supporto (nutrizione parenterale, analgesia, emoderivati, antibiotici, ecc.)

A fronte dell'estensivo utilizzo di questi dispositivi nella pratica clinica, non sono tutt'ora disponibili linee guida che definiscano le indicazioni al loro impianto ed il corretto *timing* della procedura durante la storia clinica del paziente neoplastico. L'assenza di criteri di riferimento determina una notevole eterogeneità di indicazioni all'impianto di CVCLT da centro a centro o, talora, da paziente a paziente nell'ambito dello stesso centro, nonché un approccio frequentemente episodico ed estemporaneo rispetto al *timing* dell'impianto.

Sebbene, in assenza di consensus o linee guide specifiche, le preferenze di Scuola o personali trovino una necessaria motivazione, alcuni principi per guidare la scelta del paziente ed il *timing* dell'impianto possono essere individuati.

Procedura di necessità?

I CVCLT sono stati tradizionalmente riservati ai pazienti con depauperato patrimonio venoso periferico come scelta di seconda linea (procedura di necessità) subordinata all'assenza di vie alternative di infusione endovenosa. L'uso estensivo delle tecniche di cateterismo venoso centrale nella quotidiana pratica clinica¹, la dimostrata efficacia e sicurezza delle tecniche percutanee di impianto² e l'evoluzione tecnologica con conseguente disponibilità di materiali e *devices* ad elevata biocompatibilità e modesta trombogenicità, nonché la crescente complessità dei trattamenti in ambito oncologico, non lasciano spazio residuo alla scelta dell'impianto di un CVCLT come procedura di necessità quando la terapia non risulta più somministrabile per mancanza di accessi.

Parte integrante del piano terapeutico?

La valutazione delle necessità infusionali del paziente costituisce oggi un elemento di primaria importanza nei processi di *patient assessment* e definizione del piano di cura che vengono svolti alla prima valutazione³. In questa fase l'impianto del CVCLT deve essere sempre considerato come parte integrante del piano terapeutico, pur con priorità differente in rapporto ad alcuni elementi:

- reperibilità di accessi venosi;
- tipo e schema di chemioterapia;
- diagnosi e stadio della malattia;
- ulteriori presidi di trattamento;
- assetto psicologico del paziente.

Reperibilità di accessi venosi

Pazienti con ridotta reperibilità di accessi venosi periferici presentano una elevata priorità per l'impianto di CVCLT indipendentemente dagli altri elementi di valutazione. Il *discomfort* del paziente per i ripetuti tentativi di puntura venosa, l'incidenza di complicanze locali per accessi venosi inadeguati (trombosi, flebi-

te, stravaso di chemioterapico, etc.), il prevedibile precoce esaurimento degli accessi disponibili richiedono l'impianto di un CVCLT all'inizio del programma di trattamento.

Tipo e schema di chemioterapia

Tutti gli schemi di chemioterapia continua, indipendentemente dal tipo di chemioterapico utilizzato, necessitano di CVCLT per il *comfort* e la qualità di vita del paziente, che deve mantenere per lunghi periodi una linea infusionale connessa a pompe esterne elettroniche o elastomeriche. Anche gli schemi di chemioterapia ad alte dosi necessitano generalmente di CVCLT per la scarsa tolleranza da parte delle vene periferiche alle elevate concentrazioni dei farmaci chemioterapici⁴. Gli schemi di chemioterapia ciclica che utilizzano farmaci vescicanti (mecloretamina, mitomicina C, doxorubicina, daunomicina, vincristina, vinblastina) presentano una elevata priorità per la disponibilità di CVCLT dato il significativo rischio di gravi lesioni tissutali fino alla necrosi nei casi di diffusione extravasale del farmaco⁵. Inoltre alcuni chemioterapici somministrati per via periferica sono in grado di determinare, pur in assenza di stravaso, dolore locale (*flare reaction*), flebite cronica, flebosclerosi e discolorazione cutanea; schemi di chemioterapia ciclica includenti questi farmaci hanno quindi una elevata priorità di un CVCLT per ridurre il *discomfort* del paziente ed evitare il depauperamento del patrimonio venoso periferico.

Diagnosi e stadio della malattia

Nei pazienti liberi da malattia e candidati a programmi di chemioterapia adiuvante somministrabile per via periferica, l'impianto di CVCLT ha alta priorità nei casi di elevata incidenza di recidiva di malattia a breve termine, mentre può essere dilazionato (bassa priorità) nei casi di potenziale guarigione o prevedibili lunghi intervalli liberi da malattia. Nei pazienti con malattia in atto, l'aspettativa di vita non costituisce criterio per la definizione della priorità di un CVCLT. Nei casi in cui il CVCLT può favorire la gestione e la qualità di vita del paziente, il suo impianto ha elevata priorità pur in presenza di modesta aspettativa di vita.

Ulteriori presidi di trattamento

I programmi complessi di trattamenti oncologico, includenti chemioterapia, nutrizione parenterale⁶, alti volumi di idratazione, emoderivati, analgesia continua, antibioticotierapia prolungata, ecc, hanno elevata priorità per l'impianto di un CVCLT sia per il rischio delle complicanze locali che per il *comfort* del paziente.

Assetto psicologico del paziente

Sebbene non possa costituire un criterio isolato, va comunque sottolineato che l'impianto di CVCLT nell'ambito del programma terapeutico iniziale riduce il *feeling* prognostico sfavorevole che viene attribuito ad un impianto effettuato in fase avanzata, soprattutto per perdita del patrimonio venoso periferico.

Criteri e *timing* dell'impianto

Dall'analisi degli elementi suddetti, con il relativo livello di priorità per la disponibilità di un CVCLT, deriva la programma-

zione ed il *timing* più corretto per il suo impianto nell'ambito del piano terapeutico del paziente.

Criteri assoluti che determinano un'elevata priorità per la disponibilità di CVCLT e ne rendono mandatorio l'impianto come momento del piano terapeutico preliminare all'inizio del trattamento farmacologico, possono essere identificati in:

- ridotta reperibilità di accessi venosi periferici;
- schemi di chemioterapia continua;
- schemi di chemioterapia ciclica con farmaci vescicanti o dotati di tossicità locale anche senza stravaso;
- schemi di chemioterapia ad alte dosi;
- piano terapeutico complesso;
- nutrizione parenterale totale.

Criteri relativi, che determinano una media priorità per la disponibilità di un CVCLT e possono, *on a case-by-case basis*, determinare l'opportunità di un impianto preliminare allo svolgimento del piano terapeutico, possono essere considerati:

- chemioterapia adiuvante in paziente ad elevato rischio di recidiva neoplastica a breve termine;
- bassa *compliance* del paziente alle ripetute venipunture;
- terapia domiciliare.

Negli altri casi (bassa priorità), l'impianto pre-terapia di un CVCLT non è di principio consigliato, ma le vie infusionali devono essere ripetutamente valutate durante lo svolgimento del piano terapeutico, affinché la necessità di un CVCLT possa essere individuata prima che la terapia debba essere interrotta per mancanza di accessi vascolari.

Conclusioni

L'impianto di CVCLT non deve rappresentare procedura di necessità da realizzare nei casi di impossibilità a somministrare la terapia per assenza di accessi venosi residui, ma deve costituire un elemento integrante del piano terapeutico del paziente con priorità e *timing* variabili in rapporto alle caratteristiche del paziente ed al programma di trattamento.

Bibliografia

1. Koch HJ, Pietsch M, Krause U, *et al.* Implantable vascular access systems: experience in 1500 patients with totally implanted central venous port systems. *World J Surg* 1998; 22: 12-6.
2. Schwarz RE, Groeger JS, Coit DG. Subcutaneously implanted central venous access devices in cancer patients: a prospective analysis. *Cancer* 1997; 79: 1635-40.
3. Aldrighetti L, Ferla G. Criteria for choosing the most adequate access for long-term central venous catheters. *Tumori* 2001; 87: s71-3.
4. Biffi R, Martinelli G, Pozzi S, *et al.* Totally implantable central venous access ports for high-dose chemotherapy administration: analysis of overall and septic complications in 68 cases using a single type of device. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 89-93.
5. Kassner E. Evaluation and treatment of chemotherapy extravasation injuries. *J Pediatr Oncol Nurs* 2000; 17: 135-48.
6. Waitzberg DL, Plopper C, Terra RM. Access routes for nutritional therapy. *World J Surg* 2000; 24: 1468-76.

Correlazione tra biologia molecolare, anatomia patologica e clinica nei tumori del colon-retto

The link between molecular biology, pathological anatomy and clinical medicine in colorectal cancer

Costanzo Natale e Francesca Natale

Dipartimento di Chirurgia, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Ospedali Riuniti, Foggia, Italia

Riassunto

Finalità. Vengono considerati gli aspetti della ricerca molecolare e di quella anatomo-patologica che possano influenzare le strategie terapeutiche, in particolar modo chirurgiche, nel trattamento dei carcinomi colo-rettali. Questi sono i tumori di cui meglio si conoscono i meccanismi genetici di cancerogenesi. Sono illustrate le forme di tumore colo-rettale più suscettibili di terapia, ed in particolare quelle con instabilità dei microsatelliti (MIN+). Dal punto di vista anatomo-patologico è indicata la necessità di diagnosticare le micrometastasi per una valutazione prognostica e delle possibili integrazioni terapeutiche. **Materiali e metodi.** È riportata una casistica di 1383 pazienti con carcinoma colo-rettale dal 1990 al 2002, di cui 788 avevano una localizzazione al colon e 595 al retto. In particolare vengono descritte le tecniche di resezione del retto comprendendo l'escissione totale del mesoretto, la conservazione delle strutture nervose e quindi della funzione sfinterica, con interventi di proctectomia subtotale e di proctectomia totale. **Risultati.** Nelle localizzazioni al retto la sopravvivenza a 5 anni è stata del 72 %, la mortalità operatoria del 2,7% e la morbilità dell'8%. Le recidive locoregionali sono state il 5,7% ed insorte quasi tutte nei primi due anni. **Conclusioni.** Studi molecolari e di immunoistochimica, compresa la individuazione delle micrometastasi, sono stati eseguiti nei pazienti operati e le indicazioni sono state utilizzate ai fini prognostici e per le terapie integrate. Eur. J. Oncol., 8 (4), 263-268, 2003

Parole chiave: diagnosi molecolare, immunoistochimica, strategie chirurgiche, carcinoma coloretale

La conoscenza delle basi fisiopatologiche dei tumori, in costante evoluzione, rappresenta uno dei momenti formativi del chi-

Summary

Background. The authors examine aspects of molecular and pathological research which bear on therapeutic, and particularly surgical policy in the treatment of colorectal cancer. This tumour is the best-known as far as the genetic mechanisms of carcinogenesis are concerned. The cases of colorectal cancer are described, in particular those with microsatellite instability (MIN+), as a guide to therapy planning. From a pathological point of view the need for micrometastasis identification is stressed as it assists evaluation of prognosis and possible therapeutic integration. **Materials and methods.** A series of 1383 patients with colorectal cancer operated on between 1990-2002 is reported; 788 of them had a colon, and 595 a rectal localization. In particular the techniques of rectal resection are described, such as total mesorectal excision, nerve sparing and therefore sphincter sparing, with subtotal or total proctectomy. **Results.** In rectal cancer 5-year survival was 72%, mortality was 2.7% and morbidity was 8%. Local recurrences were 5.7%, mainly in the first two years. **Conclusion.** Molecular and immunohistochemical studies, including the diagnosis of micrometastases, were performed in the patients operated on; the results were used for prognosis and combined treatments. Eur. J. Oncol., 8 (4), 263-268, 2003

Key words: molecular diagnosis, immunohistochemistry, surgical strategies, colorectal cancer

urgo che si occupa particolarmente del trattamento delle neoplasie maligne. La chirurgia oncologica deve pertanto seguire regole precise e basi razionali spesso più complesse della realizzazione stessa di un intervento.

L'evoluzione delle conoscenze ha subito una notevole accelerazione nell'ultimo decennio per cui diventa sempre più indi-

Pervenuto/Received 5.8.2003 - Accettato/Accepted 8.9.2003

Indirizzo/Address: Prof. Costanzo Natale, Via Mario Natola 11, 71100 Foggia, Italia - Fax: 0881/733669 - E-mail: costanzo.natale@virgilio.it

spensabile stabilire una catena di interesse fra il chirurgo, il biologo molecolare e il patologo al fine di valutare il *timing* di intervento e utilizzare le metodiche, chirurgiche e non, più valide per migliorare i risultati a distanza.

La ricerca clinica e scientifica procede in modo dinamico per cui ciò che sembra scontato oggi subisce quasi sempre una evoluzione migliorativa sia dal punto di vista biologico che funzionale. Queste considerazioni sembrano particolarmente valide per il trattamento dei tumori colo-rettali per i quali sono sufficientemente avanzate le conoscenze di biologia molecolare spesso correlate alle possibilità offerte dalla moderna anatomia patologica.

Ricerca di base

Fra tutti i tipi di cancro, le modificazioni molecolari responsabili della trasformazione neoplastica sono probabilmente meglio conosciute nel carcinoma colo-rettale.

I geni finora individuati come responsabili delle forme ereditarie sono gli stessi che hanno un ruolo nelle forme sporadiche e pertanto i tumori ereditari, pur essendo rari, rappresentano un buon modello di studio. Nel carcinoma colo-rettale due *pathways* di cancerogenesi sono state individuate:

- instabilità cromosomica = CIN (Chromosome Instability),
- instabilità del DNA = MIN (Microsatellite Instability).

Di tutti i carcinomi colo-rettali, il 90% è rappresentato dalle forme sporadiche e il 10-11% dalle cosiddette sindromi di cancro colo-rettale ereditario (fig. 1).

Di queste ultime fanno parte principalmente:

- poliposi adenomatosa familiare (FAP),
- cancro colo-rettale ereditario non poliposico (HNPCC).

La FAP è causata da mutazione del gene APC (adenomatous polyposis coli) e costituisce, a livello molecolare, il modello dei tumori correlati a instabilità cromosomica (CIN).

L'HNPCC è causato da mutazione di uno dei geni MMR (mismatch repair) e cioè da deficienza di riparazione degli errori commessi dalla DNA polimerasi durante la duplicazione del DNA che precede la divisione cellulare. Le alterazioni che ne risultano possono essere facilmente osservate mediante amplificazione di specifiche regioni del DNA definite "microsatelliti" e il fenotipo è detto "instabilità dei microsatelliti" (MIN)¹.

Dei tumori sporadici l'85-88% è rappresentato da forme con instabilità cromosomica (CIN) e il 12-15% da forme con instabilità del DNA (MIN) (fig. 2).

Fra i geni responsabili della progressione epitelio normale → adenoma → carcinoma, quelli maggiormente studiati sono i geni APC- Kras- p 53 secondo lo schema della fig. 3.

I geni più frequentemente individuati come mutati nel carcinoma colo-rettale sporadico (MIN- / CIN +) sono :

- APC mutato nel 20-40% dei casi,
- p53 mutato nel 60% dei casi.

Una elevata espressione di p53 rappresenta un indicatore di prognosi particolarmente sfavorevole e può essere evidenziato in anatomia patologica con procedura di immunohistochimica.

I tumori il cui DNA presenta instabilità dei microsatelliti (un identificabile marker genetico di instabilità del DNA) hanno prognosi più favorevole e maggiore sensibilità al 5-Fu.

La presenza di mutazioni dei geni MMR può essere determinata con procedure molecolari (analisi del DNA per evidenziare la instabilità dei microsatelliti MIN+) ovvero mediante immuno-

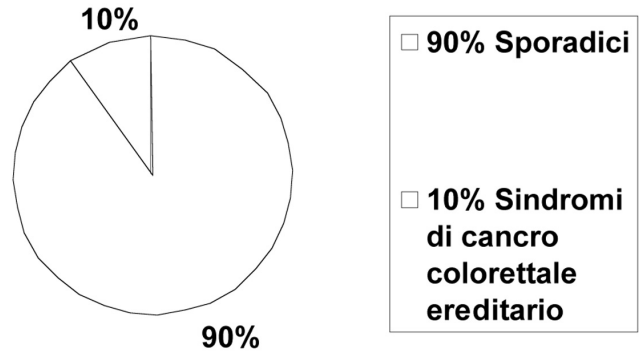


Fig. 1. Carcinomi coloretali.

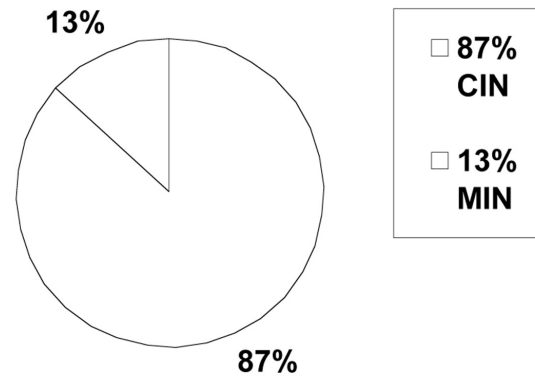


Fig. 2. Carcinomi coloretali sporadici.

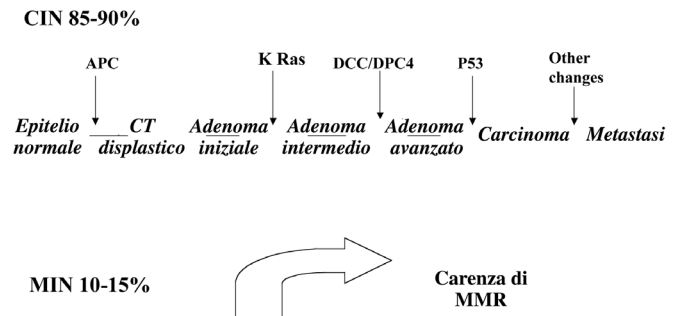


Fig. 3. Caratterizzazione genotipica del tumore primitivo

stochimica (cioè attraverso la espressione dei geni MLH1, MSH2, MSH6). La loro presenza indica la capacità di riparazione post-replicativa. Pertanto la loro mancata espressione (perché sono mutati) indica instabilità del DNA (MIN+).

La proteina MLH1 è presente nei nuclei del colon normale e nei tumori CIN; è assente nei tumori MIN+.

In uno studio di Hemminki *et al* viene riportata una sopravvivenza a 3 anni del 90% dopo trattamento adiuvante con 5-Fu in pazienti con tumori Dukes C MIN+ versus il 43% per tumori MIN-².

Nel contributo di farmacogenetica di Elsahel e coll. viene riferita una sopravvivenza del 90% dei pazienti con tumore MIN+ in confronto al 35% dei MIN- (Dukes C – trattamento con 5-Fu)^{3,4}.

Fra le tecniche molecolari, molto usate sono la *Polimerase Chain Reaction* (PCR) per la caratterizzazione del DNA e la *Reverse Transcriptase PCR* (RT-PCR) per caratterizzare l'mRNA cioè il prodotto della trascrizione del DNA.

La PCR è la tecnica base per procedere alla identificazione delle mutazioni geniche (delezioni, duplicazioni, sostituzioni nucleotidiche) mediante SSCP, DGGE e sequenziamento del DNA o sequenziamento diretto. È possibile identificare un marker tumorale fra 10-100 milioni di linfociti. Si può così evidenziare un piccolo numero di cellule tumorali in biopsie tissutali, linfonodi, midollo osseo, sangue periferico e altri liquidi corporei.

Fra le metodiche che utilizzano la immunoistochimica, riveste importanza la valutazione della espressione di Ki 67 per determinare la sensibilità dei tumori del retto alla radioterapia: se l'espressione di Ki 67 indica una bassa attività proliferativa il tumore è sensibile alla radioterapia; viceversa se indica una alta attività proliferativa la radioterapia è praticamente inutile⁵.

Ruolo della chirurgia

Il trattamento chirurgico rappresenta ancora oggi la cura più efficace dei tumori solidi e le attuali terapie integrate, specie per gli stadi avanzati, migliorano i risultati.

La chirurgia deve perseguire, in tutti i casi in cui è realizzabile, una resezione curativa (Ro) e comunque una resezione.

La resecabilità costituisce uno dei fattori prognostici più favorevoli nei soggetti con carcinoma avanzato, con percentuali di sopravvivenza statisticamente più significativa.

Le percentuali di resecabilità sono incrementate dai trattamenti neoadiuvanti, quando si realizza un significativo *downstaging*⁶.

La possibilità di eseguire una resezione nei casi localmente avanzati dipende da una serie di fattori spesso di difficile valutazione. Talvolta la diagnosi preoperatoria di estensione locale non è possibile (infiltrazione tumorale o aderenze flogistiche?).

Altrettanto difficile può essere la valutazione intraoperatoria per i rischi di disseminazione legati ad una biopsia per esame istologico estemporaneo e la necessità di eseguire una exeresi in blocco⁷.

Un ruolo importante nella possibilità di exeresi di un tumore localmente avanzato, spetta alla abilità del chirurgo, che diventa pertanto un importante fattore prognostico di sopravvivenza.

Ma lo scopo ultimo della chirurgia è rappresentato (spesso in associazione alla radioterapia) dal controllo locoregionale indirizzato ad evitare le recidive locali e con l'intento di conservare una qualità di vita accettabile.

Di fronte alle nuove proposte della terapia genica, dell'immunoterapia, della chemioterapia, il chirurgo si chiede se la sua opera non sia diventata oggi soltanto ancillare e non debba essere considerata in alcuni casi come il momento neoadiuvante di un trattamento non chirurgico successivo⁸⁻¹⁰.

Al momento tuttavia la chirurgia rimane la terapia più efficace ed i suoi risultati vengono consolidati dalla integrazione con altre terapie. Le basi di questa efficacia risiedono nella possibilità di rimuovere tutto il tessuto neoplastico microscopicamente evidente, eliminando così la fonte di cellule tumorali e restituendo al paziente parte del potere immunitario che la presenza del tumore gli aveva sottratto. La chirurgia si prefigge così l'obiettivo di conseguire un trattamento curativo attraverso la conoscenza approfondita dei meccanismi di diffusione del cancro, la collaborazione con il patologo, la interpretazione dei fattori di recidiva.

Chirurgia e basi fisiopatologiche della diffusione neoplastica

Molto rara nello stadio di cancro in situ, la diffusione del tumore diventa precoce e costante quando, superando la membrana basale, invade il corion. Essa dipende dalla caratterizzazione del tumore e dallo stato immunologico del paziente.

La diffusione ematogena, conosciuta da circa 40 anni con la scoperta di cellule tumorali nel sangue periferico, è costante ed inizia con la neoangiogenesi.

Numerose segnalazioni della letteratura riportano un aumento significativo delle cellule neoplastiche in circolo durante le manipolazioni chirurgiche. Le metodiche di legatura preventiva dei peduncoli vascolari, e in particolare della vena mesenterica inferiore nella chirurgia del colon sn e del retto, non sono state accreditate di miglioramento della sopravvivenza¹¹.

La valutazione quantitativa delle cellule tumorali circolanti mediante Polimerase Chain Reaction (PCR) ha recentemente dimostrato che il fenomeno è correlato con lo stadio¹².

Il numero delle cellule circolanti e il volume del tumore non sembrano comunque influenzare la comparsa di metastasi a distanza, in considerazione del fatto che la maggioranza delle cellule neoplastiche circolanti sono eliminate dalla immunocompetenza dell'ospite¹³.

La presenza di cellule tumorali nel midollo osseo in pazienti con carcinoma colo-rettale sembra condizionare l'incidenza di metastasi a distanza, anche se non sempre corrisponde ad una metastasi ossea; la prognosi comunque è più sfavorevole nei pazienti con presenza di cellule neoplastiche nel midollo osseo¹⁴.

La diffusione linfatica, molto più di quella ematogena, coinvolge la competenza del chirurgo in quanto essa solitamente si circoscrive ad una regione e coincide con le possibilità di controllo loco-regionale della malattia. Essa dipende dalla particolare linfologia del tumore e può risultare debole (sarcomi e carcinomi a cellule chiare del rene) o marcata (adenocarcinomi e carcinomi epidermoidali specie dell'esofago)¹⁵. L'interessamento neoplastico dei linfonodi ha sempre rappresentato un momento fondamentale per il controllo loco-regionale della neoplasia, per la valutazione prognostica e per le integrazioni terapeutiche.

Spesso rappresenta una sfida del chirurgo nella estensione della exeresi linfonodale.

Nella patologia neoplastica del retto la exeresi totale del mesoretto¹⁶ (Heald) e quella dei linfonodi otturatori e ipogastrici¹⁷ rappresentano punti importanti per migliorare i risultati.

Il numero dei linfonodi asportati e quello dei linfonodi esaminati rappresentano parametri importanti per la prognosi e per l'indicazione a trattamenti adiuvanti.

La collaborazione fra chirurgo e patologo in questo campo è fondamentale.

La *cleaning technique* che permette una dissoluzione del tessuto adiposo, consente di trovare ed esaminare linfonodi da 1 a 5 mm che altrimenti non è possibile apprezzare fra i lobuli di grasso. Con tale metodica si possono analizzare anche 50 linfonodi in un preparato chirurgico di resezione colo-rettale; e se si esaminano linfonodi del diametro medio di 5 mm è possibile portare la positività dal 20 al 50%¹⁸⁻²⁰.

Nella VI edizione (2002) della classificazione TNM dei tumori maligni, è riportato il numero minimo dei linfonodi che devono

essere esaminati per le singole sedi del tumore primitivo per definire in maniera accurata l'N²¹.

Un problema importante è quello di poter evidenziare un piccolo numero di cellule (micrometastasi) in un linfonodo.

La PCR e la RT-PCR consentono di evidenziare poche cellule tumorali in biopsie tessutali, nei linfonodi, nel midollo osseo, nel sangue periferico o in altri liquidi organici, mediante identificazione di mutazioni, delezioni, traslocazioni, amplificazioni, oncogeni. Queste cellule non sono identificabili con le metodiche convenzionali, per cui la PCR rappresenta un valido aiuto per lo studio della biologia delle metastasi e per le decisioni cliniche.

La identificazione delle micrometastasi consente una stadiazione corretta, la ottimizzazione della terapia e un miglioramento della prognosi.

Nel 28% dei linfonodi di pazienti con neoplasia colo-rettale prima classificati No (Dukes B) con metodiche tradizionali, le procedure di immunoistochimica con anticorpi anticcheratina hanno evidenziato cloni di cellule neoplastiche.

Si costituisce così un sottogruppo intermedio micro N+ assimilabili al Dukes C che richiede una chemioterapia adiuvante per migliorare la sopravvivenza. Il problema non è irrilevante se si considera che la sopravvivenza a 5 anni è del 57% per i pazienti N+ e del 97% per quelli N²².

Micrometastasi e cellule tumorali isolate costituiscono due dimensioni dello stesso processo e possono essere identificate mediante tecniche di immunoistochimica o di biologia molecolare, contribuendo molte volte a modificare il TNM.

Le cellule tumorali isolate rappresentano cluster di cellule di grandezza non superiore a 0,2 mm, le micrometastasi sono localizzazioni di malattia clinicamente non rilevabile di grandezza da 0,2 a 2 mm.

La nuova classificazione dell'AJCC prevede per pNo anche l'indicazione della procedura con immunoistochimica o di biologia molecolare (RT-PCR)²³.

Altro aspetto della diffusione neoplastica è quello che riguarda l'impianto locale di cellule tumorali. Si tratta solitamente di cellule che restano intrappolate nei depositi fibrinosi che ricoprono precocemente le superfici cruentate dall'intervento, dove trovano un terreno di crescita propizio e non sono raggiungibili da alcun farmaco per via ematica²⁴.

Le cellule tumorali presenti nel campo operatorio hanno talvolta una provenienza non evidente, molto più spesso invece derivano da un affioramento del tumore alla sierosa, da una perforazione del tumore ovvero una rottura di esso per manovre chirurgiche o per biopsia. Esse hanno una particolare affinità per le adesioni fibrinose postoperatorie precoci a cui aderiscono per la presenza del complesso tripeptidico arginina-glicina-aspartato (RDG) mediato dalle integrine (numerose sulla membrana delle cellule cancerose)²⁵.

L'analisi del sangue raccolto nel campo operatorio, condotta mediante immunoistochimica con anticorpi anti-citocheratina, ha consentito di trovare cellule tumorali nel 93% dei casi²⁶.

L'impianto di cellule tumorali è spesso responsabile delle recidive locali e della carcinosi peritoneale. Fra i tentativi per evitare l'impianto di cellule tumorali è stato proposto l'uso dei fibrinolitici e degli inibitori del complesso tripeptidico RDG; essi sono comunque a basso rendimento perché i primi favoriscono il sanguinamento e i secondi hanno una emivita breve e costano molto²⁷.

Il paziente neoplastico presenta una condizione di immunodepressione di base indotta dalla neoplasia. Su di essa si inserisce una immunodepressione transitoria provocata dall'atto operatorio. Questa condizione particolare del sistema immunocompetente facilita l'impianto di cellule tumorali (manipolazioni chirurgiche) circolanti o nel campo operatorio.

Uno studio randomizzato sulla somministrazione preoperatoria di interleuchina 2 ha dimostrato un ripristino di una normale condizione di immunità^{28,29}.

Recenti contributi riportano una riduzione della immunodepressione operatoria mediante l'uso, durante l'intervento, di citostatici meno aggressivi (inibitori delle metalloproteasi)³⁰, e l'adozione della chemioterapia intraportale immediata per una settimana dopo resezione per carcinoma colo-rettale (riduzione del 13% di mortalità a 5 anni)³¹.

Esperienza clinica

La nostra esperienza si riferisce a 1383 pazienti con carcinoma colo-rettale operati negli ultimi 12 anni (Tabella 1).

Di essi 788 avevano una localizzazione al colon e alla giunzione rettosigmoidea (Tabella 2) e 595 al retto (Tabella 3).

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a resezione ad intento curativo tranne quelli in stadio Dukes D. Novantaquattro pazienti avevano una malattia localmente avanzata e sono state eseguite resezioni in blocco con le strutture infiltrate.

Nelle localizzazioni al colon è stata eseguita la linfettomia classica fino all'origine dei vasi mesenterici. Nelle localizzazioni

Tabella 1 - Patologia neoplastica colo-rettale 1990-2002

Sede	N.
Colon destro	303
Colon sinistro	342
Colon trasverso	51
Giunzione rettosigmoidea	92
Retto	595
Totale	1383

Tabella 2 - Interventi per neoplasie del colon

Tipo di intervento	N.
Emicolectomia destra	328
Emicolectomia sinistra	345
Resezione angolare sinistra	23
Resezione retto-colica sopramesorettale	92
Totale	788

Tabella 3 - Interventi per cancro del retto 1990-dicembre 2002

Tipo di intervento	N.
Proctectomia subtotale restaurativa	320
Proctectomia totale con anastomosi colo-anoale	116
Operazione di Miles	70
Operazione di Hartmann	69
Escissioni locali	13
TEM	7
Totale	595

al retto è stata sempre praticata la exeresi totale del mesoretto con conservazione dei nervi splanchnici lombari, del plesso ipogastrico e del plesso pelvico; la linfectomia laterale è stata eseguita solo nei casi di evidente interessamento di detti linfonodi. Nelle localizzazioni al retto medio è stata eseguita la proctectomia subtotali con anastomosi colo-rettale bassa meccanica, nelle localizzazioni al retto inferiore è stata praticata la proctectomia totale con anastomosi colo-anoale manuale. Nei pazienti con tumore a livello dell'anello ano-rettale la resezione è stata del tipo intersfinterico con anastomosi colo-anoale bassa manuale.

Le amputazioni addomino-perineali sono diventate sempre più rare e riservate ai casi con evidente infiltrazione del canale anale.

Negli ultimi due anni nei pazienti con tumore del retto basso che all'esame ecoendoscopico preoperatorio risultavano T3 è stata eseguita una radioterapia preoperatoria con metodica tradizionale (Tabella 4).

Riportiamo i dati clinici e i risultati del trattamento delle neoplasie localizzate al retto per una loro maggiore omogeneità.

Lo stadio secondo Dukes è riportato in fig. 4 ed è caratterizzato da una elevata incidenza di neoplasie in stadio C. Il grading è indicato in fig. 5 e presenta una netta prevalenza per le forme più differenziate.

Le complicanze e la mortalità sono indicate nella Tabella 5.

Le recidive locoregionali, riferite ai singoli stadi, sono riportate nella fig. 6; esse interessano nella quasi totalità i pazienti in stadio C e quasi tutte si sono manifestate entro 2 anni dall'intervento.

La sopravvivenza a 5 anni è stata del 72%.

Tabella 4 - Cancro del retto 1999-dicembre 2002

Radioterapia pre-operatoria	8
Radioterapia post-operatoria	16

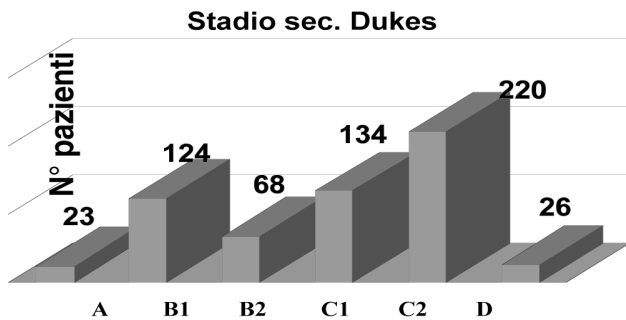


Fig. 4. Distribuzione per stadio.

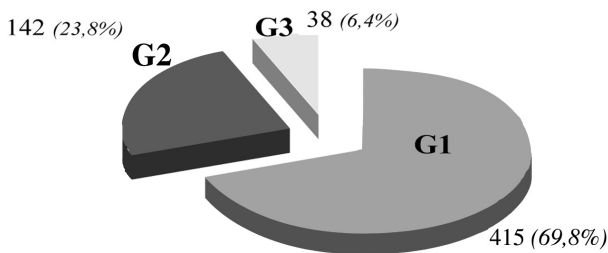


Fig. 5. Classificazione in base al grading.

Tabella 5 - Complicazioni e mortalità post-operatoria

Complicazioni (48/595 = 8%)		Mortalità (16/595 = 2,7%)	
Infezione della ferita	20	Sepsi	8
Fistola urinaria	7	Insuff. cardiovascolare	4
Occlusione intestinale	7	Insuff. respiratoria	2
Deiscenza anastomotica	12	Ictus	2
Ascesso subfrenico	2		

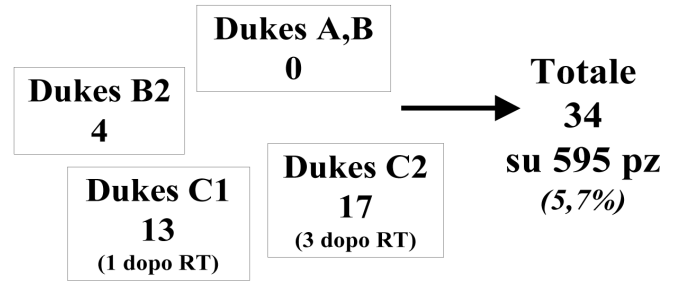


Fig. 6. Recidive (Dukes).

Tabella 6 - Approccio laparoscopico



Da 2 anni, in casi selezionati, viene utilizzato un accesso chirurgico laparoscopico (Tabella 6).

Ciò ha comportato le difficoltà della curva di apprendimento, ma la tecnica è stata messa a punto seguendo la medesima metodologia della tecnica open. Ci riferiamo particolarmente alla cura nella preparazione e preservazione delle strutture nervose della pelvi, nella exeresi totale del mesoretto, nella metodica di ricostruzione della continuità intestinale.

I risultati funzionali legati alla metodica nerve-sparing sono riportati in contributi precedenti³².

Considerazioni

I progressi della biologia molecolare nel campo del carcinoma colo-rettale ha stimolato l'interesse di chirurghi alla acquisizione di basi fisiopatologiche sempre più affinate. Le correlazioni clinico-patologiche consentono oggi in casi particolari di poter prevedere l'efficacia delle terapie adiuvanti e di adottare adeguate strategie per ridurre l'incidenza delle recidive.

Le attuali conoscenze molecolari e anatomo-patologiche hanno legato il chirurgo a regole precise e a basi razionali talora più complesse della stessa realizzazione tecnica.

Lo sviluppo della tecnologia ha consentito interventi conservativi dello schema corporeo e della funzione senza eludere minimamente i principi di sicurezza sul piano oncologico.

La ricerca molecolare su campioni della nostra casistica viene condotta nel laboratorio di genetica medica dell'Università di Bari dalla Prof. Ginevra Guanti, che ha evidenziato una incidenza di instabilità del microsatellite (MIN+) nel 12% dei nostri pazienti.

La mortalità per neoplasie colo-rettali resta comunque molto alta nonostante i progressi della ricerca clinico-scientifica e le correlazioni fra il chirurgo e il ricercatore.

E' auspicabile una ricaduta sempre più valida dei progressi della ricerca di base sul piano clinico migliorandone o modificandone le strategie di cura, soprattutto nel senso di fare o di non fare o di come fare. Certamente una riduzione di mortalità si otterrà attraverso misure di prevenzione primaria del carcinoma colo-rettale.

A malattia conclamata i progressi della ricerca clinico-scientifica possono conseguire solo il risultato di un miglioramento della sopravvivenza. E questo ci sembra un dato in progressivo sviluppo.

Bibliografia

1. Massa MJ, Iniesta P, Gonza'lez-Quevedo R, *et al.* Differential prognosis of replication error phenotype and loss of heterozygosity in sporadic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 1999; 35: 1676-82.
2. Hemminki A, Mecklin J-P, Jarvinen H, *et al.* Microsatellite instability is a favourable prognostic indicator in patients with colorectal cancer receiving chemotherapy. *Gastroenterology* 2000; 119: 921-8.
3. Elsaleh H, MB, BS, Shannon B, *et al.* Microsatellite instability as a molecular marker for very good survival in colorectal cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *Gastroenterology* 2001; 120: 1309-10.
4. Krynetski EY, Evans WE. Pharmacogenetics of Cancer Therapy: Getting Personal. *Am J Hum Gene.* 1998; 63: 11-6.
5. Tannapfel A, Nussleim S, Katalinic A, *et al.* Proliferation and apoptosis before and after preoperative simultaneous radiochemotherapy of rectal carcinoma. *Strahcenterh Onkol* 1998; 174: 295-9.
6. Blanke CD, Kasimis B, Schein P, *et al.* Phase II study of trimetrexate, fluorouracil and leucovorin for advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1997; 15: 915-20.
7. Eldar S, Kemeny MM, Terz JJ. Extended resections for carcinoma of the colon and rectum. *Surg Gynecol Obstet* 1985; 161: 319-22.
8. Kellen JA. Gene therapy in cancer. *J Exp Ther Oncol* 2002; 2: 312-6.
9. Spitz FR. Progress and prospects in cancer gene therapy. *Cancer Biol Ther* 2002; 1: 315-6.
10. Ishii H, Dumon KR, Vecchione A, *et al.* Potential cancer therapy with the fragile histidine triad gene review of the preclinical studies. *JAMA* 2001; 286: 2441-9.
11. Sugarbaker PH, Corlew S. Influence of surgical techniques on survival in patients with colorectal cancer. *Dis Col-Rect* 1982; 25: 545-57.
12. Komeda T, Fukuda Y, Sando T, *et al.* Sensitive detection of circulating hepatocellular carcinoma cells in peripheral venous blood. *Cancer* 1995; 75: 2214-9.
13. Graves D, Huben RP, Weiss L. Haematogenous dissemination of cells from human renal adenocarcinomas. *Br J Cancer* 1988; 57: 32-5.
14. Lindemann F, Schlimok G, Dirschedl P, *et al.* Prognostic significance of micrometastatic tumour cells in bone marrow of colorectal cancer patients. *Lancet* 1992; 340: 685-9.
15. Isono K, Sato H, Nakayama K. Results of a nationwide study on the three-field lymph node dissection of esophageal cancer. *Oncology* 1991; 48: 411-20.
16. Heald RJ, Karanjia ND. Results of radical surgery for rectal cancer. *World J Surg* 1992; 16: 848-57.
17. Hojo K, Sawada T, Moriya Y, *et al.* An analysis of survival and voiding, sexual function after wide iliopelvic lymphadenectomy in patients with carcinoma of the rectum, compared with conventional lymphadenectomy. *Dis Col-Rect* 1989; 32: 128-33.
18. Hermanek P, Wittekind C, Seib HJ. Current TNM aspects. 5. TNM Classification and stage grouping. *Zentralbe Chir* 1997; 122: 934-7.
19. Morikawa E, Yasutomi M, Shindou K, *et al.* Distribution of metastatic lymph nodes in colorectal cancer the modified clearing method. *Dis Col-Rect* 1994; 37: 219-23.
20. Herrera L, Villarreal JR. Incidence of metastases from rectal adenocarcinoma in small lymph nodes detected by a clearing technique. *Dis Col-Rect* 1992; 35: 783-8.
21. TNM Classification of malignant tumors. Sixth Edition, Springer 2002.
22. Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, *et al.* Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Duke's B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CD 49. Correlation with long-term survival. *Cancer* 1994; 73: 563-9.
23. AICC : Cancer staging manual. Sixth Edition, Springer 2003.
24. Jacquet P, Elias D, Sugarbaker PH. Tumor implantation in cicatrization sites following surgery for digestive cancers. *J Chir* 1996; 133: 175-82.
25. Jacquet P, Stephens AD, Averbach AM, *et al.* Analysis of morbidity and mortality in 60 patients with peritoneal carcinomatosis treated by cytoreductive surgery a heated intraoperative intraperitoneal chemotherapy. *Cancer* 1996; 15: 2622-9.
26. Hansen E, Wolff N, Knuechel R, *et al.* Tumor cells in blood shed from the surgical field. *Arch Surg* 1995; 130: 387-93.
27. Tsuchiya Y, Sawada S, Tsukada K, *et al.* A new pseudo-peptide of Arg-Gly- Asp (RGD) inhibits intrahepatic metastasis of orthotopically implanted murine hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2002; 20: 319-24.
28. Fehniger TA, Cooper MA, Caligiuri MA. Interleukin-2 and interleukin-15: immunotherapy for cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13: 169-83.
29. Fisher RI, Rosenberg SA, Fyfe G. Long-term survival update for high-dose recombinant interleukin-2 in patients with renal cell carcinoma. *Cancer J Sci Am* 2000; 6: 55-7.
30. Elias D, Farace F, Triebel F, *et al.* Phase I-II randomized study on prehepatectomy recombinant interleukin-2 immunotherapy in patients with metastatic carcinoma of the colon and rectum. *J Am Coll Surg* 1995; 181: 303-10.
31. Andre T, Colin P, Louvet C, *et al.* Randomized adjuvant study comparing two schemes of 5-fluorouracil and leucovorin in stage B2 and C colon adenocarcinoma : study design and preliminary safety results. *Groupe d'Etude et de Recherche Clinique en Oncologie Radiotherapies. Semin Oncol* 2001; 28: 35-40.
32. Natale C, Ciavarella G, Cianci F, *et al.* Il trattamento chirurgico conservativo in oncologia. *Eur J Oncol* 2003; 8.

Le basi anatomiche della chirurgia pancreatico nerve sparing

Nerve sparing pancreatic surgery: anatomical bases

Mario Solej, Marco Ferronato e Mario Nano

Dipartimento di Fisiopatologia Clinica, Università degli Studi di Torino, Torino, Italia

Riassunto

Finalità. Nella chirurgia del pancreas la corretta conoscenza dell'anatomia delle strutture nervose extrapancreatiche ha acquisito sempre maggior importanza sia per la genesi del dolore, sia per la precoce invasione perineurale e linfonodale, che comportano la necessità di interventi chirurgici resettivi estesi con asportazione del tessuto retropancreatico contenente il sistema nervoso extrapancreatico. Scopo del nostro studio è quello di contribuire alla conoscenza dell'anatomia delle strutture nervose pancreatiche finalizzata alla chirurgia. **Materiali e metodi.** Dall'aprile 2000 al giugno 2001 sono stati esaminati 18 cadaveri entro le 24 dalla morte e 2 cadaveri conservati. Sono stati analizzati, in particolare, il plesso celiaco, il plesso pancreatico capitale, il plesso mesenterico superiore. **Risultati.** Il plesso pancreatico capitale è costituito da due fasci che si congiungono a livello della faccia posteriore del testa del pancreas; il primo origina dal plesso celiaco destro, il secondo dal plesso mesenterico superiore. Il plesso mesenterico superiore è costituito da due fasci preganglionari, un ganglio e due fasci postganglionari, che ricevono fibre da entrambi i gangli celiaci. **Conclusioni.** Secondo i nostri studi la preservazione dei fasci di sinistra del plesso mesenterico superiore è tecnicamente eseguibile, come provato nelle dissezioni da noi condotte; esiste quindi il presupposto per sostenere che la sola conservazione del plesso mesenterico sinistro permetta di mantenere, ove è indicato, l'innervazione intestinale. Eur. J. Oncol., 8 (4), 269-275, 2003

Parole chiave: pancreas, chirurgia, anatomia, preservazione nervosa, pancreatite cronica, cancro

Introduzione

Nella chirurgia del pancreas per patologia benigna o maligna la corretta conoscenza dell'anatomia delle strutture nervose extra-

Summary

Aim. Detailed knowledge of the anatomy of extrapancreatic nerve structure continues to gain importance both for the origin of pain and for early perineural and lymphatic invasion which require surgery with extensive resections and the removal of the retropancreatic tissue containing the extrapancreatic nervous system. The aim of our study is to contribute to such knowledge. **Materials and methods.** Between April 2000 and June 2001, 18 cadavers (within 24 hours of death) and 2 frozen cadavers were examined. In particular the celiac plexus, the capital pancreatic plexus and the superior mesenteric plexus were analysed. **Results.** The capital pancreatic plexus is made up of two bundles, the first starting from the right celiac plexus, the second from the superior mesenteric plexus. These two bundles join together just behind the head of the pancreas. Two preganglionic bundles, a ganglion, and two postganglionic bundles form the superior mesenteric plexus. Postganglionic bundles receive fibres from both right and left celiac plexuses. **Conclusions.** It proves to be technically feasible to preserve the bundles on the left of the superior mesenteric plexus, as is shown by the dissections we have performed. This will allow the intestinal nervation to be maintained around the left mesenteric plexus. Eur. J. Oncol., 8 (4), 269-275, 2003

Key words: pancreas, surgery, anatomy, nerve sparing, chronic pancreatitis, cancer

pancreatiche ha acquisito sempre maggior importanza. Infatti il gastroenterologo ed il chirurgo devono trattare il dolore pancreatico, che peggiora la qualità di vita dei pazienti e che risulta spesso poco sensibile alla terapia medica di prima linea. Inoltre nel carcinoma pancreatico è nota la precoce e frequente invasione perineurale (presente fino al 65% dei casi) e linfonodale (76%), che comporta la necessità di interventi chirurgici resettivi estesi con asportazione del tessuto retropancreatico contenente non solo il sistema linfatico, ma il sistema nervoso extrapancreatico. Tale re-

Pervenuto/Received 16.6.2003 - Accettato/Accepted 18.7.2003
Indirizzo/Address: Prof. Mario Nano, Dipartimento di Fisiopatologia Clinica, Via Genova 3, 10126 Torino, Italia - Tel. 0039/011/6966951
Fax 0039/011/6960170 - E-mail: mario.nano@unito.it

sezione risulta oncologicamente corretta, ma comporta complicanze postoperatorie, essendo caratterizzata da una elevata morbilità, in parte legata proprio alla denervazione autonoma.

In letteratura sono pochi gli autori che si sono dedicati allo studio dell'anatomia del sistema nervoso del pancreas finalizzata alla chirurgia, essendosi la maggior parte dedicati allo studio delle tecniche chirurgiche mirate alla cura delle patologie pancreatiche, alla gestione del dolore e alle loro complicanze.

Yshioka e Wakabayashi¹, nel 1958, hanno pubblicato un lavoro in cui si descriveva, per la prima volta, e in maniera dettagliata, una ricerca sull'anatomia del sistema nervoso extrapancreatico applicata alla chirurgia, dimostrando l'esistenza di una struttura nervosa, da loro definita "plesso pancreatico capitale" (ppc), punto di congiunzione della maggior parte delle fibre postganglionari da entrambi i gangli celiaci dirette verso il pancreas ed in stretto rapporto con le altre strutture nervose extrapancreatiche, tra cui il plesso mesenterico superiore. In questo lavoro i due autori facevano cenno anche alle complicanze derivate dalla neuretomia, soffermandosi principalmente sulla diarrea da denervazione.

Scopo del nostro studio è di contribuire alla conoscenza dell'anatomia delle strutture nervose pancreatiche finalizzata alla chirurgia, con l'intento di evitare le complicanze postoperatorie da denervazione autonoma.

Embriologia ed anatomia

I dati esposti di seguito sono desunti da trattati anatomici e da lavori specialistici sull'argomento; tali lavori hanno rappresentato la base nozionistica dalla quale si è sviluppata la nostra ricerca.

Per comprendere correttamente le relazioni tra il pancreas e il suo sistema linfatico e nervoso è necessario accennare brevemente all'evoluzione embriologica del pancreas.

Il pancreas origina da due differenti abbozzi, ventrale e dorsale, che si uniscono durante lo sviluppo per formare il pancreas anatomico^{2,3}.

Borghi *et al* hanno studiato i rapporti fra abbozzi pancreatici e strutture linfatiche e nervose dalla 6°-7° alla 12°-28° settimana⁴. Secondo le loro osservazioni, le fibre nervose che originano dai gangli periaortici raggiungono la faccia posteriore del pancreas dorsale. Esse si sviluppano dapprima con le lacune linfatiche e quindi con i vasi linfatici.

Lo sviluppo di queste strutture ha sede all'interno del mesenchima del mesogastrio dorsale, che darà origine al tessuto connettivale retropancreatico.

Queste osservazioni testimonierebbero l'ipotesi di una precoce diffusione metastatica del carcinoma della testa del pancreas in queste strutture^{5,6,7}.

Il tessuto nervoso extrapancreatico è rappresentato dal plesso celiaco, esteso plesso nervoso impari che si estende al davanti dell'aorta, nel tratto compreso fra l'arteria celiaca e l'arteria mesenterica superiore, e che comprende una serie di plessi secondari, dipendenti dal plesso principale, tra cui il plesso mesenterico, il plesso epato-duodenale, il plesso surrenalico ed i relativi gangli³.

A questi va aggiunto il ppc, studiato da Yoshioka e Wakabayashi¹; secondo questi autori, esso rappresenta l'unione a larga banda delle fibre postgangliari provenienti da entrambi i gangli celiaci, e comprende due porzioni:

1) prossimale: contiene fibre che decorrono dal ganglio celiaco

co destro ed entrano al margine mediale superiore del processo uncinato;

2) distale: è costituita da fibre che partono dal plesso mesenterico superiore (pms) e si dirigono al margine mediale inferiore del processo uncinato e contiene sia fibre di provenienza dai gangli celiaci sia fibre di pertinenza del plesso aorto-mesenterico.

I gangli celiaci sono collocati a destra e a sinistra dell'arteria celiaca. Di frequente sono suddivisi in due masserelle irregolari riunite da una parete di spessore variabile. Il ganglio destro è generalmente più voluminoso di quello sinistro e costituisce da solo la metà superiore del plesso celiaco.

Frequentemente ciascun ganglio celiaco è costituito da due ammassi gangliari, uno interno, iuxta-celiaco, che riceve i rami del vago, l'altro esterno denominato ganglio surrenale principale o ganglio surreno-splancnico, che riceve i rami dello splancnico e fornisce numerosi filuzzi alla surrenale.

Tra i plessi dipendenti dal plesso celiaco vi è il pms, costituito da fibre disposte in una rete molto densa, resa ancora più compatta dal connettivo che proviene dal diaframma e dal muscolo di Treitz.

Il plesso circonda l'arteria mesenterica superiore (ams) ed è strettamente adeso alla tunica esterna dell'arteria.

Nagakawa *et al*⁸ hanno dimostrato, con studi istologici tridimensionali, che il pms è costituito da numerosi fasci posizionati parallelamente all'ams; hanno dimostrato inoltre che si unisce con il plesso celiaco alla base dell'arteria stessa.

Attraverso questa fitta rete di distribuzione si realizza la trasmissione di impulsi viscerali effettori e sensitivi che controllano l'irrorazione e la funzione di molti organi addominali.

Per quanto riguarda il drenaggio linfatico, Hagihara⁹, in uno studio con radioisotopi, ha descritto due vie di drenaggio linfatico: una via dalla testa del pancreas ai linfonodi attorno all'ams ed una intorno all'asse celiaco.

Nagai *et al*¹⁰ e soprattutto Nagakawa *et al*^{6,8} hanno studiato le relazioni anatomiche fra il pms e i linfonodi in prossimità dell'ams, dimostrando che i linfonodi sono presenti lungo l'intera circonferenza dell'ams dal digiuno alla base del plesso, laddove il plesso celiaco si congiunge al pms, mentre nessun linfonodo è presente all'interno del plesso.

Materiali e metodi

Dall'aprile 2000 al giugno 2001 sono stati esaminati, presso l'Istituto di Anatomia Patologica dell'Università di Torino e presso l'Istituto di Biologia Cellulare e Morfologica dell'Università di Losanna, 18 cadaveri (15 maschi e 3 femmine) entro le 24 ore dalla morte e 2 cadaveri conservati.

I cadaveri a fresco sono stati esaminati interi, i cadaveri congelati sono stati sezionati al 3° superiore della coscia, alle articolazioni scapolo-omerali e a livello della 7° vertebra cervicale, avendo così a disposizione il solo tronco (torace e addome).

La via d'accesso è stata un'incisione arcuata bisiliaca. Il grande omento è stato asportato, lo stomaco è stato ribaltato verso l'alto dopo aver sezionato il piccolo omento a ridosso della piccola curva, quindi il peritoneo posteriore è stato delicatamente asportato.

Sono state isolate le arterie del tronco celiaco, l'arteria e la vena mesenterica superiore.

Il pancreas e la milza sono stati mobilizzati da sinistra verso

destra, ponendo particolare attenzione all'innervazione retropancreatica.

Sono stati identificati i nervi splancnici, il plesso celiaco e le sue componenti; particolare attenzione è stata posta allo studio dei rapporti topografici delle strutture nervose con le strutture circostanti.

Poiché il lavoro è finalizzato alla chirurgia del pancreas sono stati analizzati, in particolare, il plesso celiaco, il ppc ed il pms.

Sono state eseguite numerose fotografie e sono stati tracciati disegni delle dissezioni anatomiche.

Risultati

I gangli celiaci sono posti fra la 12° vertebra toracica e la 1° lombare. I gangli non sono simmetrici: il sinistro si trova tutto a sinistra, mentre il destro si spinge oltre al piano mediano.

I due gangli hanno forma grossolanamente quadrangolare, quello destro è notevolmente più grande (più del doppio) del sinistro. L'intervallo fra i due gangli è di circa 1 cm; un segmento nervoso, di spessore variabile (segmento di congiunzione) unisce i due gangli.

Il nervo vago è sempre stato reperito, mentre il nervo grande splancnico è stato reperito 15 volte a sinistra e 10 volte a destra; esso si trova all'esterno del nervo vago e si inserisce nel ganglio più in basso.

Di particolare interesse risulta la costituzione del ppc e del pms. Il ppc, sempre facilmente riconoscibile, è costituito da due fasci, il primo nasce dal margine inferiore destro del ganglio destro e decorre dall'alto in basso e dall'interno all'esterno, mentre il secondo nasce dal pms, che origina dalla porzione inferiore del ganglio destro, e decorre dal basso verso l'alto e dall'interno all'esterno. Le dimensioni dei due fasci si equivalgono e solo in 1/3 dei casi il fascio superiore appare leggermente più grande di quello inferiore. Ribaltando il pancreas da sinistra verso destra, i due fasci vengono messi in tensione e diventano più facilmente evidenti (fig. 1).

I due fasci si congiungono a livello della faccia posteriore della testa pancreatica in prossimità dell'istmo. L'esatto punto di congiunzione e di penetrazione non è facilmente identificabile: nel nostro studio è risultato essere sempre verso il basso, in prossimità del processo uncinato.

Il pms appare costituito da due fasci, quello destro, che nasce dal margine inferiore del ganglio di destra, e quello sinistro che origina dal bordo destro del ganglio di sinistra nel punto in cui il ganglio si unisce al segmento di congiunzione. Tale fascio è di dimensioni molto minori di quello di destra, ma sempre isolabile nelle dissezioni. I due fasci si congiungono al davanti dell'ams subito sotto la sua origine, dando origine al ganglio mesenterico.

Dal suo bordo destro origina il secondo fascio del ppc. Il bordo inferiore dà origine a due fasci (plesso mesenterico destro e sinistro) che decorrono lungo i lati dell'ams.

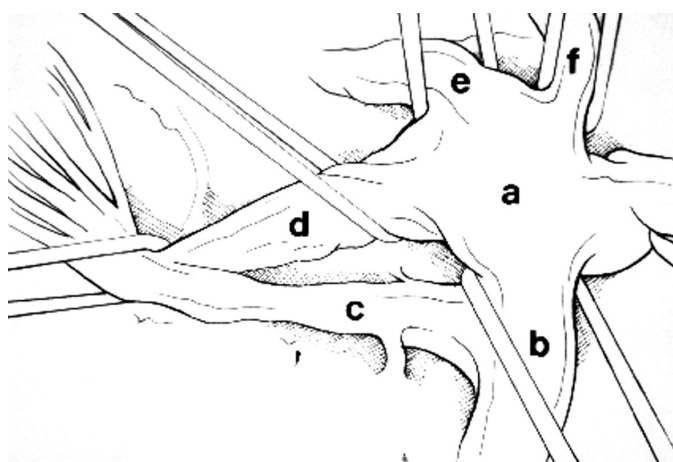
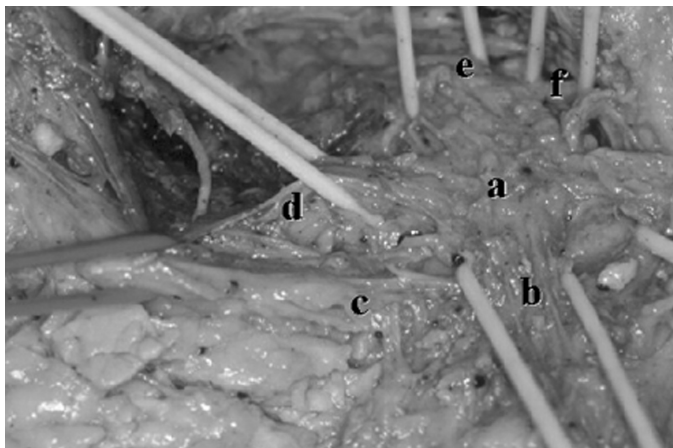


Fig. 1. Plesso pancreatico capitale (ppc). a) ganglio celiaco destro; b) plesso mesenterico; c) ppc 2° fascio; d) ppc 1° fascio; e) plesso epatosurrenatico; f) nervo grande splancnico.

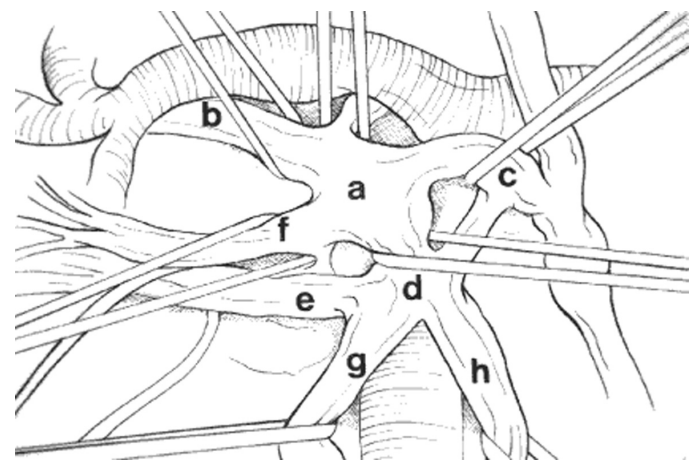
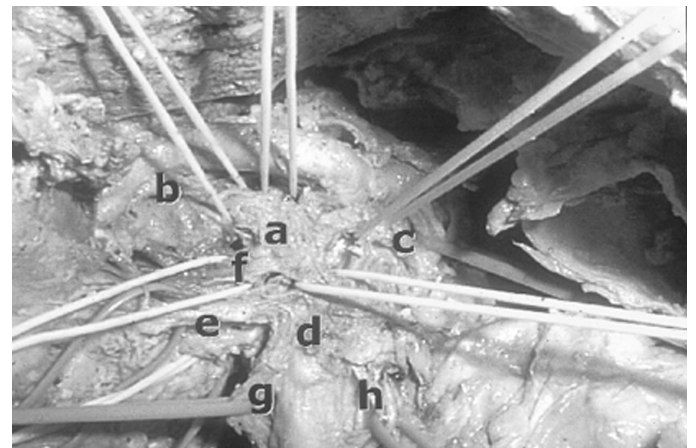


Fig. 2. Cadavere congelato: plesso mesenterico. a) ganglio celiaco destro; b) plesso epatosurrenatico; c) segmento di congiunzione; d) ganglio mesenterico; e) ppc 2° fascio; f) ppc 1° fascio; g) fascio mesenterico postgangliare destro; h) fascio mesenterico postgangliare sinistro.

In sintesi quindi: 1) l'innervazione pancreatica è data principalmente dal ppc che origina dal ganglio celiaco destro e dal plesso mesenterico destro; 2) il pms è dato da due fasci che ricevono fibre da entrambi i gangli celiaci (fig. 2).

Discussione

La chirurgia pancreatica si prefigge due scopi: il trattamento del dolore nella pancreatite cronica e la radicalità oncologica nelle patologie maligne.

Nella pancreatite cronica, la terapia di prima linea consiste in un trattamento conservativo e sintomatico, ma i risultati di studi con *follow-up* a lungo termine hanno dimostrato che il 50% dei pazienti deve essere sottoposto a trattamento chirurgico¹¹.

L'intervento chirurgico è essenziale se il dolore non risponde agli analgesici o se coesistono complicanze a livello di organi adiacenti come l'ostruzione del dotto biliare comune, del dotto pancreatico, del duodeno o l'interessamento dei vasi peripancreatici^{12, 13}.

Gli interventi derivativi pancreatico-digiunali sono interventi di prima scelta al fine di preservare la funzione pancreatica (esocrina ed endocrina), ma le indicazioni sono ristrette e si limitano ai pazienti con pancreatite cronica e dilatazione duttale (diametro >7 mm). Basandosi sul principio che il dolore potesse essere l'effetto di un aumento di pressione duttale e parenchimale, Partington e Rochelle, nel 1960, svilupparono, sulla base dell'intervento derivativo eseguito da Puestow e Gillesby nel 1958, una pancreaticodigiunostomia longitudinale su ansa alla Roux isoperistaltica ottenendo un completo drenaggio dei dotti di Wirsung e Santorini lungo l'intero pancreas^{14, 15}.

Nonostante la tecnica fosse condotta per la salvaguardia della funzione endocrina ed esocrina, con bassa mortalità e morbilità post-operatoria¹⁶⁻¹⁸, nel 40% dei casi non si otteneva un buon controllo del dolore, probabilmente perchè nella patogenesi del dolore svolgono un ruolo concomitante sia l'aumento di volume su base flogistica della testa pancreatica, sia modificazioni fisiologiche e morfologiche delle strutture nervose (edema, distruzione del perinevrrio, aumento del contenuto di neurotrasmettitori nelle fibre coinvolte)¹⁹⁻²².

Markowitz *et al*²³, nel 1994, hanno condotto un lavoro per valutare le cause di dolore ricorrente dopo decompressione pancreaticodigiunale secondo Partington-Rochelle nelle pancreatiti croniche, confermando studi precedenti sulla duplice patogenesi del dolore. Su 15 pazienti selezionati, il 93% è stato sottoposto a nuovo intervento di tipo demolitivo dopo un intervallo medio di 23 mesi dal primo intervento per ricomparsa del dolore. Dopo l'intervento resettivo (nella maggior parte dei casi una *Pylorus-Preserving Pancreatic Resection* - PPR) il 20% dei pazienti in precedenza euglicemici ha sviluppato diabete, mentre il 50% è andato incontro ad insufficienza esocrina. È stato ottenuto un completo controllo del dolore solo nel 40% dei pazienti rioperati.

Nel caso di fallimento della tecnica derivativa la successiva possibilità terapeutica è l'intervento resettivo. Per lungo tempo la pancreaticoduodenectomia secondo Whipple (proposta per la prima volta nel 1912 da Kausch)²⁴⁻²⁶ è stato il trattamento chirurgico standard per il trattamento delle complicanze della pancreatite cronica, pur essendo gravato da una significativa mortalità (10-44%) e morbilità legata all'insorgenza di diabete (nel 20% dei ca-

si) e di disordini gastrointestinali quali vomito, diarrea e reflusso biliare.

Per supplire alle complicanze dell'intervento di Whipple, furono introdotte procedure organo-preservanti, come la PPR²⁷. Il razionale di tale tecnica, sviluppata nel 1978 da Traverso e Longmire, consiste nel conservare lo stomaco, il piloro e la prima porzione del duodeno. La PPR protegge così dalle comuni complicanze della tecnica standard, mantenendo la continuità gastrointestinale attraverso una duodeno-digiunoanastomosi. In vari studi condotti per confrontare i due tipi di tecnica²⁸⁻³¹ è stato dimostrato come la PPR migliori la qualità di vita dei pazienti, portando ad un completo controllo del dolore nell'85%-95% dei pazienti, a 5 anni dall'intervento, pur con una percentuale variabile dal 30% al 50% di soggetti con rallentato svuotamento gastrico nell'immediato postoperatorio.

Nella considerazione degli svantaggi ottenuti dalla loro applicazione nella pancreatite cronica, Beger, nel 1972, ha introdotto la *Duodenum-Preserving Pancreatic Head Resection* (DPPHR)³²⁻³⁶, tecnica organo-preservante con limitata estensione della resezione parenchimale. Preservando il piloro, il duodeno e i dotti biliari extraepatici, questo tipo di procedura mantiene la normale anatomia del tratto digestivo superiore e permette il normale passaggio del cibo attraverso stomaco e duodeno. In numerosi studi^{12, 32-35} è stato dimostrato che la DPPHR è una procedura sicura (mortalità intraoperatoria prossima allo 0%), con un ottimo controllo postoperatorio del dolore (> dell'80% a 5 anni dall'intervento) e una bassa incidenza di insufficienza endocrina^{12, 32, 34, 37}. Buchler³⁸, in un trial randomizzato per confrontare DPPHR e PPR, ha dimostrato come la prima tecnica sia superiore nel controllo del dolore (75% vs 40% della PPR).

Sulla base dei confortanti risultati ottenuti dall'intervento di Beger, Frey e Smith, nel 1985, hanno introdotto una modificazione della DPPHR: la pancreaticodigiunostomia longitudinale con una resezione limitata alla testa pancreatica³⁹⁻⁴¹. Combinando i vantaggi delle due tecniche⁴² si sono ottenuti ottimi risultati sia sul controllo del dolore (93% vs 95% della DPPHR) sia sulla qualità di vita, con il vantaggio di una più bassa morbilità postoperatoria (22% vs 32 della DPPHR)⁴².

Nei pazienti con dolore ricorrente anche dopo un'adeguata decompressione duttale o in quelli che si presentano con sintomatologia senza dilatazione dei dotti, oltre al trattamento chirurgico resettivo, esiste un'altra opzione terapeutica consistente nella denervazione pancreatica⁴³.

Diverse tecniche sono state descritte per effettuare tale intervento da quando Mallet-Guy, nel 1942, eseguì la prima splancnectomia unilaterale, convinto che tale trattamento fosse una misura curativa radicale "*rompant l'arc reflexe par section des fibres centrifuges*"⁴⁴.

Seguendo i concetti di questo autore, Yoshioka e Wakabayashi eseguirono una neurotomia a cielo aperto concentrandosi sulla sezione delle fibre appartenenti al ppc. Tale tecnica comprendeva due tempi essenziali: 1) la sezione della prima porzione del ppc e 2) la sezione della seconda porzione.

Nell'esecuzione del secondo tempo, Yoshioka sottolineava l'importanza della corretta identificazione delle fibre nervose per evitare la sezione di quelle che decorrono dal ganglio celiaco destro all'ams, che causerebbe diarrea come risultato della denervazione autonoma intestinale¹, sezionando quindi accuratamente solo quelle tra l'ams e il margine mediale del processo uncinato. Nei pazienti con pancreatite cronica sottoposti a tale intervento i

due autori hanno ottenuto una remissione della sintomatologia dolorosa in oltre il 90% dei soggetti, pur sottolineando la possibilità di comparsa di ipotensione arteriosa subito dopo la sezione del plesso.

L'affinamento delle tecniche diagnostiche (ecografia e TC) e lo sviluppo di tecniche mininvasive hanno permesso lo sviluppo di altre metodiche per effettuare la neurotomia: fra queste ha avuto maggiore diffusione il blocco del plesso celiaco (BPC) "a cielo coperto".

Il BPC eco- o TC-guidato consiste nell'iniezione a livello dell'area celiaca di un anestetico a lunga durata d'azione come la bupivacaina⁴⁵. Gress *et al*^{45,46}, in uno studio condotto per effettuare un confronto tra BPC eco- e TC-guidato, hanno dimostrato un miglior controllo del dolore nei pazienti sottoposti a BPC eco-guidato (12 settimane vs 4 settimane), con una percentuale del 26% di pazienti liberi da dolore a 12 settimane⁴⁵ del 10% a 24 settimane e del 4% a 35 settimane. Nonostante possa essere utile per il controllo del dolore, il BPC può essere gravato dalla comparsa di complicanze quali ipotensione, diarrea, emiparesi e pseudoaneurisma arterioso⁴⁷, soprattutto nel caso di utilizzo di agenti neurolitici quali alcool o fenolo. Inoltre sembra non avere la stessa efficacia su tutti i pazienti con pancreatite cronica⁴⁵, e su quelli in cui è efficace lo è per breve periodo^{48,49}.

I risultati poco promettenti nei follow-up a lungo termine del BPC e il miglioramento delle tecniche toracoscopiche hanno portato all'introduzione della splancnectomia toracoscopica bilaterale.

Alcuni autori, tra cui Stone e Chauvin⁴⁷, consigliano l'associazione di una vagotomia bilaterale, poiché alcune fibre recettive decorrono lungo i vagni, mentre altri come Moodley *et al*⁴³ ed Ihse *et al*⁵⁰ affermano che non ci sono indicazioni alla sua esecuzione, vista la possibile comparsa di disturbi legati al rallentato svuotamento gastrico. I risultati di tale tecnica sono da considerarsi promettenti.

In accordo con i dati di Cuschieri *et al*⁵¹, che hanno ottenuto una percentuale elevata (circa il 60%) di pazienti con buon controllo del dolore, Ihse *et al* hanno riportato percentuali prossime al 50% di pazienti liberi da dolore con un follow-up medio di 43 mesi⁵⁰, sottolineando anche una buona ripresa della funzione esocrina ed un aumento delle concentrazioni sieriche di insulina e c-peptide, correlati ad una buona ripresa di quella endocrina.

Dall'analisi della letteratura appare quindi evidente che nel trattamento del dolore in pazienti con pancreatite cronica non esiste ancora una tecnica chirurgica che rappresenti il "gold standard", anche se le nuove tecniche chirurgiche resettive, quali l'intervento di Frey e quello di Beger, si sono dimostrate procedure sicure e valide nel controllo della sintomatologia dolorosa. In accordo con i nostri studi, noi consigliamo l'esecuzione di una neurotomia secondo la tecnica di Yoshioka, qualora la situazione anatomica al momento dell'intervento permetta il ribaltamento del pancreas e la localizzazione del tessuto nervoso extrapancreatico.

Nella chirurgia pancreatica per patologia maligna, invece, le indicazioni sono prevalentemente mirate alla radicalità oncologica, considerando però che l'85% dei pazienti, al momento della diagnosi, presenta malattia avanzata per il rapido coinvolgimento linfonodale e per la diffusione locale lungo i vasi linfatici, i nervi peripancreatici ed il tessuto connettivo.

La resezione secondo Whipple, resta ancora l'intervento d'elezione per i tumori maligni della testa pancreatica, ampollari, duodenali e delle vie biliari, nonostante negli anni '60-'70 fosse divenuto impopolare per l'elevata morbilità e mortalità (> 20%)

e per gli scarsi risultati a 5 anni. Un nuovo impulso all'adozione di questo intervento venne dato da Fortner⁵², che per primo, nel 1973, introdusse una resezione allargata allo scopo di aumentare la percentuale di pazienti reseccabili e la sopravvivenza a lungo termine. Egli propose due tipi di intervento: il tipo 1, comprendente la resezione *en bloc* del segmento intrapancreatico della vena porta, la base del mesocolon traverso e il tessuto lasso retropancreatico, e il tipo 2, comprendente la rimozione addizionale dell'arteria epatica e/o dell'ams. Nonostante la duodenocefalopancreasectomia allargata abbia aumentato la percentuale di reseccabilità (28-40%)⁵³⁻⁵⁶ non ha ottenuto larga diffusione a seguito dei numerosi gravi effetti collaterali e dell'elevata mortalità (>26%)^{55,57} pur avendo dato un notevole apporto nella definizione della moderna chirurgia del carcinoma del pancreas ed in particolare della testa.

Un ulteriore incremento all'esecuzione della chirurgia allargata è stato dato dagli studi di Cubilla *et al*⁵⁸, che hanno dimostrato come 1/3 dei pazienti avesse metastasi non usualmente rimosse con l'intervento standard, e da quelli di Ishikawa *et al*⁵⁹, che hanno evidenziato un'apparente migliore sopravvivenza a 5 anni dopo linfadenectomia estesa.

Da quando Fortner ha introdotto la resezione allargata, molti chirurghi giapponesi hanno sviluppato questa tecnica comprendendo nella resezione anche il tessuto nervoso retropancreatico, aumentando la percentuale di reseccabilità fino al 60%, come riportato in uno studio condotto da Hanyu ed Imaizumi⁶⁰; in particolare, nel caso di tumori ad uno stadio iniziale, una resezione radicale allargata permette percentuali di sopravvivenza del 28-46%^{53,54,61}.

Recentemente i dettagli dell'intervento e l'estensione della linfadenectomia sono stati concordati dall'*European Consensus Conference* di Castelfranco Veneto⁶² e la moderna chirurgia della testa pancreatica è stata sistemizzata con tre interventi: 1) standard; 2) radicale; 3) radicale esteso (comprendente anche la clearance del tessuto lasso intorno all'aorta e all'asse celiaco).

Da quanto detto precedentemente si evidenzia che nel carcinoma del pancreas la sola linfadenectomia non è sufficiente a raggiungere la radicalità oncologica, ma richiede l'asportazione del tessuto connettivo denso retropancreatico (lamina pancreatica) che contiene strutture linfatiche e nervose.

Urich⁶³, nel 1976, ha suggerito la possibilità che il tessuto nervoso extrapancreatico potesse essere una via di diffusione delle cellule neoplastiche, ancora prima che queste colonizzino i linfonodi. Pertanto un'adeguata clearance chirurgica deve comprendere, oltre ai linfonodi, il connettivo peri- e soprattutto retropancreatico, con le sue strutture nervose^{8,64}.

Successivamente gli studi di Nagakawa *et al*⁶⁵ hanno dimostrato che le cellule del tumore pancreatico sfruttano per la diffusione le aree di debolezza del perinevrio, struttura che normalmente rappresenta una barriera per le cellule tumorali. Tali aree sarebbero situate a livello del passaggio dei vasi ematici perforanti.

Kayahara *et al*⁶⁶ hanno dimostrato che l'invasione del ppc nei tumori del pancreas sarebbe presente nel 61% dei tumori della testa contro il 3% dei tumori della papilla. Secondo questo autore è quindi di grande importanza l'asportazione anche del pms, che comporta però completa denervazione intestinale e conseguente diarrea profusa.

Kayahara *et al*⁵ hanno inoltre studiato dettagliatamente la composizione del plesso e i suoi rapporti con il sistema linfatico, ri-

conoscendo due possibili meccanismi di invasione neurale. Il primo avverrebbe attraverso la distruzione del perinevrio ed il passaggio delle cellule neoplastiche, attraverso i vasi perforanti, all'interno della cavità perineurale (invasione interna o neuronale). Il secondo avverrebbe attraverso i linfonodi che circondano il plesso nervoso (invasione esterna o linfatica). Studi tridimensionali del pms dimostrerebbero infatti la presenza di linfonodi perineurali circolari all'ams.

La sua analisi sulla diffusione tumorale ha dimostrato inoltre un'ampia incidenza di invasione perineurale indipendente dalle dimensioni del tumore e dal tipo istologico della lesione primitiva e la presenza di invasione anche nei tumori più piccoli (T₁). Pertanto secondo questi autori⁵ oltre all'asportazione della 1^a e 2^a porzione del ppc, deve essere effettuata un'escissione circonferenziale del tessuto perimesenterico negli interventi ad intento curativo.

La conservazione del plesso mesenterico può essere effettuata solo nei casi di microcarcinoma, nel carcinoma mucosocentrato del pancreas, nei tumori neuroendocrini e nei casi di pazienti in condizioni generali scadute o con malattia avanzata in cui vengono meno i principi della radicalità oncologica. Tale preservazione è proponibile anche nei carcinomi delle vie biliari e della papilla, in cui l'invasione dell'area intorno all'ams è rara (3%)⁶⁶.

È ormai dimostrato che nell'esecuzione di un intervento chirurgico ad intento radicale è necessaria, oltre ad una corretta e sistematica linfadenectomia⁶², anche una corretta ed ampia escissione del tessuto nervoso retropancreatico.

La grave diarrea postoperatoria ed i disturbi della digestione e dell'assorbimento erano già stati segnalati nei lavori di Fortner⁶² e da tutti i chirurghi che hanno eseguito un'ampia escissione del tessuto nervoso retropancreatico.

Queste disfunzioni sono dovute all'escissione dei plessi simpatici diretti al piccolo intestino e sono direttamente in rapporto all'entità della dissezione del tessuto che circonda l'ams⁶⁷.

Per tale motivo Nagakawa *et al*⁶⁷ consigliano, ove possibile, l'intera conservazione del plesso mesenterico superiore oppure un'escissione che ne lasci un sottile strato.

Secondo le nostre ricerche, il plesso mesenterico è composto da 2 fasci principali che ricevono fibre nervose, macroscopicamente visibili, sia dal ganglio celiaco destro che sinistro.

Esistono pertanto i presupposti anatomici per sostenere che la sola conservazione del plesso mesenterico sinistro permetta di mantenere, ove possibile, l'innervazione intestinale.

Non è quindi necessario mantenere un sottile strato di connettivo tutt'intorno all'ams, come sostengono Nagakawa *et al*⁶⁷, ma è sufficiente mantenere il fascio sinistro per evitare la denervazione intestinale con i conseguenti disturbi.

Conclusioni

L'analisi della letteratura evidenzia alcuni dati che possono essere integrati con i risultati delle nostre ricerche:

- 1) la maggior parte delle fibre autonome che innervano i visceri addominali passano attraverso i gangli celiaci;
- 2) la maggior parte dell'innervazione pancreatica è sostenuta dal ppc che è composto da 2 fasci distinti, originati dal ganglio celiaco destro e dal plesso mesenterico superiore;
- 3) la corretta esecuzione della neurotomia sia nella patologia benigna sia in quella maligna, quando possibile, deve esse-

re condotta con attenzione e meticolosa conoscenza dell'anatomia nervosa extrapancreatica, onde evitare i danni da denervazione autonoma;

- 4) nella chirurgia oncologica con intento radicale si rende necessaria l'asportazione di tutto il tessuto nervoso extrapancreatico, compresa un'escissione circonferenziale del tessuto perimesenterico per la presenza di linfonodi perineurali circolari all'ams;
- 5) secondo i nostri studi la preservazione dei fasci di sinistra del plesso mesenterico superiore è tecnicamente eseguibile, come provato nelle dissezioni da noi condotte; esiste quindi il presupposto per sostenere che la sola conservazione del plesso mesenterico sinistro permetta di mantenere, ove è indicato, l'innervazione intestinale.

Bibliografia

1. Yoshioka H, Wakabayashi T. Therapeutic neurotomy on head of pancreas for relief of pain due to chronic pancreatitis. *Arch Surg* 1958; 76: 546-54.
2. Chiarugi G. Istituzioni di anatomia dell'uomo. Milano: Vallardi, 1968, 8: 298-301.
3. Testut L, Jacob O. Trattato di Anatomia topografica. Ed. UTET, Torino. 1967.
4. Borghi F, Gattolin A, Garbossa D, *et al*. Embryologic bases of extended radical resection in pancreatic cancer. *Arch Surg* 1988; 133: 297-301.
5. Kayahara M, Nagakawa T, Kobayashi H, *et al*. Lymphatic flow in carcinoma of the head of the pancreas. *Cancer* 1992; 70: 2061-6.
6. Nagakawa T, Konishi I, Higashino Y, *et al*. The spread and prognosis of carcinoma in the region of pancreas head. *Jpn J Surg* 1989; 5: 510-8.
7. Nakao A, Harada A, Nomani T, *et al*. Lymph node metastases in carcinoma of the pancreas region. *Br J Surg* 1995; 82: 399-402.
8. Nagakawa T, Mori K, Kayahara N, *et al*. Three-dimensional studies on the structure of the tissue surrounding the superior mesenteric artery. *Int J Pancreatol* 1994; 15: 129-38.
9. Hagihara K. Experimental and clinicopathological studies on lymphatic flow of the pancreas. *Igatu Kenviv* 1990; 52: 61-85.
10. Nagai N, Sada N, Kuroda S, *et al*. Relationship between pancreatic-biliary lymphatic system and pancreatic nerve plexus. *Bile Panc* 1991; 12: 129-38.
11. Friess H, Berberat PO, Wirtz M, *et al*. Surgical treatment and long-term follow-up in chronic pancreatitis. *Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 971-7.
12. Buchler MW, Friess H, Muller MW, *et al*. Randomized trial of duodenum-preserving pancreatic head resection versus pylorus-preserving Whipple in chronic pancreatitis. *Am J Surg* 1995; 169: 65-9.
13. Friess H, Berberat P, Beger HG, *et al*. Chronic pancreatitis: resection of the pancreatic head with duodenal preservation. In Dervinis CG (editor). *Advances in pancreatic disease*. Stuttgart: Theme, 1996, 263-8.
14. Partington PF, Rochelle REL. Modified Puestow procedure for retrograde drainage of the pancreatic duct. *Ann Surg* 1960; 152: 1037-43.
15. Andren-Sandberg A, Hafstrom A. Partington-Rochelle: when to drain the pancreatic duct and why. *Dig Surg* 1996; 13: 109-12.
16. Prinz RA, Greenie HB. Pancreatic duct drainage in 100 patients with chronic pancreatitis. *Ann Surg* 1981; 194: 313-20.
17. Adams DB, Ford MC, Anderson MC. Outcome after lateral pancreaticojejunostomy for pancreatitis. *Ann Surg* 1994; 219: 481-7.
18. Bassi C, Falconi M, Caldiron E, *et al*. Surgical drainage and bypass. In Izicki JR, Binmoeller KF, Soehendra N. *Chronic pancreatitis. An Interdisciplinary Approach*. Berlin, New York: de Gruyter, 1997, 127-35.
19. Bockman DE, Buchler M, Malfertheiner P, *et al*. Analysis of nerves in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1988; 94: 1459-69.
20. Buchler M, Weihe E, Friess H, *et al*. Changes in peptidergic innervation in chronic pancreatitis. *Pancreas* 1992; 7: 183-92.
21. Di Sebastiano P, Fink T, Weihe E, *et al*. Immune cell infiltration and growth-associated protein 43 expression correlate with pain in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 1997; 112: 1648-55.
22. Ademmer K, Ebert M, Friess H, *et al*. CD8+CD103+T cells analogous to

- intestinal intraperitoneal lymphocytes infiltrate the pancreas in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 2141-7.
23. Markowitz JS, rattner DW, warshaw AL. Failure of symptomatic relief after pancreaticojejunal decompression for chronic pancreatitis. *Arch Surg* 1994; 129: 374-9.
 24. Kausch W. Das karinom der papilla duodeni und seine radicale entfernung. *Beitr Klein Chir* 1912; 78: 439-86.
 25. Whipple AO, Parsons WB, Mullins CR. Treatment of carcinoma of the ampulla of Vater. *Ann Surg* 1935; 102: 763-8.
 26. Whipple AO. Observation on radical surgery for lesion of the pancreas. *Surg Gynecol Obstet* 1946; 82: 623-36.
 27. Traverso LW, Longmire WP Jr. Preservation of the pylorus pancreaticoduodenectomy. *Surg Gynecol Obstet* 1978; 146: 959-62.
 28. Martin RF, Rossi RL, Leslie KA. Long-term results of pylorus-preserving pancreatoduodenectomy for chronic pancreatitis. *Arch Surg* 1996; 131: 247-52.
 29. Morel P, Rohner A. The pylorus-preserving technique in duodenopancreatectomy. *Surg Annu* 1992; 24: 89-105.
 30. Friess H, Muller MW, Buchler MW. Which is the better operation in chronic pancreatitis: pylorus-preserving Whipple or duodenum-preserving pancreatic head resection? *Dig Surg* 1996; 13: 141-9.
 31. Grace PA, pitt HA, Longmire WP. Pylorus preserving pancreatoduodenectomy: an overview. *Br J Surg* 1990; 77: 968-74.
 32. Beger HG, Krautzberger W, Gogler H. Resection of the head of the pancreas (cephalic pancreatomy) with conservation of the duodenum in chronic pancreatitis, tumours of the head of the pancreas and compression of the common bile duct. *Chirurgie* 1981; 107: 597-604.
 33. Beger HG, Buchler M, Bittner R, *et al.* Duodenum-preserving resection of the head of the pancreas in severe chronic pancreatitis. Early and late results. *Ann Surg* 1989; 209: 273-8.
 34. Buchler MW, Baer HU, Seiler C, *et al.* Duodenum-preserving resection of the head of the pancreas: standard procedure in chronic pancreatitis. *Chirurg* 1997; 68: 364-8.
 35. Beger HG, schlosser W, Friess HM, *et al.* Duodenum-preserving head resection in chronic pancreatitis changes the natural course of the disease. A single-centre 26 year experience. *Ann Surg* 1999; 230: 512-23.
 36. Beger HG, Krautzberger W, Bittner R, *et al.* Duodenum-preserving resection of the head of the pancreas in patients with severe chronic pancreatitis. *Surgery* 1985; 97: 467-73.
 37. Buchler MW, Friess H, Bittner R, *et al.* Duodenum-preserving pancreatic head resection: long-term results. *J Gastrointest Surg* 1997; 1: 13-9.
 38. Buchler MW, Friess HM, Muller MW, *et al.* Randomized trial of duodenum-preserving pancreatic head resection versus pylorus-preserving Whipple in chronic pancreatitis. *Am Surg* 1995; 169: 65-9.
 39. Frey CF, Smith GJ. Description and rationale of a new operation for chronic pancreatitis. *Pancreas* 1987; 2: 701-7.
 40. Ho HS, Frey ChF. The Frey procedure. Local resection of pancreatic head combined with lateral pancreaticojejunostomy. *Arch Surg* 2001; 136: 1353-8.
 41. Ho HS, Frey ChF. Local resection of the head of the pancreas combined with longitudinal pancreaticojejunostomy: rationale and results in patients with chronic pancreatitis. *Dig Surg* 1996; 13: 134-40.
 42. Izbicki JR, Bloechle C, Knoefel WT, *et al.* Drainage versus resection in surgical therapy of chronic pancreatitis of the pancreas: a randomized study. *Chirurg* 1997; 68: 369-77.
 43. Moodley J, Singh B, Shaik AS, *et al.* Torascopic splanchnicectomy: pilot evolution of a simple alternative for chronic pancreatic pain control. *World J Surg* 1999; 23: 688-92.
 44. Mallet-Guy P. Splanchnicectomie pour pancreatite chronique. *Lyon Chir* 1943; 38: 481-3.
 45. Gress F, Schmitt C, Sherman S, *et al.* Endoscopic ultrasound-guided celiac plexus block for managing abdominal pain associated with chronic pancreatitis: a prospective single center experience. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 409-16.
 46. Gress F, Inkenberry S, Sherman S, *et al.* A prospective randomized comparison of endoscopic ultrasound-guided and computed tomography-guided celiac plexus block for managing chronic pancreatitis pain. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 895-9.
 47. STONE HH, CHAUVIN EJ. Pancreatic denervation for the relief of pain due to chronic pancreatitis. *Br J Surg* 1990; 77: 303-5.
 48. Leung JWC, Bowen-Wright M. Coeliac plexus block for pain in pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Br J Surg* 1983; 70: 730.
 49. Madsen P, Hansen E. Coeliac plexus block versus pancreaticogastrostomy for pain in chronic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1985; 20 (10): 1217-20.
 50. Ihse I, Zoucas E, Gyllstedt E, *et al.* Bilateral thoracoscopic splanchnicectomy: effects on pancreatic pain and function. *Ann Surg* 1999; 230 (6): 785-8.
 51. Cuschieri A, Shimi SM, Crosthwaite G, *et al.* Bilateral endoscopic splanchnicectomy through a thoracoscopic approach. *J R Coll Surg Edinb* 1994; 39: 44-7.
 52. Fortner JG. Regional resection of cancer of the pancreas: a new surgical approach. *Surgery* 1973; 73 (2): 307-20.
 53. Tsuchiya R, Tsunoda T, Ishida T, *et al.* Resection for cancer of the pancreas. The Japanese experience. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1990; 4: 931-42.
 54. Hanyu F, Suzuki M, Imaizumi T. Whipple operation for pancreatic carcinoma: Japanese experiment. In Beger HG, Buchler MW, Malfetheriner P (eds). *Standard in pancreatic surgery*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1993, 646-52.
 55. Fortner JG. Regional pancreatectomy for cancer of the pancreas, ampulla and other related sites. Tumour staging and results. *Am Surg* 1984; 99: 418-24.
 56. Gall FP, Zirngibl H. Cancer of the pancreas-extensive lymph node dissection. In Beger HG, Buchler MW, Malfetheriner P (eds). *Standards in pancreatic surgery*. Heidelberg: Springer Verlag, 1993, 654-61.
 57. Sindelar WF. Clinical experience with regional pancreatectomy for adenocarcinoma of the pancreas. *Arch Surg* 1989; 124: 127-36.
 58. Cubilla AC, Fortner J, Fitzgerald PJ. Lymph node involvement in carcinoma of the head of the pancreas area. *Cancer* 1978; 41: 880-7.
 59. Ishikawa O, Ohigashi H, Sasaki Y, *et al.* Practical grouping of positive lymph nodes in pancreatic head cancer treated by an extended pancreatectomy. *Surgery* 1997; 121: 244-9.
 60. Hanyu F, Imaizumi T. Extended radical resection in pancreatic cancer: the Japanese experience. In Dervenis CG (ed). *Advances in pancreatic disease*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1996, 324-31.
 61. Nakagawa T, Konishi I, Ueno K, *et al.* The results and problems of extensive radical surgery for carcinoma of the head of the pancreas. *Jpn J Surg* 1991; 21: 262-71.
 62. Pedrazzoli S, Beger H, Obertop H, *et al.* A surgical and pathological based classification of resective treatment of pancreatic cancer: summary of an international procedures in pancreatic cancer. *Dig Surg* 1999; 16: 337-45.
 63. Urich H. Disease of peripheral nerves. In Blackwood W, Corsellis JAN (eds). *Greenfields Neuropathology*, 3rd ed. London: Edward Arnold, 1976, 688-770.
 64. Ishikawa O, Ohigashi M, Sasaki Y, *et al.* Practical usefulness of lymphatic and connective tissue clearance for the carcinoma of the pancreas head. *Ann Surg* 1998; 208 (2): 215-20.
 65. Nagakawa T, Kayahara M, Ueno K, *et al.* A clinicopathologic study of neural invasion in cancer of the pancreatic head. *Cancer* 1992; 69: 930-5.
 66. Kayahara M, Nagakawa T, Ueno K, *et al.* Surgical strategy for carcinoma of the pancreas head area based on clinicopathological analysis of nodal involvement and plexus invasion. *Surgery* 1995; 117 (6): 616-23.
 67. Nagakawa T, Yosimitsu Y, Suzaki Y, *et al.* Postoperative digestive function and nutritional management after pancreaticoduodenectomy. *Jpn J Bil-Panc Physiol* 1993; 9: 96-103.

Dose-response relationships of granular bio-durable dusts in rat lungs: does a cancer threshold exist?^a

Correlazioni dose-risposta delle polveri granulari bio-persistenti nei polmoni di ratto: esiste una dose soglia per i tumori?

Markus Roller
Extramural, Dortmund, Germany

Summary

The results of our 19-dust study have confirmed the interpretation from inhalation studies and from previous instillation studies that all granular biodurable particles without known significant specific toxicity (GBP) have a carcinogenic potential in rat lungs. This potential does not depend on the chemical composition, surface characteristics or ultrafine particle size. By some authors the phenomenon is described as “overload carcinogenesis” and is believed to be associated with a threshold and of no relevance for humans. However, crystalline silica dust - with its specifically toxic surface - has been recognized as a carcinogen in rats and in humans, and the mechanisms leading to lung tumours in rats after quartz exposure and after exposure to GBP appear to be similar. It can be shown that the semblance of a threshold for a series of effects like retardation of the macrophage-mediated lung clearance, influx of neutrophilic granulocytes or frequency of *hprt*-mutations is due to the use of logarithmically scaled x-axes or other specific types of presentation. Careful review of the data reveals virtually linear dose-response relationships with relatively low doses in so many instances that the assumption of a threshold does not seem to be an appropriate basis for the purposes of health protection. Carcinogenicity studies in rats indicate an additional lung tumour risk of 1 to 3 % after exposure equivalent to long-term workplace concentrations in the range of current occupational dust limit values. Eur. J. Oncol., 8 (4), 277-293, 2003

Key words: particles, cancer, lung, rat, human

Pervenuto/Received 7.7.2003 - Accettato/Accepted 12.9.2003
Indirizzo/Address: Dr. Markus Roller, Doldenweg 14, D-44229 Dortmund, Germany - E-mail: markus.roller@t-online.de

^aThe paper was written by the author as an independent consultant in toxicology. The 19-dust study was performed in the Medical Institute of Environmental Hygiene at the Heinrich-Heine University, Duesseldorf, Germany.

Riassunto

I risultati del nostro studio su 19 polveri hanno confermato il dato proveniente da studi per via inalatoria e da studi precedenti condotti per instillazione che tutte le particelle granulari bio-persistenti senza una significativa tossicità specifica nota (GBP) hanno un potenziale cancerogeno per i polmoni di ratto. Questo effetto non dipende dalla composizione chimica, dalle caratteristiche di superficie o dalle dimensioni delle particelle ultrafini. Il fenomeno è descritto da alcuni Autori come “cancerogenesi da sovraccarico” e si ritiene che sia legato ad una soglia e che non abbia importanza per l'uomo. Però la polvere di silice cristallina, con la sua superficie specificatamente tossica, è stata riconosciuta cancerogena nel ratto e nell'uomo, ed i meccanismi che portano ai tumori polmonari nel ratto dopo esposizione a quarzo e dopo esposizione a GBP sembrano simili. Si può dimostrare che la parvenza di una soglia per una serie di effetti come il ritardo della *clearance* polmonare mediata da macrofagi, l'influsso dei granulociti neutrofili o la frequenza delle mutazioni *hprt* è dovuta all'uso di assi x con scala logaritmica o ad altri tipi specifici di presentazione. Un'attenta revisione dei dati rivela correlazioni dose-risposta virtualmente lineari con dosi relativamente basse in tanti casi che l'assunzione di una soglia non sembra una base adatta ai fini della protezione della salute. Gli studi di cancerogenicità nel ratto indicano un rischio aggiuntivo di tumore polmonare dell'1-3% dopo un'esposizione equivalente a concentrazioni a lungo termine nei luoghi di lavoro nel range degli attuali valori consentiti per l'esposizione professionale a polveri. Eur. J. Oncol., 8 (4), 277-293, 2003

Parole chiave: particelle, tumori, polmone, ratto, uomo

Introduction

The results of our 19-dust study have confirmed the interpretation from inhalation studies and from previous instillation studies that all *granular bio-durable particles without known significant specific toxicity* (GBP) have a carcinogenic potential in rat lungs^{1,2}. This potential does not depend on the chemical composition, surface characteristics or ultrafine particle size. For this type of particle, the abbreviation *PSP* has been used in the literature and defined as *non-fibrous poorly soluble particles of low acute toxicity, chemically distinct*³. The definitions of GBP and PSP are very similar, but not identical. It is described by Pott and Roller (in preparation) why the term GBP is preferable here and why the abbreviation GBP covers not only the first three words, but includes the addition “*without known significant specific toxicity*”. GBP can be differentiated as fine particles (GBP-F) and ultrafine particles (GBP-UF). Regardless of the terminology, it is most important that tumour induction by such particles is described as “overload carcinogenesis” and is believed to be of no relevance for humans by some authors. In this paper, the overload hypothesis is described and the evidence presented in the literature is discussed. Recent information on dose-response relationships in our 19-dust study is also considered.

The overload hypothesis

Right from the first publications dealing with increased lung tumour incidence after exposure of rats to diesel particles the hypothesis of a threshold for this type of carcinogenesis has been discussed. The sigmoidal shape of the exposure-response relationships in inhalation studies with diesel engine emissions was one argument⁴. Another argument was found in even earlier observation of the retardation of lung clearance of retained dusts⁵⁻⁷. The retardation of particle clearance was characterized by the term *overload* and was associated with a threshold. Later interpretations were particularly based on the work of Morrow *et al*⁸. This is explained in the following.

In terms of pharmacokinetics the influx of substances in air inhaled into the lung can be described as zero order invasion and clearance can be viewed as first order elimination. This means that the amount of substance eliminated during an infinitesimally small period of time should be proportional to the amount of substance already retained at that moment. Or in other words: there should be a defined percentage of retained particles eliminated at any time. This can be expressed as the differential equation:

$$\frac{dM}{dt} = D - k M$$

or - for constant D and k - by analytical solution:

$$M(t) = \frac{D}{k} (1 - e^{-kt})$$

where D is the deposition rate (amount deposited per unit of time), M is the amount of substance, and k may be termed the elimination rate or - if actually a constant - the time constant (the

elimination rate k is sometimes expressed as half-time, $T_{1/2} = \ln 2 / k = 0.693 / k$).

Numerous experiments have shown that, in rats, the elimination rate k is not actually a constant, but is dependent on the amount of dust already retained. This means there is not an unchangeable percentage of particles cleared from the alveoli per unit of time, but this percentage decreases - to virtually zero - with increasing lung burden. This phenomenon is well documented. Morrow *et al*⁸ published a comprehensive analysis of several studies where radioactive tracer particles had been used to determine the elimination rate k. The tracer particles - which had negligible mass - showed elimination rates of about 0.011 to 0.014 per day (i.e. 1.1 to 1.4% per day) in control animals, corresponding to half-times of roughly 50 to 60 days. When dust volumes of about 1 µl of diesel, carbon black, toner or titanium dioxide particles were retained in the lungs, the elimination rate of the tracer particles was reduced to about half the control values; i.e. the elimination half-time was then doubled. Dust volumes of more than 10 µl led almost to cessation of macrophage-mediated particle clearance.

Their analyses led Morrow *et al*⁸ to assume a threshold for the onset of clearance retardation at lung burdens of 1 µl/g lung (no difference between fine and ultrafine particles was apparent in this analysis). Dust volume seemed to be of greater importance than dust mass. Morrow *et al*⁸ further calculated that a dust volume of 1 µl/g lung would occupy 6% of the total volume of a rat's alveolar macrophages (based on the estimated total number of alveolar macrophages and average volume of a single macrophage). They therefore hypothesized an overload threshold associated with an average load of alveolar macrophages of 6% of their volume. This “Morrow-hypothesis” was the basis for subsequent interpretations as to the mechanisms of particle carcinogenesis. Fig. 1 shows a schematic presentation of the mechanistic models generally assumed. According to several publications, it is of crucial importance that the overload threshold is exceeded, that chronic persistent inflammation develops subsequently and that a chain of events follows, ultimately leading to lung tumour formation⁹⁻¹².

The idea of clearance overload as a threshold for particle carcinogenesis persisted, although later analyses of the data summarized by Morrow *et al*⁸ led to calculated “threshold” values clearly lower than the original value of 1 µl/g lung (= 1000 µg of a dust with density 1 g/cm³): e.g. 300 µg¹³; 100 nl¹⁴; 60 nl/g lung¹⁵; zero¹⁶. Yu¹⁷ derived a mathematical formula for the relationship between retained particle volume and alveolar clearance rate which does not contain a threshold, i.e. the author used a function allowing a volume of zero and increasing strictly monotonically (the value of 60 nl/g rat lung corresponds to about 60 mg dust per human lung; 1.5 g lung weight of a rat, 1 kg human lung weight; dust density 1 g/cm³).

Some variants on the Morrow-hypothesis have been published. Oberdörster¹⁰ did not define a starting point for the decrease in elimination rate k, but referred to the so-called steady-state of dust concentration within the lung which would be reached under the conditions of zero order invasion and first order elimination (the hypothesis is discussed later).

In some more recent papers by Tran *et al*¹⁸ and Donaldson *et al*¹⁹ the Morrow-hypothesis has been questioned. Although a threshold is still assumed, it is no longer associated to dust *volume* but to dust *surface area*. The basis for the new hypothesis is an in-

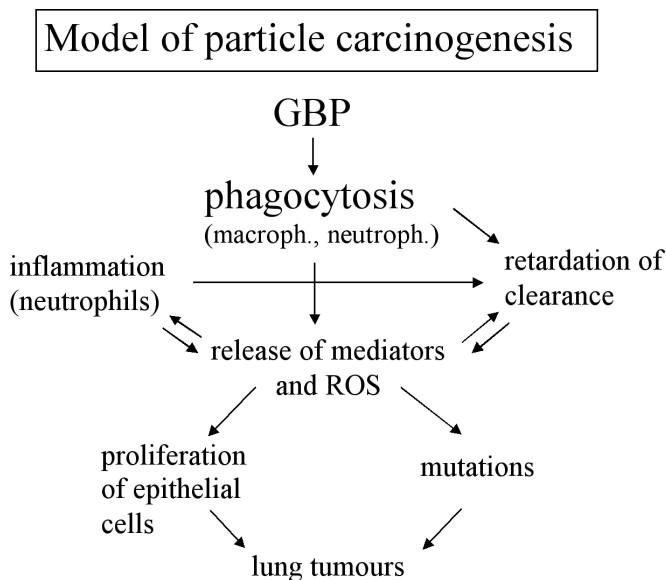


Fig. 1. Hypothetical model of particle carcinogenesis. The true mechanism of tumour induction by bio-durable particles in rat lungs is unknown. Variants of the model shown have frequently been published^{9, 10, 43}. The hypothesis refers to release of cytokines and reactive oxygen species (ROS) by pulmonary phagocytes (macrophages, neutrophilic granulocytes) with subsequent proliferation of epithelial cells (bronchiolo-alveolar hyperplasia) and mutations. There are similar models for quartz carcinogenesis⁴⁴, where the potency of crystalline silica is higher due to specific surface properties.

halation experiment with two dusts, titanium dioxide and barium sulphate, with similar density and with a specific surface area differing by a factor of about 2. The threshold is assigned to a surface area value of 200-300 cm² dust per lung. Strictly speaking, there are now (at least) two overload hypotheses, the “Morrow hypothesis” and the “Tran hypothesis”, which cannot both be correct, as they are mutually exclusive. If there actually were a threshold for macrophage mobility caused by a phagocytosed particle volume of 6%, then - for different dusts - this volume would correspond to various particle surface areas dependent on the specific surface area and on the density of the particles. The threshold could not then be assigned to a certain value for dust surface area. *Vice versa*, 200-300 cm² of different dusts can occupy various proportions of the macrophage volume, and a value of 6% macrophage volume cannot in that case be a universal threshold value.

Certainly, the contrast between the Morrow hypothesis and the Tran hypothesis can be regarded as negligible if “overload” is simply interpreted in the meaning in which it is often perceived: as a synonym for threshold-carcinogenicity irrelevant to humans. While we have no doubt that increasing lung burden leads to retardation of alveolar clearance, it is the intention of this paper to show that the data available do not warrant discarding GBP carcinogenicity simply as irrelevant “overload”.

Discussion of the published “evidence” for a threshold of particle carcinogenesis

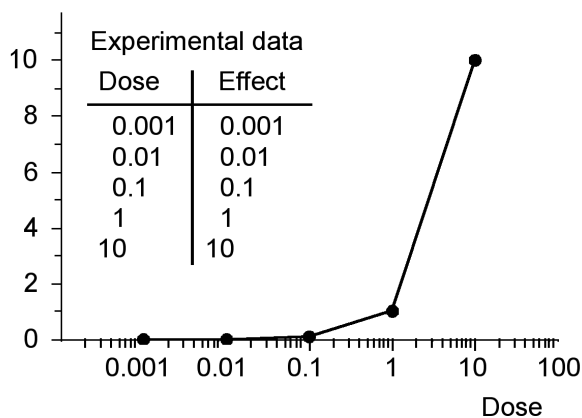
The overload hypothesis described above is advocated by several authors using various data and the interpretations mostly conclude that such a threshold exists^{10-12, 19-21}. It will be shown in the

following that the *evidence* for a threshold - in the sense of *proof* of a threshold - does not exist. In some instances the appearance of a threshold is due to the way of presenting of the data rather than to the scientific information contained within the data. Thus the term *semblance* seems to be more appropriate for the appearance of the threshold than the term *evidence*. One example is the use of a logarithmical scale for the dose-axis of dose-response curves. This is illustrated in fig. 2 by a simple mathematical example. The example can be checked by everyone using an EXCEL-sheet of a personal computer or even using paper and a pocket calculator.

Suppose a theoretical experiment, where a strictly linear dose-effect relationship is valid. For both the upper and the lower graph of fig. 2 the simplest form of a linear relationship, $y = x$, is used. The lower graph of fig. 2 shows the linearity, the upper graph with its logarithmical scale evokes the - mathematically wrong - impression of a threshold.

In the following paragraphs practical examples from publications are given, where a logarithmical scale seems to show a threshold, but the information of the data is quite different. There are some other cases, where a closer inspection of the data does

Effect variable



Effect variable

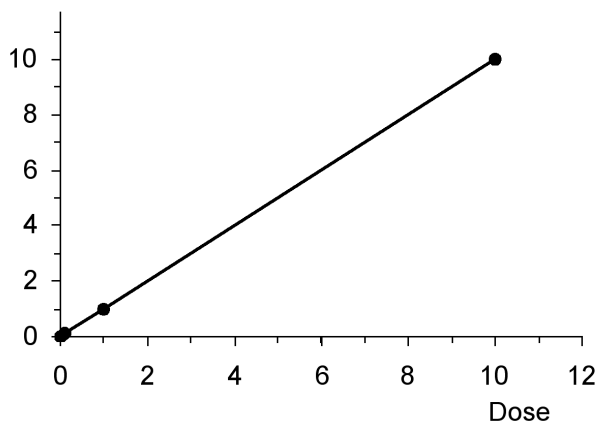


Fig. 2. Mathematical example for the illusion of a threshold. Both graphs show the same linear dose-effect relationship $y = x$. The lower graph adequately reflects that the relationship between dose and effect is strictly linear. In the upper graph, the - mathematically wrong - impression of an extremely sigmoidal curve and of a threshold is evoked by the use of a logarithmical scale. The impression of sublinearity can be enhanced by elongation of the x-axis to the left-hand side *ad infinitum* (0.001, 0.0001, 0.00001, 0.000001, ...).

not confirm the interpretation of a threshold to which the reader of the original papers is led by the discussion of the authors. These data will be described in due course.

Semblance of a threshold for lung tumours due to a logarithmical scale

A data analysis by Driscoll¹² is one of the repeatedly published bases for the threshold hypothesis. Driscoll¹² combined data from long-term inhalation studies and from intratracheal instillation studies with rats. He plotted the tumour incidences *versus* retained dust mass and *versus* retained particle surface area. He concluded that surface area was the better dose measure, and this is adopted in fig. 3 where the Driscoll dose-response relationship¹² is shown. The problem of the graph is independent of the question whether surface area is the best dust characteristic or the best dose measure, which is discussed elsewhere (Pott and Roller, in preparation). The misleading point - the shape of the dose-response curve - is the following: when figs. 2 and 3 are compared, it can easily be seen that the impression of threshold is due to the use of a logarithmically scaled dose-axis and that the pooled experimental observations (data points) do not contain information suggesting

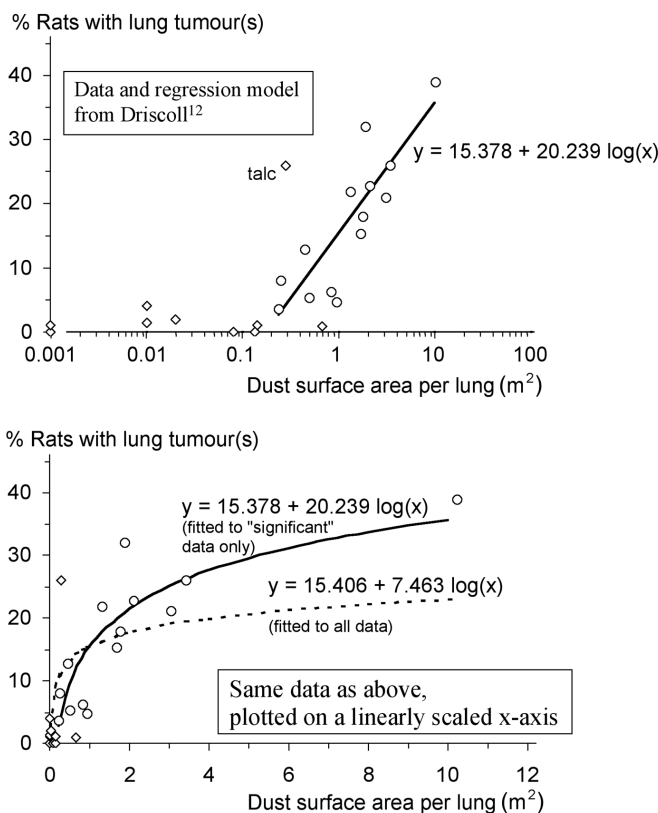


Fig. 3. Semblance of a threshold for lung tumours due to a logarithmical scale. The upper graph corresponds to the presentation in Driscoll¹². The lower graph shows that the regression function actually is hyperlinear. The regression function “ $y = 15.378 + 20.239 \log(x)$ ” calculated by Driscoll¹² and shown in both graphs is the result of a fit to the *significant* data only, i.e. the data points, where the tumour incidence was statistically significantly increased (circles; a statistically significant data point of talc was also excluded). This unusual type of data selection enhances the impression of a threshold, but the result of a regression analysis using all data shows an even more superlinear curve and no indication of a threshold at all.

a threshold. The impression of a threshold in Driscoll’s presentation¹² is further enhanced by the performance of an unusual type of regression analysis. First, a mathematical model is used that is not optimal for the description of dose-tumour response relationships because y (the tumour risk) can take on negative values (e.g. for $x = 0.1$ [m²]: $y = 15.378 + 20.239 \log(0.1) = -4.9$). Secondly, it is unusual in epidemiology and toxicology to include only statistically significant tumour incidences in regression analyses. And if this is done, then the data range is explicitly defined (statistically significant tumour incidences only, i.e. tumour incidences above about 10%) and it is not appropriate to draw conclusions about the course of the dose-response relationship below tumour incidences by some percent. In the lower graph of fig. 3, the result of our own analysis of the data is included (data points taken from the graph, regression by the least squares method). The resulting curve fitted to all data is strongly hyperlinear and does not indicate any threshold.

It is not of crucial importance to further discuss the appropriateness of the regression models of fig. 3, because later another analysis of Driscoll’s data collection¹² was published, where the usual logistic regression analysis was used²¹. Fig. 4 shows the curve derived by Miller²¹: the upper graph corresponds to the pre-

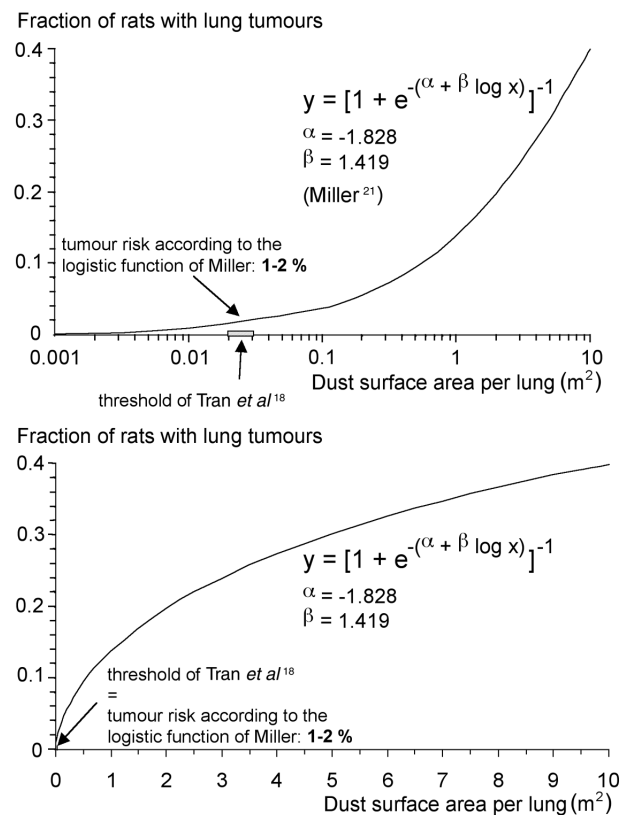


Fig. 4. Dose-response relationships for lung tumours according to an analysis of Miller²¹, who used the data collection of Driscoll¹², as in fig. 3. Upper graph: presentation using a logarithmically scaled dose-axis as in Miller²¹. Lower graph: same regression function plotted on a linear scale. The lower graph shows that the regression function actually is hyperlinear. The mathematical formula of the regression function excludes that the curve of y as a function of x is S-shaped in this specific case. I included a presentation of the threshold in the range of 200 - 300 cm² dust surface area as hypothesized by Tran *et al*¹⁸. The value of the regression function of Miller²¹ is in the order of 2 % tumour risk for a dose of 200-300 cm² dust surface area.

sensation in the original paper, again implying sublinear shape and threshold-like behaviour; the lower graph shows that again the impression of sublinearity is only due to the logarithmical scaling. It has to be emphasized that there is no free choice to define sublinearity in the sense of “maybe the logarithmical scaling is the correct one and the dose-response relationship therefore is sublinear”. The curvature of a mathematical function is not defined by its appearance on arbitrary scales but by its mathematical properties. This is described in more detail elsewhere^{16,22}. It can be clarified very simply by looking at the table of values for the function given by Miller²¹. The function contains distinct values for the parameters α and β , namely -1.828 and 1.419, respectively. Table 1 gives the values for y as a function of x directly following from the formula described in fig. 4. Additionally, the ratio y/x , which is similar to the “slope” at any point of the curve, was calculated for Table 1. It becomes clear, that the “slope” decreases with increasing values for x , i.e. with increasing dose, and that the “slope” increases with decreasing doses. The numbers in Table 1 are independent of any graphical presentation.

Because x represents the dose and y represents the tumour risk, the ratio y/x can also be viewed as the “carcinogenic potency”. If the logistic regression model of Miller²¹ described the *true* dose-response relationship of GBP, then we should conclude that the carcinogenic *potency* of GBP is particularly high at low doses. Driscoll’s data collection¹², which was also used by Miller²¹, comprises data of fine and ultrafine dusts tested in several rat strains with their specific sensitivities and it also comprises data from instillation studies with a time-dose relationship different from inhalation. The data are very heterogenous and any conclusion drawn from this analysis is very uncertain. But in any case, the information of the Miller model²¹ – which reflects the information from the collection of experimental observations, because it was fitted to the data by regression analysis – is just the opposite (hyperlinearity, high potency at low doses) of the impression that is obtained by a first glance at the picture (sublinearity, threshold).

We have included in fig. 4 the threshold hypothesis of Tran *et al*¹⁸. This hypothesis – in contrast to the hypothesis of Morrow *et al*⁸ – says that overload and inflammation are caused by the surface area of respired dusts and that there is a threshold for these effects at a retained dust burden with a surface area of 200-300

Table 1 - Table of values of the mathematical function of Miller²¹, as in fig. 4 ($y = [1 + e^{-(\alpha + \beta \log x)}]^{-1}$, $\alpha = -1.828$, $\beta = 1.419$; $\log = \log_{10}$).

x (dose)	y (tumour risk)	y/x (potency)
0.001	0.0023	2.272
0.01	0.0093	0.932
0.02	0.0142	0.711
0.03	0.0182	0.606
0.1	0.0374	0.374
0.5	0.0949	0.190
1	0.1385	0.138
2	0.1977	0.099
3	0.2403	0.080
4	0.2741	0.069
5	0.3023	0.060
6	0.3266	0.054
7	0.3478	0.050
8	0.3667	0.046
9	0.3837	0.043
10	0.3992	0.040

cm² (0.02-0.03 m²). Table 1 and fig. 4 show that according to the regression model of Miller²¹ the retained dust surface area of 0.02-0.03 m² is associated with a lung tumour risk of 1 to 2%. In this context, the difference between a *statistically significant* tumour frequency and a *significant risk* must be emphasized. It is impossible in an experiment with 100 rats per group to detect an increase in tumour frequency of 1% with *statistical significance*. But from the view of health protection, substantially lower cancer frequencies are worth considering, they are *significant*: “So a risk of 1/1000 (10⁻³) is clearly significant”, as stated by OSHA²³.

Semblance of a threshold for retardation of macrophage-mediated clearance due to a logarithmical scale

Fig. 5 contains one of the basic presentations which are often cited to support the overload hypothesis^{8,11,21}. The graph shows the results of measuring the elimination rate of tracer particles dependent on various retained particle volumes in rat lungs, as already shown. The upper graph of fig. 5 is also shown by Miller²¹ (figure 15 in the original paper) together with the upper graph of fig. 4 (figure 14 of ref. 21) and is referred to by the following sentences: “the data shown in figures 14 and 15 establish [that] a critical retained lung burden must exist for any given PSP such that exposure levels can be identified and for which there is essentially no carcinogenic risk” and “... a critical retained lung

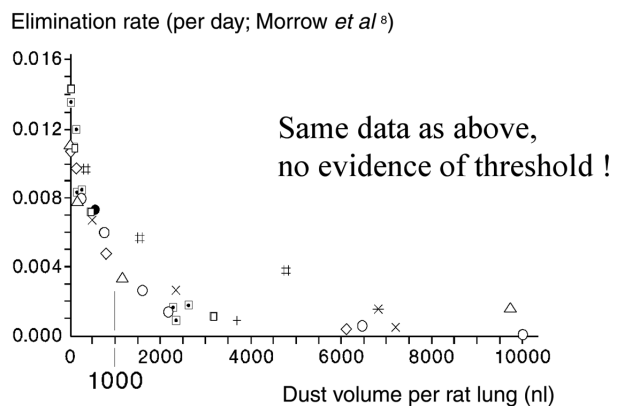
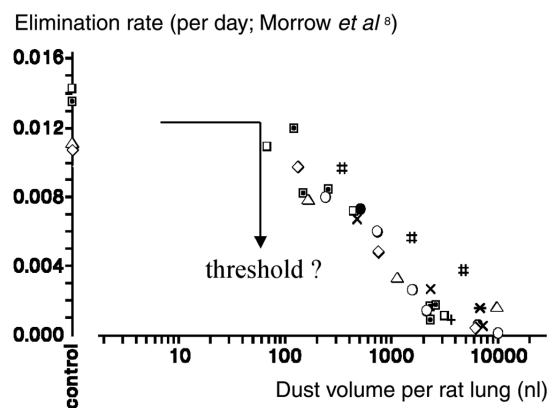


Fig. 5. Semblance of a threshold due to a logarithmical scale. Both graphs show the same experimental data about retardation of lung clearance collected by Morrow *et al*⁸ dusts: test toner, diesel, TiO₂ - anatase, TiO₂ - rutile, PVC, carbon black). The lower graph shows that the data do not support the hypothesis of a threshold

burden should exist for any given PSP for which there is no carcinogenic risk". The lower graph of fig. 5, however, illustrates that, again, the impression of a threshold is due to the logarithmical scaling of the x-axis. The elimination rate is obviously affected by small dust volumes and is reduced to about half control values at a lung burden of $1 \mu\text{l/g}$ lung.

Semblance of a threshold for retardation of macrophage-mediated clearance due to the use of hypothetical curves not supported by experimental observations

A presentation used by Oberdörster¹⁰ and similarly by Oberdörster¹¹ makes a threshold "evident" to the reader as a departure from a normal - healthy - steady-state condition of particle deposition and clearance. Fig. 6 has been drawn to show the curves of the presentation of Oberdörster¹⁰ (figure 7 in the original paper). The lowest curve (of the upper graph) illustrates the hypothetical "steady-state" condition. Actually, this curve is obtained when a simple "zero order invasion/first order elimination" model and an elimination half-time of about 60 days (as in untreated rats) are used. The threshold in the presentation of Oberdörster¹⁰ is implied by the sharp bends in the middle and upper curve leading to steeply increasing lung burdens. Obviously, the curves in Oberdörster's presentation¹⁰ are hypothetical curves not taken from a certain experiment. However, there are only a few experimental data from long-term inhalation studies with non-ultrafine GBP to verify the contrast of steady-state and overload conditions (mathematically, an elimination half-time of 60 days requires a period of almost one year to fully reach steady-state, as shown in fig. 6).

A long-term inhalation study with low exposure concentrations of a GBP-F was performed by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴. They used three concentrations of a test toner (as produced for copiers). The highest concentration was 5.44 mg/m^3 and was maintained for 6 hours a day, 5 days a week. This means a time-weighted average concentration (TWA) of workplace conditions of 4.4 mg/m^3 . This concentration is only slightly higher than the current general dust limit value in Germany equal to 3 mg/m^3 of respirable dust, according to the so-called TRGS 900. Both the low and middle exposure concentration of the toner-study were lower than the German limit value, namely 0.35 and 1.5 mg/m^3 , corresponding to TWA values of 0.28 and 1.22 mg/m^3 , respectively. The lower graph of fig. 6 shows that no steady-state of the hypothetical type is reached even at the lowest TWA concentration of 0.28 mg/m^3 (about a tenth of the German limit value). The same is true for the TiO_2 group which was exposed to a TWA of 3.14 mg/m^3 (i.e. $0.72 \mu\text{l/m}^3$). Again, the lowest dose group of a diesel study²⁹ did not result in a steady state.

The reason for the continuous increase in lung burden at the lowest toner concentration is not completely clear. One reason may be that the deposition rate is not a constant, but simply due to an increase in the minute volume with increasing age and size of the animals. A further explanation is a decrease in elimination rate due to an even relatively small increase in dust burden. To formulate the possibilities more explicitly, we formulated a toxicokinetic model taking into account various hypotheses. The model is shown in fig. 7. It contains the following components: an increasing minute volume \dot{V} (dependent on age) using a formula similar to Bellmann *et al*¹³; a transition of particles into the interstitium similar to the hypotheses of Kuempel²⁵ and Tran *et al*¹⁸; a

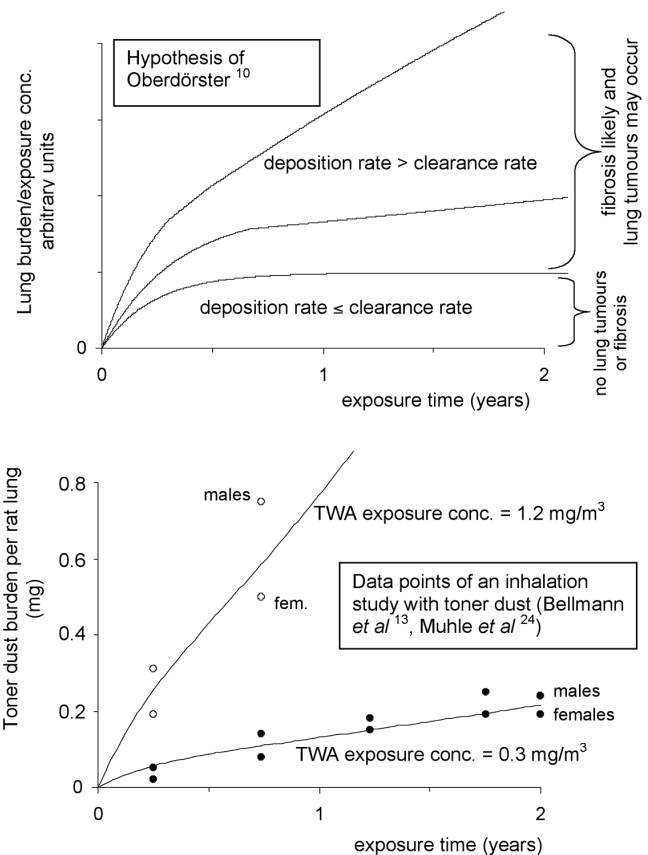


Fig. 6 - Discrepancy between hypothetical curves of long-term dust retention and experimental observations in a long-term inhalation study with low exposure concentrations of GBP-F (toner dust). The hypothesis of Oberdörster¹⁰ (upper graph) assumes a steady-state lung burden, which cannot be maintained under overload conditions. This implies a threshold between non-overload and overload corresponding to a threshold for fibrosis and lung tumour induction. However, actually a steady-state lung burden can hardly be found in rats. The general dust limit value in Germany is equal to 3 mg/m^3 of respirable dust for the most workplaces and 6 mg/m^3 of respirable dust for some certain exposure circumstances. Therefore, the lowest experimental exposure concentration of 0.35 mg/m^3 (corresponding to TWA, 8 h/d, 5 d/wk, of 0.28 mg/m^3) in the toner inhalation study of Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ is very low. Despite the low maximum lung burden of about 0.2 mg , no horizontal steady-state curve is implied by the data. The curves shown in the lower graph (calculated as average of males and females, respectively) refer to a toxicokinetic model (described in fig. 7), for which an age-dependent minute volume of the animals and a continuous decrease of the elimination rate (dependent on retained lung burden) without threshold are assumed.

continuous decrease in the elimination rate $k_m(t)$ for macrophage mediated clearance dependent on retained particle volume according to our hypothesis. The values for the parameters were chosen to obtain good agreement with the various experimental observations published by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ such as elimination half-times of ^{85}Sr -tracer particles and retained dust mass in lung and lung associated lymph nodes (LALN) after various exposure periods. Additionally, the proportion of about 25% retained in the interstitium in rats (75% alveolar retention) according to Nikula *et al*²⁶ was considered. Table 2 shows a comparison of measured and calculated values. The lower part of fig. 6 shows that the increase in lung burden after exposure to a TWA of 0.28 mg/m^3 can be well explained by a model that does not distinguish between normal steady-state and overload conditions. In

Virtually linear dose-response relationships for pulmonary neutrophilic granulocytes and for hprt-mutations in lung epithelial cells

The data collected by Morrow *et al*⁸ and described above clearly speak for a strictly monotonically increasing dose-response relationship for alveolar clearance half-times rather than for a threshold between normal clearance and overload. It has been argued that kinetic overload demonstrates a threshold for particle carcinogenesis. But it has also been argued that kinetic overload may not be the cause of particle carcinogenesis and – on the one hand – clearance may be retarded with no or very low threshold, but – on the other hand – chronic inflammation may only occur in excess of a threshold lung burden, thus representing a threshold for tumourigenesis. It can be shown, however, that the number of pulmonary neutrophilic granulocytes – as a typical sign of inflammation – itself follows virtually linear dose-response relationships in several studies (figs. 8, 9), and even the induced frequency of hprt-mutations in lung epithelial cells does not argue for a clear threshold (fig. 10).

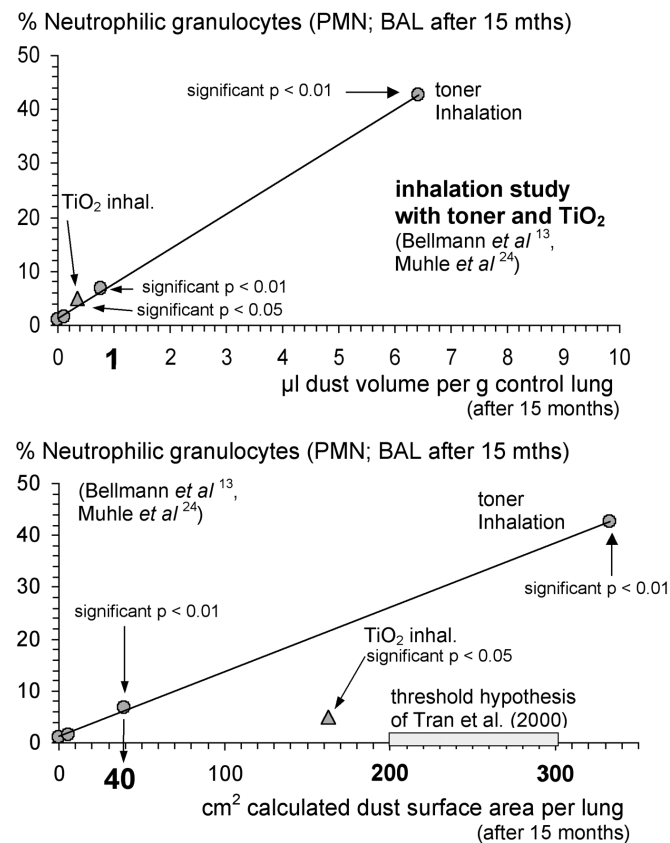


Fig. 8. Dose-response relationships for neutrophilic granulocytes in bronchoalveolar lavage fluid in the long-term inhalation study of Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴. The upper graph shows a virtually linear relationship with dust volume as a dose measure for the two dusts toner and titanium dioxide. For the lower graph, the dust surface area has been calculated using the published retained dust masses, the specific surface area of our toner dust (very similar to the toner used by the authors; 3.6 m²/g) and a value of 9 m²/g for TiO₂. Obviously, significant effects have been observed at doses clearly lower than the hypothesized threshold of Tran *et al*¹⁸. Furthermore, the data points of toner and of TiO₂ do not fit together (even if the specific surface area of TiO₂ were somewhat lower than our assumption of 9 m²/g).

Fig. 8 presents dose-response relationships for inflammatory effects in the long-term studies by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ with toner and titanium dioxide dust. Leukocytes were counted in bronchoalveolar lavage fluid at various time points after the start of inhalation exposure to 3 concentrations of toner dust and to one concentration of TiO₂ dust. The percentage of neutrophilic granulocytes (neutrophils = polymorphonuclear neutrophils, PMN) was determined; the retained dust mass per lung and the lung wet weights were also measured. If, for the time point 15 months, the retained dust volume per g lung is calculated from the weights and from the density of the dust, then the upper graph of fig. 8 results and shows a linear dose-response relationship for inflammation dependent on the retained dust volume. One regression line fits both the toner and the TiO₂ data. The lower graph shows the same data, but the retained dust surface area, calculated from estimated specific surface area values, is used as a dose measure. As may be expected, the choice of this dose measure

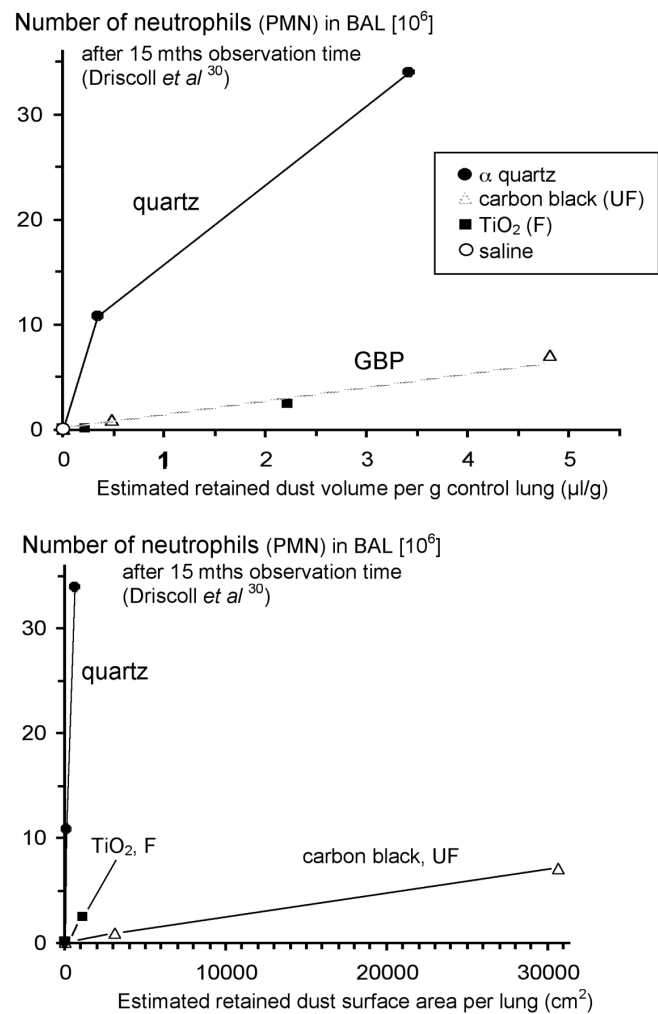


Fig. 9. Dose-response relationships for neutrophilic granulocytes in bronchoalveolar lavage fluid in the instillation study of Driscoll *et al*³⁰. Upper graph: estimated retained dust volume per g control lung used as a dose measure. The two GBP (carbon black and titanium dioxide) form a consistent, virtually linear dose-response curve. Quartz dust exhibits considerably higher toxic potency. Lower graph: estimated retained dust surface area used as a dose measure. The fine (F) titanium dioxide dust seems to exhibit considerably higher toxic potency than the ultrafine (UF) carbon black dust.

does not change the shape of the dose-response relationship for toner dust. However, the data of the two dusts no longer fall onto one regression line. This does not argue for a threshold (there is a straight line for toner), but against retained surface area as a universal dose measure. The lower graph of fig. 8 also contains the threshold hypothesis by Tran *et al.*¹⁸. Two dusts, TiO₂ and BaSO₄, had been tested in that study, and it was concluded that the retained dust surface area generally represents the dose and that a threshold exists for inflammation at about 200 to 300 cm² retained dust. Both toner and TiO₂ doses below this dose of 200 to 300 cm² led to statistically significantly increased numbers of PMN in Muhle's study. The results of the long-term inhalation study with toner and TiO₂ are therefore in sharp contrast to the threshold hypothesis of Tran *et al.*¹⁸.

There is another study that has often been cited as evidence for a threshold of particle induced inflammation and subsequent mutagenesis. Data from this study by Driscoll *et al.*³⁰ are shown in

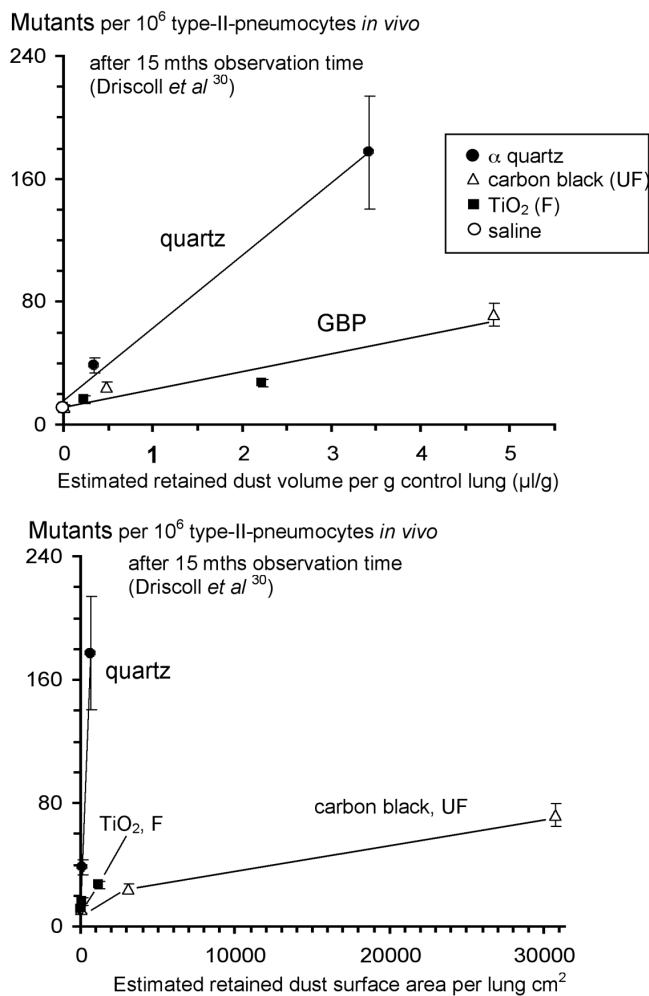


Fig. 10. Dose-response relationships for *hprt*-mutations in type-II-pneumocytes in the instillation study of Driscoll *et al.*³⁰. Upper graph: estimated retained dust volume per g control lung used as a dose measure. The two GBP (carbon black and titanium dioxide) form a consistent, virtually linear dose-response curve. Quartz dust exhibits considerably higher mutagenic potency. Lower graph: estimated retained dust surface area used as a dose measure. The fine (F) titanium dioxide dust seems to exhibit considerably higher mutagenic potency than the ultrafine (UF) carbon black dust.

figs. 9-11. The experiments of these authors can be summarized as follows:

- Rats received intratracheal suspensions of quartz (median diameter 0.9 µm, specific surface area 4.5 m²/g), ultrafine carbon black (diameter 15 nm, specific surface area 230 m²/g) or fine TiO₂ (median diameter 0.18 µm, specific surface area 8.8 m²/g). The dose was 10 and 100 mg dust/kg body weight, given in two instillations on consecutive days (body weights at time of treatment 180-200 g).
- Cell differentials were performed on preparations of bronchoalveolar lavage (BAL) fluid obtained 15 months after instillation (macrophages, neutrophils and lymphocytes).
- Type II pneumocytes isolated from rat lungs 15 months after instillation were examined for mutations of the *hprt*-gene.
- Cultured cells of the rat alveolar cell line (RLE-6TN) that had not been in contact with the dusts were exposed to cells from the BAL of the treated rats by co-culture and were al-

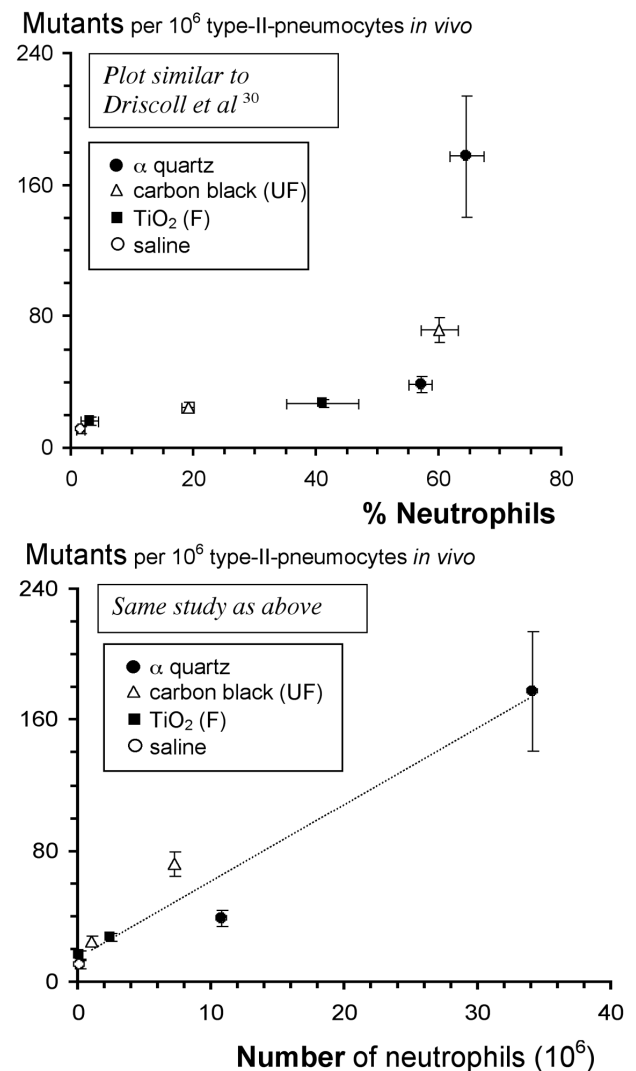


Fig. 11. Semblance of a threshold for *hprt*-mutations due to the use of an inappropriate dose measure. The impression of a sublinear curve in the upper graph actually is caused by the hyperlinearity of the dependence of the percentage of neutrophils on the instilled dose of quartz (see text). The lower graph shows, that the relationship between (absolute) number of neutrophils and frequency of mutations is virtually linear, as shown in figs. 9 and 10.

so examined for *hprt*-mutations. The BAL cells were viewed as the dose for the RLE-6TN epithelial cells in this *in vitro* experiment (based on the assumption that the BAL cells exposed to the dusts *in vivo* were generating mutagenic reactive oxygen species). The “dosing” consisted of two different ratios of BAL cells to epithelial cells, namely the ratio of 10:1 and of 50:1.

In the *in vitro* experiment, statistically significantly increased frequencies of *hprt*-mutations of RLE-6TN cells were found after co-culture with BAL cells in the ratio of 50:1, but not in the ratio of 10:1. This was one argument of the authors’ interpretation, that there was a threshold. However, this “indirect” *ex vivo/in vitro* experiment is difficult to interpret: it is not clear whether the probability of mutagenic effects of the cell ratio 10:1 was below the limit of detection rather than below a true threshold and – above all – the results of the *in vivo* experiments do not support the assumption of a threshold. Fig. 9 shows that – similar to the inhalation study by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ – a virtually linear dose-response relationship appears if the number of PMN in the BAL fluid is plotted versus the retained dust volume or dust surface area. Quartz dust – known for some cytotoxic surface properties – even shows a hyperlinear relationship. It is surprising that the data relating to ultrafine carbon black and fine TiO₂ fall on a common line if dust volume is used as a dose measure. Again, dust surface area does not appear as a universal dose measure explaining the effects from different dusts (the doses in figs. 9 and 10 were calculated by us from the data available; assumptions: body weight 200 g; control lung weight 1.5 g; long-term retention 2/3 of dose instilled; e.g. data given in original paper: 100 mg/kg TiO₂, body weight 180-200 g → estimated retained volume: 10 mg/kg x 0.2 kg x 2 / [4 mg/μl x 1.5 g x 3] = 0.22 μl/g; e.g. data given in original paper: 100 mg/kg TiO₂, specific surface area 8.8 m²/g, body weight 180-200 g → estimated retained surface area: 10 mg/kg x 0.2 kg x 88 cm²/mg x 2 / 3 = 117 cm²).

Fig. 10 shows the dose-response relationships for *hprt*-mutations in type II pneumocytes *in vivo*. The characteristics of the curves are similar to fig. 9, i.e. the frequency of the mutations seems to be linearly dependent on the retained dose, where dust volume appears to be a more universal dose measure than dust surface area.

Fig. 11 contains a graph similar to the presentation of Driscoll *et al*³⁰. The relationship between percentage of neutrophils and *hprt*-mutations seems to indicate a threshold. It can be shown, however, that this semblance is again due to the way of presenting the data rather than to the actual information in the data. The appearance is due to the use of the *percentage* of neutrophils instead of the absolute *number* of neutrophils. This does not make

a difference as long as both the percentage and the number of PMN are increasing. In the study by Driscoll *et al*³⁰, however, the percentage of PMN reaches a plateau of about 60% (this is biologically plausible, because other cell types are also present in the alveoli). If the number of cells further increases and the number of PMNs simultaneously increases – in a constant proportion – and if reactive oxygen species produced by PMNs are causing mutations, then the frequency of mutations will increase while the number of PMNs increases though the percentage of PMNs among the other cells is constant. This can be demonstrated by the data of quartz dust (Table 3).

If this is plotted in a diagram, then low as well as high mutation frequencies will be related to the same percentage of 60% PMN as in the upper graph of fig. 11. The lower graph of fig. 11 shows the straight and universal (for all dusts) linear relationship between number of PMNs and mutations, which is plausible according to the data of figs. 9 and 10.

Dose-response relationships for lung tumours in our recent 19-dust study and in a low-dose inhalation study

The dose-response relationships for lung tumours in our 19-dust study were analyzed by logistic regression. A detailed description is being prepared. For the question of a threshold above current Occupational Exposure Limits (OEL), the lower dose range is particularly interesting. These data are plotted in fig. 12. Because histological diagnoses are only available to us for the coal dust part of the study – where higher doses were used – the results of the systematic macroscopic inspection of the lungs are used (tumour frequency based on histology is about 1.5 times the macroscopic result for treated rats and zero for control rats; detailed paper still being prepared). Included in fig. 12 are also data from the inhalation study with toner and TiO₂ by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴: the tumour frequencies of this inhalation study of course refer to histologically confirmed tumours.

For the evaluation of the data from the 19-dust study, it is important to consider that fine (F) and ultrafine (UF) dusts were used. A dust was considered as ultrafine if the best available information at the time of logistic regression analysis indicated that its median or mean particle size was clearly lower than 100 nm. This was the case for four (synthetic) dusts of the producer Degussa (aluminium oxide C, aluminium silicate P820, carbon black Printex 90, TiO₂ P25); the information in the catalogue indicated primary particle sizes of these particles between 14 and 30 nm. The primary particle size of one carbon black dust (lamp black 101) was given as 95 nm. The relation between the primary par-

Table 3 - Relations between quartz dose, inflammatory cells and *hprt*-mutations in pneumocytes after the publication of Driscoll *et al*³⁰

Quartz dose ^a i.tr.	% neutrophils ^a among BAL cells	Total number ^a of BAL cells	Number of neutrophils ^b in BAL	Mutations per 10 ⁶ type II-cells ^c
10 mg/kg	57.0%	19.0 x 10 ⁶	10.8 x 10 ⁶	39
100 mg/kg	64.5%	52.8 x 10 ⁶	34.1 x 10 ⁶	178

^a According to Table 1 of Driscoll *et al*³⁰.

^b Calculated from % neutrophils and total number of BAL cells (BAL cells are differentiated into macrophages, neutrophils and lymphocytes in the paper).

^c Taken from fig. 1 of the original paper. An about 4 fold increase of mutation frequency is related to an about 3 fold increase of number of PMN - and a 10 fold increase of quartz dose - while the percentage of PMN remains almost constant.

Table 4 - Overview of the inhalation study of Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ with “test” toner (pigmented plastic powder containing about 90 % random copolymer and 10 % high-purity furnace-type carbon black, mean particle size about 3.5 μm , mass median aerodynamic diameter (MMAD) about 4.0 μm with a geometric standard deviation 1.5) and titanium dioxide

Exposure conc. (mg/m ³)		Retained dust ^a		Number of rats (F344) with tumours ^b / examined	% rats with tumour ^b (95%-CI)
Experimental	TWA ^c	Mass per lung (mg)	Volume per g lung ($\mu\text{L/g}$)		
Clean air control					
0	0	0	0	3 / 111	2.70 (0.56 - 7.7)
Toner					
0.35	0.28	0.14 / 0.08	0.08 / 0.06	1 / 112	0.89 (0.02 - 4.9)
1.50	1.22	0.75 / 0.50	0.43 / 0.40	0 / 114	0.00 (0.00 - 3.2)
5.44	4.42	6.00 / 3.59	3.40 / 2.85	5 / 114	4.39 (1.44 - 9.9)
Titanium dioxide					
3.87	3.14	1.53 / 1.17	0.24 / 0.26	2 / 113	1.77 (0.22 - 6.2)

^a Retained dust measured in the lungs of male / female rats after 9 months of inhalation. The dust volume is calculated using the density of 1.2 g/cm³ for toner and 4.3 g/cm³ for TiO₂; the lung weights are given in the paper.

^b Histologically diagnosed primary lung tumours. The number of animals examined comprises the rats which died spontaneously or were killed at the end of the study (termed *basic study* in the publication) and the animals killed after 21 months of the same study (termed *serial sacrifice* and listed separately in the publication). Two of the five animals with lung tumour of the highest exposure level were killed at 21 months during *serial sacrifice*.

^c Time weighted average: linearly converted from the exposure scheme 6 h/d, 5 d/week to an exposure scheme of 8 h/d, 240 d/yr.

ticle sizes of the two carbon black dusts (lamp black 101 and Printex 90) corresponds to the relation of a soccer-football to a table-tennis ball. Therefore, the considerably coarser carbon black 101 dust was considered as “fine”. The attribution of “fine dust” to diesel soot particles may give cause for discussion, but this attribution was made because several publications indicate a median particle size for diesel particles clearly greater than 100 nm, obviously due to the formation of aggregates and/or agglomerates. In summary, UF in the 19-dust study means: median (nominal) particle size between 14 and 30 nm; F means: median particle size clearly larger than 90 nm. The results of logistic regression analysis confirmed a statistically highly significant difference between the carcinogenic potency of these two categories of dusts (by a factor of about 3 to 5, when dust volume was used as the dose measure). It remains an open question if or to what extent aggregates and/or agglomerates were formed by the dusts and disintegrated in the lung tissue.

It is not my intention to discuss here the carcinogenic potency of ultrafine particles or to explain the differences from non-ultrafine particles; the aim is only to look at the dose response relationship for fine GBP, the kind of dusts falling below the definition of the general dust limit value in Germany. There are good scientific reasons to assume that our diesel soot sample contains mainly aggregates of “fine” particle size that do not disintegrate into ultrafine primary particles in the lung, but this is not proven with certainty. Thus the lowest dose groups of “unequivocally fine” dusts refer to ZrO₂, TiO₂ and kaolin. A frequency of tumour bearing rats of 6 out of 47 rats evaluated (12.8%) was found with an estimated long-term retained dust volume of 4.6 $\mu\text{L/g}$ ZrO₂. The tumour incidence with 6.8 $\mu\text{L/g}$ TiO₂ was 10 out of 44 rats (22.7%); with 10.7 $\mu\text{L/g}$ kaolin, there were 14 tumour-bearing rats out of 48 (29.2%). The General Threshold Limit Value for Dust of the German MAK commission was defined in part by the criterion that a long-term dust volume burden of 1 $\mu\text{L/g}$ should not be ex-

ceeded³¹. Hence the above-mentioned volume doses can simply be put in relation to this standard: the lowest statistically significantly increased tumour risk of about 13% was associated with a dose only about 5 times higher than the dust standard of 1 $\mu\text{L/g}$.

A comparison of these instillation data to the inhalation studies by Bellmann *et al*¹³ and Muhle *et al*²⁴ seems worthwhile. This is certainly the study with the lowest exposure concentrations of GBP-F among the well documented multi-dose inhalation studies. Table 4 shows some data from the experiment. The highest TWA exposure concentration was 4.4 mg/m³. The average dust volume burden after 9 months was 3.1 $\mu\text{L/g}$ at this exposure level. The carcinogenicity test was interpreted as negative by the authors. This interpretation was reached without considering two rats with tumour in the highest dose group which had been killed after 21 months. These animals were exposed together with the animals of the so-called basic study and therefore it is appropriate to include these animals in the evaluation of the total study. Table 4 shows the tumour incidences of all groups under consideration at the 21-month-serial sacrifice date. An exact trend test (generalization of Fisher’s exact test) for these tumour incidences yields $p = 0.049$ (Cochran-Armitage trend test: $p = 0.044$). The study should thus be considered as *marginally positive* rather than negative. Fig. 12 furthermore shows that the two lowest exposure levels are so close to zero that no significant increase in tumour incidence can be expected and that these tumour incidences carry more information about the background risk of the rats than of an exposure-associated risk. The average tumour risk of the control group and the two lowest dose groups is $4 / 337 = 1.2\%$. If this is considered as background risk, then the excess risk of the rats from the highest dose group is $4.4 - 1.2\% = 3.2\%$. The TiO₂-group may also be included in the background risk, the dose-response relationship may be slightly sublinear, the 95% confidence interval according to the linearized multistage procedure may be considered: above all, the excess lung tumour risk of the rats from the

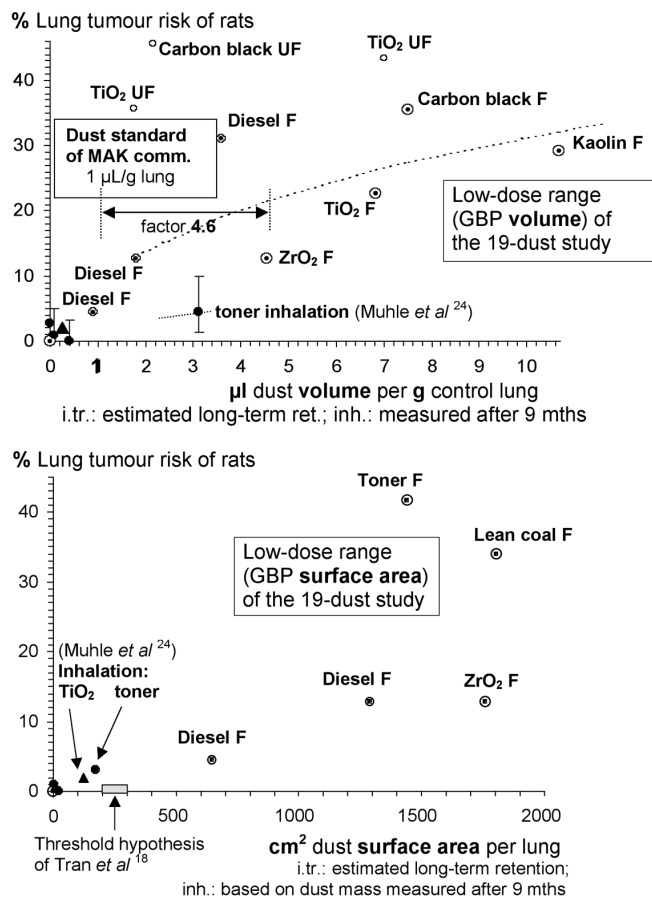


Fig. 12. Dose-response relationships for lung tumours in the inhalation study of Bellmann *et al.*¹³ and Muhle *et al.*²⁴ and in the low-dose range of the 19-dust study. Upper graph: retained dust volume used as a dose measure. The data points for the fine GBP-F of the instillation study - including diesel soot, which consists of aggregates/agglomerates of partly ultrafine particles - form a plausible dose-response relationship, the ultrafine GBP-UF show a higher carcinogenic potency. As expected, the effect from a given dust volume after instillation early in the animals' life is somewhat higher (about a factor of 3) than the effect from the same volume that accumulated slowly during 9 months of inhalation. Lower graph: dust surface area used as a dose measure. No meaningful dose-response curve can be found. The term "low-dose" refers to other dusts as in the upper graph (different dose metric). Toner and coal dust seem to have a higher carcinogenic potency than diesel soot. The inhalation study of Muhle *et al.*²⁴ seems to have a higher sensitivity than intratracheal instillation: despite the low retained dust surface areas (lower than the hypothesized threshold of Tran *et al.*¹⁸), a marginally positive trend test could be found in the inhalation study. According to the diesel-points of the instillation study, a statistically significant outcome would not be probable with doses as low as in the inhalation study.

highest toner dose group of this inhalation study may be equal to roughly 3%.

As mentioned above, the German MAK value of the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for dust refers to a volume burden of 1 µl/g. Despite this volume-based derivation of the limit value, the official general dust limit value according to TRGS 900 is given as mass concentration at the workplace. There are two limit values for the respirable dust fraction: 6 mg/m³ for certain exposure situations and 3 mg/m³ in general. If these standards are compared to the highest exposure level in the Muhle study²⁴, the following tumour risks have to be taken into account:

- a tumour risk of 3% associated with the 3 fold dust volume of the DFG-MAK standard,
- a tumour risk of 3% associated with the 1.5 fold exposure mass concentration of the common limit value,
- a tumour risk of 3% associated with an exposure mass concentration lower than the limit value for certain exposure situations in Germany.

From the view of preventive medicine, these exposure/dose risk relations make it virtually impossible to assume a threshold for GBP carcinogenicity above the current Occupational Exposure Limits.

The lower graph of fig. 12 shows the relationships between tumour risk and dust surface area. The picture is different now: some new data points – compared to the upper graph – have appeared, others have disappeared. Due to their large specific surface area, the ultrafine particles (in the narrow sense - diesel soot classified as "fine", in agreement with its relatively small specific surface area) do not belong to the "low-dose" range when dose is measured by surface area. Toner dust with its small specific surface area now seems to have a particularly high carcinogenic potency, because the relatively small dust surface area of about 1500 cm² retained after intratracheal instillation leads to a tumour frequency of more than 40%. Even after inhalation, toner dust seems to have a higher carcinogenic potency than diesel soot after intratracheal instillation. This is not plausible. And this is one of the reasons why we do not think that surface area (as measured by the BET method) is a good dose measure of GBP carcinogenicity. But even if surface area was used as the dose measure, the threshold dose value of Tran *et al.*¹⁸ would be very high: the lower graph of fig. 12 shows that this hypothetical threshold value is higher than the dust surface burden after 9 months of the highest dose level of the inhalation study by Bellmann *et al.*¹³ and Muhle *et al.*²⁴, in which a marginally positive trend for carcinogenicity can be found, and which led to clearly increased inflammatory symptoms even in the second dose group. Thus the hypothesis of a threshold value of 200 to 300 cm² dust surface must be rejected. This conclusion is justified although the hypothetical threshold value is somewhat lower than the dust surface burden after 15 months of the highest dose level in the Muhle study²⁴: the lowest observed effect level for increased numbers of PMN after 15 months corresponds to a dust surface area of 40 cm² in the second dose group (fig. 8), clearly lower than the threshold hypothesis of 200 to 300 cm².

In summary, it appears justified from fig. 12 and from the comparisons above to use an estimate of an excess lifetime lung cancer risk of 1 to 3% following a continuous workplace-like exposure of a rat to a GBP concentration as high as the current general dust limit value in Germany. It has to be borne in mind that the risk estimate from the instillation study is based on macroscopic inspection and that the available histological diagnoses (coal dust part of the study) make it likely that the tumour frequencies according to histological diagnosis are higher.

Does the carcinogenic mechanism necessarily imply a negligible risk at realistic exposure concentrations?

The true mechanism of GBP carcinogenicity is not known. No primary genotoxicity has been found. The lack of primary genotoxicity of GBP theoretically allows for the possibility of a thresh-

old. But is there necessarily a threshold and, particularly, is there necessarily a threshold associated to exposure concentrations higher than current OELs? It may be that GBP directly act on lung epithelial cells and cause tumours by a yet unknown mechanism. Inflammation and fibrosis may be caused simultaneously but without any substantial relation to tumourigenicity. This possibility should not be completely discarded, but because we do not have observations sufficiently supporting this assumption the possibility that GBP carcinogenesis follows the scheme of fig. 1 has to be inspected.

It is the accepted opinion of toxicological text books that reactive oxygen species (ROS) are generated by phagocyte cells and that there is biological reason for this: *“The generation of radicals by phagocytes unequivocally serves for defence against infections”* (translated from ref. 32 page 349). Why should it not be assumed that ROS and mediators are generated during phagocytosis even of small amounts of microbes and GBP? The virtually linear dose-response relationships described above support this hypothesis. Why is it unlikely that the possibility of oxidative damage to the epithelial tissue should be the price the organism has to pay for the defence mechanism against pathogenic germs? *“Naturally, O₂-derived metabolites not only damage phagocytosed germs, but also the host tissue, particularly because phagocytosing cells emit O₂ into the extracellular space that is poor in SOD. In the case of infectious diseases, the simultaneous damage of host tissue seems to be a hardly avoidable price for an efficient defence of infections. Unfortunately, phagocytes largely likewise react to non-infectious inflammatory stimuli, to everything, in principle, that is identified as foreign, preferentially if it is of corpuscular nature”* (translated from ref. 32, page 349).

Generation of ROS may be a defence mechanism of the organism and there certainly are also defence mechanisms against ROS. But are these working with 100% efficiency? *“The hydroxyl radical - limited by diffusion - reacts non-enzymatically with a multitude of biological structures like SH-groups, imidazole derivatives and aromatics. Thus, theoretically there is hardly a chance that a defence mechanism - of whatever kind - can compete in vivo with these extremely fast reactions. In fact, it has to be assumed, that OH damages the biological structures, whenever the defence mechanisms described above cannot prevent it from being generated”* (translated from ref. 32, page 349). ROS are generated by many causes, there is always a background burden of ROS generation. Does the efficiency of scavengers and defence mechanisms guarantee 100% protection against those ROS and mediators generated by various environmental exposures and infections and additionally by various occupational exposures, but only lose 100% efficiency when the General Threshold Limit Value for Dust is exceeded? Which data really substantiate such a hope? Finally: is it the smokers' own fault, that their defence mechanisms are overloaded before occupational dust exposure reaches the limit value? It is obvious from the view of preventive medicine that there is no real evidence to answer these questions in the sense of “negligible risk”.

Does lung overload exist in humans?

One question of particular importance – though not directly related to the question of a threshold for particle carcinogenesis in rats – is: do the mechanisms leading to particle induced lung tu-

mours in rats also operate in humans? A decisive answer to this question is not possible because the mechanisms of particle carcinogenesis in rats are not decisively known. In the report on the ILSI Risk Science Institute Workshop “The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment”³, the evidence is discussed that those mechanisms which are attributed to particle carcinogenesis by most authors, i.e. “overload”, play a rôle in human lungs. These aspects are more broadly analysed by Pott and Roller (in preparation), so only a short discussion is included here. In ILSI³, the question of lung overload from PSP (Poorly Soluble Particles) in humans is commented on by the following words: *“Particle overload .. has been observed in hamsters and mice exposed to PSPs that produce overload in rat inhalation studies. PSP have been shown to accumulate in the lungs of monkeys; however, kinetic data are not available to determine if overload has occurred. The existence of particle overload in humans exposed to high levels of coal dust is not certain. Coal dust can accumulate to substantial amounts in the lung of exposed workers, and there is evidence of increased particle retention, but the attainment of an overload state as defined kinetically earlier has been inferred, but not ascertained”*.

Some papers by Kuempel *et al*²⁵ claim that it would be highly questionable whether the accumulation of dust in coal miners' lungs was caused by a retardation of macrophage-mediated lung clearance as in rats. Kuempel²⁵ describes a set of pharmacokinetic models and concludes that some lung dust burden data relating to coal miners are best explained by a model that includes a process of interstitialization of the dust particles; a decline in alveolar clearance would be of no or of much less importance than expected from rodent studies. Most of the long-term dust retention is attributed to a transition of the particles into the interstitium, where they are sequestered, rather than to an accumulation in the alveoli. This may be interpreted as advocating the assumption that there are fundamental differences in the lung clearance mechanisms between rats and humans and that, therefore, any relevance of these rat lung tumours for humans is very doubtful.

However, how substantial actually are the doubts for such a far-reaching verdict? The analyses of Kuempel²⁵ are based on data from 131 former coal miners who died between 1959 and 1973. This is a small sample, particularly in the light of the uncertainties of the exposure data. The mean exposure duration of the three subgroups of these miners ranges from 26.8 to 44.4 years. The forty-year exposure of a miner who died in 1960 corresponds to a start of exposure in the year 1920. How precisely can the mine dust concentrations of the twenties, thirties and forties be estimated? The analysis by Kuempel²⁵ obviously treated the exposure concentrations, exposure durations and lung dust burdens of the miners as measured values and evaluated the goodness of fit of various pharmacokinetic models to these data. One of the results was that *“the no overload or 50% overload models provide similar fit”*. This means the variance of the data did not allow one – as usual in such analyses – to differentiate precisely between the model without “overload” and the model with a certain expression of “overload”. The analysis thus does not exclude a retardation of macrophage-mediated clearance contributing to the dust accumulation in the miners' lungs. This impossibility of unequivocal differentiation between models applies to the analysis if the data are treated as “exactly” measured values. It has to be added that the uncertainty within these values is even larger as they refer to exposures in the first half of the twentieth century.

It is also necessary to shed some light on the remark that the decline in alveolar clearance might have been “much less than expected from rodent studies”. It is described in detail by Pott and Roller (in preparation) that quantitative differences between the lung reactions of humans and rats are a precondition for the induction of similar tumour risks in both species; they are not an indication against the extrapolation of the carcinogenic potential from rat to man. Due to the higher number of cells and cell divisions during the lifetime of humans and due to the longer lifespan compared to rats, similar mutation risks per cell, similar stimulated cell proliferation rates and similar repair efficiencies would lead to much higher tumour risks in humans.

Qualitative similarities in the reactions to some dusts by rat and human lungs are striking. This refers to the induction of inflammation, fibrosis and cancer after exposure to silica-containing dusts and to asbestos. There are, in principle, similar mechanistic models for quartz carcinogenesis and for GBP carcinogenesis (fig. 1). Quantitatively, related to the long-term exposure concentration and related to lung fibre burden, the cancer risks after asbestos exposure are much higher in humans than in rats³³⁻³⁵. The evidence after exposure to diesel particles suggests a higher risk in humans than in rats if the epidemiologically observed increases in lung cancer risk are fully attributed to diesel exposure^{16, 36}. Related to the long-term exposure concentration, the lung cancer risks after silica exposure appear to be at least similar in humans and in rats^{37, 38}. In summary, therefore, it is not justified to assume that a particle carcinogenicity similar to rats would not exist for humans. The evidence of GBP carcinogenicity in rats and the evidence of lung carcinogenicity of, e.g., quartz and diesel particles in humans is far too strong to be compensated by mechanistic or kinetic considerations based on single studies. To our knowledge, there are no epidemiological studies showing that the lung cancer risk in humans can *only* be smaller than 1% or 0.1% after a 35 year workplace exposure to a GBP concentration of 3 mg/m³ (like the general dust OEL in Germany).

Conclusions

The following observations and analyses can be summarized:

1. GBP caused lung tumours after inhalation and/or intratracheal instillation in hundreds of rats (at least 3 strains). The spontaneous lung tumour incidence in rats is very low (smaller than 1% in Wistar rats). The tumour incidences in exposed rats reached 80%.
2. There is a coincidence of carcinogenicity in the lungs of rats and humans – besides other substances – for asbestos, nickel compounds and quartz, and – to a certain degree – also for diesel engine emissions. Hamsters have been shown to be not sensitive enough for the detection of carcinogenicity with these dusts in the lung after inhalation. The mechanisms leading to lung tumours in rats after quartz exposure and after exposure to GBP appear to be similar. The toxicokinetic modelling by Kuempel²⁵ does not exclude overload effects and increased lung cancer risks in humans.
3. Hypotheses as to a threshold have been based on presentations that do not adequately reflect the information contained in the data.
 - a) The data collection and analysis by Driscoll¹² regarding carcinogenicity studies has been published several times

– by way of supporting a threshold^{10, 11, 20, 21}. However, it has already been shown that the regression models fitted to the data are actually *not* S-shaped and that this data collection therefore does *not* contain information about a threshold. Even a strictly linear dose-response relationship will appear “hockey-stick-shaped” when plotted on a logarithmical scale.

- b) There has been much reference to hypothetical mechanisms of particle carcinogenesis. It has been stressed that there would be a threshold for retardation of macrophage-mediated particle clearance. However, it has already been shown that even the presentation of Morrow *et al*⁸ (repeated by Oberdörster¹¹ and Miller²¹ does *not* contain information regarding a threshold.
- c) There are many examples of a low-dose-linear dose-response relationship for inflammatory increase of the number of neutrophils in BAL.
- d) Sometimes it has been acknowledged that increase in the number of neutrophils occurs even at very low particle doses, but a threshold was postulated owing to the occurrence of events following inflammation, particularly mutations caused by ROS released by phagocytes. It has already been shown that the appearance of a hockey-stick-like shape of the relationship between neutrophils and frequency of *hprt*-mutations in the instillation study by Driscoll *et al*³⁰ is due to an inadequate use of the percentage of neutrophils, which reached a plateau of about 60%. There is a low-dose-linear relationship between the absolute number of neutrophils and the frequency of *hprt*-mutations - without any indication of a threshold.
4. The lowest GBP-F doses besides diesel soot leading to statistically significantly increased lung tumour incidences in the 19-dust study are only about a factor of 5 greater than the dust volume of 1 µl/g control lung that represents a kind of dust standard in Germany. The highest dust volume burden in an inhalation study with test toner was only about 3 times higher than this dust standard. The highest exposure mass concentration in this study was lower than the current OEL for certain exposure situations in Germany. Despite this relatively low exposure concentration, the toner inhalation study is not clearly negative: an “exact” trend test (generalization of the Fisher test) is marginally positive.

These data clearly demonstrate the carcinogenic potential of GBP. By the end of the twentieth century, there was a great consensus that carcinogenic potential should be considered as a specific property of a substance – regardless of dose – and that the recognition of carcinogenic potential should play a major rôle within preventive conceptions. The overall evaluation groups of the IARC monographs have been based on this concept - and also the evaluations of the US EPA and the German MAK commission and the system of “Classification and Labelling” of the European Union. In recent years, a new concept has appeared in scientific discussions and also in the evaluations of the German MAK commission³⁹⁻⁴¹. This concept claims to differentiate between “hazard assessment” and “risk assessment” or “risk characterization”. Though it is – no doubt – most often appropriate to evaluate a certain exposure situation from the viewpoint of carcinogenic potential (hazard), of carcinogenic potency (dose-specific risk), of exposure concentration and – ultimately – of risk (in the sense of probability of tumour formation), a strange circular

argumentation seems to be the questionable outcome of the new concept: if the experts judge that a substance clearly is carcinogenic in an animal experiment or in epidemiological studies at former workplaces but that there is only a “negligible” risk associated with the current Occupational Exposure Limit, then they may simultaneously imply that the substance is non hazardous – because of the (wrong) equation: small risk = no risk = no hazard (in Germany, a similar argument led to the “classification” of TCDD by the MAK commission within a newly created “category 4” of substances with carcinogenic potential for which the mechanism of action indicates *no significant contribution to cancer risk*, provided that a MAK value is observed. The term “significant” is expressed in the German text by the word “nennenswert” which is akin to “noteworthy”).

What does this mean for GBP? The observations and analyses described above offer evidence of carcinogenicity at doses closer to current Occupational Exposure Limits than can be found with virtually all known carcinogens. The inhalation studies of Bellmann *et al*¹³ and of Muhle *et al*²⁴ indicate at least a suspicion of dose-response relationships in the range of current Occupational Exposure Limits; the risk at the limit value can be estimated as 1 to 3%. So, what evidence is missing? There is no statistically significant increase in the tumour incidence at an exposure concentration equal to the lowest current limit value. But what risk is represented by a statistically significant increase in the tumour incidence in a realistic animal experiment? We know that, as a rule, an excess tumour incidence of about 10% is necessary for statistical significance at the 5% level, and we also know that significance at only the 5% level often leaves some doubt about a causal relationship. So, demanding the necessity of significance at the limit value means practically ignoring excess risks in animals by less than 10%, e.g. a risk of 3%. And ignoring a risk of 3% *de facto* means accepting a risk of 3%.

What will happen if a statistically significant increase is found in the tumour incidence with GBP in a rat inhalation study at an exposure equivalent to the lowest limit value? If I were an advocate of the overload hypothesis, I would in that case insist that this observation proves the great difference between rats and humans: rat lungs react with overload at doses lower than OEL-criteria leading to unrealistic tumours, while Kuempel²⁵ has shown that there are quite different toxicokinetics in human lungs. So, what does a statistically significant increase in the tumour incidence with GBP in a rat inhalation study mean for human health?

The actual discussion about GBP carcinogenicity does not focus on details like “can a threshold be found for *hprt*-mutations or for 8OHdG formation in the next mechanistic experiment?”. Of course, some no *observed* effect level will always be found in toxicological experiments. But the ultimate questions are: “Should a carcinogenic effect of GBP at the workplace only – and exclusively – be taken into consideration if epidemiology can unequivocally establish a causal relationship between increased lung cancer risk and GBP exposure at the lowest existing OEL? Should a carcinogenic effect of GBP in the general environment only – and exclusively – be taken into consideration if epidemiology can unequivocally establish a causal relationship between increased lung cancer risk and GBP exposure at relatively low environmental exposure levels?”.

These questions lead back to the reasons why animal experiments were started decades ago. The demand for doubt-free epidemiological evidence for every exposure situation was equiva-

lent to a risk acceptance so high that general agreement was impossible for many decades. The lifetime lung cancer risk in the male general population of developed countries in the last twenty years varied between about 5% and 9%. For statistical significance, an SMR or OR of about 1.5 is necessary in usual studies, corresponding to an excess risk of some percent. A single statistically significant SMR of 1.5 will usually not be accepted as evidence of a causal relationship (“Hill criteria”). An SMR or OR of 2.0, i.e. a doubling of the background risk, corresponds to an excess risk as high as the background risk of, e.g., 8%. Roughly speaking, a causal relationship between exposure and increased lung cancer risk corresponds to an excess risk of at least 10% induced by that exposure. I never imagined that possible cancer risks near this magnitude would be part of a discussion of being *not significant* - in the sense of *not noteworthy*.

The following paragraph is part of the IARC Scientific Publication on the design and analysis of long-term animal experiments⁴²: “*In screening studies, the biological ideal would be to test only dose levels comparable to those to which humans are exposed. However, this is not practicable on statistical and economic grounds, unless the substance tested is an extremely potent carcinogen. There are potentially millions of humans exposed to many of the test substances under consideration, whereas it is usually feasible to expose only hundreds or perhaps a few thousand animals. Thus, a substance that causes the rate of some cancer in humans to increase from 1% to 2%, say, might cause tens of thousands of human cancers but might not be detected as a carcinogen even in a relatively large animal experiment. As it is not feasible to carry out tests involving millions of animals, the only solution is to use dose levels that induce measurable rates of response.*”

According to the observations and analyses mentioned above, the evaluation of GBP effects is at a point where carcinogenic effects have been found relatively close to OEL-equivalent exposure, where several hypotheses of a threshold have turned out as erroneous and where epidemiological data do not exclude carcinogenicity in humans (the analyses by Kuempel²⁵ are not sufficient contrary evidence). It is likely that future mechanistic data will allow interpretations in various directions and that a causal relationship to current OELs for GBP will not be detected epidemiologically. But at present, I refuse to believe that the call for doubt-free refutation of every possible threshold-hypothesis or for “unequivocal epidemiological low-exposure-evidence” and the consequent risk acceptance will become common sense among scientists and institutions involved in health protection.

Acknowledgements

Data analysis was supported in part by a grant from the Federal Institute for Occupational Hygiene (FIOSH), Dortmund, Germany.

References

1. Pott F, Roller M. Carcinogenicity of poorly soluble particles in rats – in man too? In Heinrich U, Mohr U (Eds). Relationships between acute and chronic effects of air pollution. ILSI Monographs. Washington, DC: ILSI Press, 2000, 235-53.
2. Pott F, Roller M, Althoff G-H, *et al*. Lung tumors in rats after repeated intratracheal instillation of coal dusts. In Heinrich U, Mohr U (Eds). Rela-

- tionships between acute and chronic effects of air pollution. ILSI Monographs. Washington, DC: ILSI Press, 2000, 409-13.
3. ILSI Risk Sciences Institute Workshop Participants. The relevance of the rat lung response to particle overload for human risk assessment: a workshop consensus report. *Inhal Toxicol* 2000; 12: 1-17.
 4. Vostal JJ. Factors limiting the evidence for chemical carcinogenicity of diesel emissions in long-term inhalation experiments. In Ishinishi N, Koizumi A, McClellan RO, *et al.* (Eds). *Carcinogenic and mutagenic effects of diesel engine exhaust. Developments in Toxicology and Environmental Science*, Vol 13. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier Sci Publ (Biomed Div), 1986, 381-96.
 5. Ferin J, Feldstein ML. Pulmonary clearance and hilar lymph node content in rats after particle exposure. *Environ Res* 1978; 16: 342-52.
 6. Bolton RE, Vincent JH, Jones AD, *et al.* An overload hypothesis for pulmonary clearance of UICC amosite fibres inhaled by rats. *Br J Ind Med* 1983; 40: 264-72.
 7. Vincent JH, Johnston AM, Jones A.D, *et al.* Kinetics of deposition and clearance of inhaled mineral dusts during chronic exposure. *Br J Ind Med* 1985; 42: 707-15.
 8. Morrow PE, Muhle H, Mermelstein R. Chronic inhalation study findings as a basis for proposing a new occupational dust exposure limit. *J Am Coll Toxicol* 1991; 10: 279-89.
 9. Lechner JF, Mauderly JL. Sequence of events in lung carcinogenesis: Initiation and promotion, protooncogenes and tumor suppressor genes, and particulates. In Mohr U, Dungworth DL, Mauderly JL, *et al.* (Eds). *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract. ILSI Monographs*. Washington, DC: ILSI Press, 1994, 235-51.
 10. Oberdörster G. Lung particle overload: Implications for occupational exposures to particles. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995; 27: 123-35.
 11. Oberdörster G. Toxicokinetics and effects of fibrous and nonfibrous particles. *Inhal Toxicol* 2002; 14: 29-56.
 12. Driscoll KE. Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure. *Inhal Toxicol* 1996; 8 suppl: 139-53.
 13. Bellmann B, Muhle H, Creutzenberg O, *et al.* Lung clearance and retention of toner, utilizing a tracer technique, during chronic inhalation exposure in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1991; 17: 300-13.
 14. Morrow PE. Mechanisms and significance of "particle overload". In Mohr U, Dungworth DL, Mauderly JL, *et al.* (Eds). *Toxic and carcinogenic effects of solid particles in the respiratory tract. ILSI Monographs*. Washington, DC: ILSI Press, 1994, 17-25.
 15. Bellmann B, Creutzenberg O, Ale H, *et al.* Models of deposition, retention and clearance of particles after dust overloading of lungs in rats. *Ann Occup Hyg* 1994; 38 suppl 1: 303-11.
 16. UBA (Umweltbundesamt, Ed). Durchführung eines Risikovergleichs zwischen Dieselmotoremissionen und Ottomotoremissionen hinsichtlich ihrer kanzerogenen und nicht-kanzerogenen Wirkungen. *Berichte 2/99 - Forschungsbericht 297 61 001/01*. Durchführende Inst.: Fraunhofer Institut für Toxikologie und Aerosolforschung. Bearb.: Mangelsdorf I (Koordination), Aufderheide M, Boehncke A, *et al.* Report Nr. UBA FB 99-033. Berlin: Erich Schmidt, 1999.
 17. Yu CP. Extrapolation modeling of particle deposition and retention from rats to humans. In Mauderly JL, McCunney RJ (Eds). *Particle overload in the rat lung. Implications for human risk assessment*. Washington, London: Taylor and Francis, 1996, 279-91.
 18. Tran CL, Buchanan D, Miller BG, *et al.* Mathematical modeling to predict the responses to poorly soluble particles in rat lungs. *Inhal Toxicol* 2000; 12 suppl 3: 403-9.
 19. Donaldson K, MacNee W, Jones A, *et al.* Significance of associations between inflammatory and neoplastic processes after exposure to particles. In Heinrich U Mohr U (Eds). *Relationships between acute and chronic effects of air pollution. ILSI Monographs*. Washington DC: ILSI Press, 2000, 253-9.
 20. Oberdörster G. Pulmonary carcinogenicity of inhaled particles and the maximum tolerated dose. *Environ Health Perspect* 1997; 105 suppl 5: 1347-55.
 21. Miller FJ. Dosimetry of particles in laboratory animals and humans in relationship to issues surrounding lung overload and human health risk assessment: a critical review. *Inhal Toxicol* 2000; 12: 19-57.
 22. Roller M. Comment to the paper of Driscoll, K.E.: Role of inflammation in the development of rat lung tumors in response to chronic particle exposure, published on *Inhal Toxicol* 1996; 8 Suppl: 139-153. *Inhal Toxicol* 1998; 10: 173-8 (letter).
 23. OSHA (Occupational Safety and Health Administration) Occupational exposure to methylene chloride. OSHA Federal Register # 62:1494-1619. FR Doc. 97-198 Filed 1-9-97. http://www.osha-slc.gov/FedReg_osha_data/FED19970110.html. 1997.
 24. Muhle H, Bellmann B, Creutzenberg O, *et al.* Pulmonary response to toner upon chronic inhalation exposure in rats. *Fundam Appl Toxicol* 1991; 17: 280-99.
 25. Kuempel ED: Comparison of human and rodent lung dosimetry models for particle clearance and retention. *Drug Chem Toxicol* 2000; 23 (1): 203-22.
 26. Nikula KJ, Avila KJ, Griffith WC, *et al.* Lung tissue responses and sites of particle retention differ between rats and cynomolgus monkeys exposed chronically to diesel exhaust and coal dust. *Fundam Appl Toxicol* 1997; 37: 37-53.
 27. Griffis LC, Wolff RK, Henderson RF, *et al.* Clearance of diesel soot particles from rat lung after a subchronic diesel exhaust exposure. *Fundam Appl Toxicol* 1983; 3: 99-103.
 28. Chan TL, Lee PS, Hering WE. Pulmonary retention of inhaled diesel particles after prolonged exposures to diesel exhaust. *Fundam Appl Toxicol* 1984; 4: 624-31.
 29. Wolff RK, Henderson RF, Snipes MB, *et al.* Alterations in particle accumulation and clearance in lungs of rats chronically exposed to diesel exhaust. *Fundam Appl Toxicol* 1987; 9: 154-66.
 30. Driscoll KE, Deyo LC, Carter JM, *et al.* Effects of particle exposure and particle-elicited inflammatory cells on mutation in rat alveolar epithelial cells. *Carcinogenesis* 1997; 18: 423-30.
 31. Greim H. (Ed) *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen) der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft: Allgemeiner Staubgrenzwert*. 25. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1997.
 32. Forth W, Henschler D, Rummel W, *et al.* *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Heidelberg, Berlin, Oxford: Spektrum akademischer Verlag, 1998.
 33. Pott F. Neoplastic findings in experimental asbestos studies and conclusions for fiber carcinogenesis in humans. In Landrigan PhJ, Kazemi H (Eds). *The third wave of asbestos disease: exposure to asbestos in place*. *Public Health Control. Ann NY Acad Sci* 1991; 643: 205-18.
 34. Muhle H, Pott F. Asbestos as reference material for fibre-induced cancer. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73 suppl: S53-S59.
 35. Wardenbach P, Pott F, Weitowitz H-J. Differences between the classification of man-made vitreous fibres (MMVF) according to the European directive and German legislation: analysis of scientific data and implications for worker protection. *Eur J Oncol* 2000; 5 suppl 2: 111-8.
 36. Roller M, Pott F. Are lung tumours from poorly soluble particles in rats relevant for occupational exposure? *International Symposium "Poussières, fumées et brouillards sur les lieux de travail: risques et prévention"*, 11 - 13 June, 2001, Toulouse, France. IVSS Sektion Chemie, IVSS Sektion Forschung. *Proceedings. Paris: Institut National de Recherche et de Securite (INRS)*, 2001, 154-9.
 37. Roller M. Lung tumor risk from silica containing dusts – In some cases higher in humans than in rats. In Heinrich U, Mohr U (Eds). *Crucial issues in inhalation research – Mechanistic, clinical and epidemiologic*. *INIS Monographs*. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag, 2002, 295-307.
 38. Schlüter G. Stellungnahme des Beraterkreises Toxikologie des AGS zur Frage der Einstufung von kristallinem Siliciumdioxid (Quarz [14808-60-7] und Cristobalit [14464-46-1]) in Form von alveolengängigen Stäuben. In Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA, Ed). *Quarz - Einstufung, Dosis-Wirkungs-Beziehungen. Workshop vom 07./08. März 2002 in Berlin. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Tb131*. Bremerhaven: Wirtschaftsverlag NW, 2003, 109-33.
 39. Neumann H-G, Thielmann HW, Filser JG, *et al.* Proposed changes in the classification of carcinogenic chemicals in the work area. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997; 26: 288-95.
 40. Greim H. (ed.) *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeit-*

- splatzkonzentrationen). Änderung der Einstufung krebserzeugender Arbeitsstoffe. abgeschlossen am 31.03.1998. 26. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 1998.
41. Greim H. (ed.) Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten (Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen). Änderung der Einstufung krebserzeugender Arbeitsstoffe. Nachtrag 2000. 30. Lieferung. Weinheim: Wiley-VCH, 2000.
42. Gart JJ, Krewski D, Lee PN, *et al.* Statistical methods in cancer research. Vol. III. The design and analysis of long-term animal experiments. IARC Scientific Publications No. 79. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1986.
43. Hext PM. Current perspectives on particulate induced pulmonary tumours. *Human Exp Toxicol* 1994; 13: 700-15.
44. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Vol 68. Silica, some silicates, coal dust and para-aramid fibrils. Lyon: IARC, 1997.

Polydimethylsiloxane as an aspecific immune adjuvant and cytokine slow-release medium in local cancer treatment. Pilot trial report

Il polidimetilsiloxano, un immunoadjuvante aspecifico e veicolo di citochine a lento rilascio nel trattamento locale dei tumori. Resoconto di uno studio pilota

Beniamino Palmieri and Giorgia Benuzzi

Department of General Surgery and Surgical Specialty, University of Modena and Reggio Emilia, Modena, Italy

Summary

Background. Silicone oil or gel *in vivo* has some well defined chemotactic properties on the monocytes and lymphocytes, with an aspecific soluble immune response. When spread among human tissues either accidentally or on purpose, its final outcome is a fibrotic reaction. Furthermore, due to its viscosity it releases any physically enclosed lyophilized compound very slowly. **Materials and methods.** We used 0.25 ml silicone oil as a chemical adjuvant and slow-delivery system of interspersed recombinant interleukin-2 for intratumour injection in 15 locally advanced cancer patients according to a protocol of 300,000 IU weekly, for one month. **Results.** The procedure was generally safe and the following results were observed: sudden shrinkage and fluidification of tumour mass: 5 cases; tumour mass reduction and functional improvement: 7 cases; tumour mass hardening and fibrosis, no volume change: 2 cases; tumour unchanged: 1 case (pancreatic cancer). **Conclusions.** Silicone oil should be considered as a cytokine medium useful for modulating the immune response after intratumour injection. Eur. J. Oncol., 8 (4), 295-300, 2003

Key words: tumour masses, silicone oil, polydimethylsiloxane, interleukin-2, immunological response

Introduction

Polydimethylsiloxane possesses chemotactic properties on the lymphocytes, monocytes and macrophages and, due to its viscosity, allows some molecules to be trapped between the silicone

Riassunto

Presupposti. L'olio o gel di silicone *in vivo* ha proprietà chemiotattiche ben definite sui monociti e sui linfociti, con risposta immunitaria solubile aspecifica. Il risultato finale, quando viene diffuso nei tessuti umani accidentalmente o di proposito, è una reazione fibrotica. Inoltre, per la sua viscosità, libera molto lentamente qualsiasi composto liofilizzato ad esso legato fisicamente. **Materiali e metodi.** Abbiamo utilizzato 0,25 ml di olio di silicone come adiuvante chimico e sistema a lento rilascio di interleuchina-2 ricombinante in esso contenuta, per l'iniezione intratumorale in 15 pazienti con tumore localmente avanzato secondo un protocollo che prevedeva 300.000 UI/sett., per un mese. **Risultati.** La procedura è stata generalmente sicura, e sono stati osservati i seguenti risultati: rapida riduzione e colliquazione della massa tumorale in 5 casi; riduzione della massa tumorale e miglioramento funzionale in 7 casi; indurimento e fibrosi della massa tumorale in 2 casi; nessuna modificazione in un caso (carcinoma del pancreas). **Conclusioni.** L'olio di silicone come substrato per citochine dovrebbe essere preso in considerazione per modulare la risposta immunitaria dopo iniezione intratumorale. Eur. J. Oncol., 8 (4), 295-300, 2003

Parole chiave: masse tumorali, olio di silicone, polidimetilsiloxano, interleuchina-2, risposta immunitaria

chains, and released at a very slow rate. Naoum *et al*¹ published an elegant histological and immunohistochemical study of medical grade silicone fluid, available for soft tissue augmentation with a viscosity of 350 centistokes at 25°C, their aim being to define mesenchymal and immunocompetent cell response.

The report, on 15 volunteers injected with very low doses (0.05-0.07 ml) of silicone followed by serial punch biopsies after 2, 13 days, and 1, 2, 3, 4 and 12 months, showed a short term perivascular lymphocytic infiltrate (delayed hypersensitivity reaction); later on IgG-IgA deposits were detected around the vessel walls, with a final fibroblastic reaction.

Pervenuto/Received 4.6.2003 - Accettato/Accepted 8.8.2003

Indirizzo/Address: Prof. Beniamino Palmieri, Università di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Chirurgia Generale, Via del Pozzo 71, 41100 Modena, Italia - Tel. 0039/059/4222483 - Fax 0039/059/4224370
E-mail: palmieri@unimo.it

In our opinion silicone oil might be an ideal adjuvant for local cytokine administration in cancer treatment, especially in the head and neck areas where it is necessary to counteract tumour expansion to prevent vital function impairment. In other organs or anatomic regions (like the pancreas, or liver, or abdominal wall), primary and secondary unresectable cancers might also be infiltrated with such a compound in order to limit their growth, and tissue infiltration.

In our pilot trial, we chose to inject human recombinant interleukin-2 (IL-2), because of pre-existing literature on its potential effectiveness in human tumours and reported safety at low doses.

Recently De Stefani *et al*² reported a long term follow up of 201 patients suffering from resectable ORL cancer. They were treated with perilymphatic interleukin-2 injection at the dose of 5000 IU 10 days before surgery and 5 days after, and monthly for one year. The treated group fared better than controls in terms of disease-free period and overall survival.

Low interleukin-2 doses have also been directly injected into tumour masses, with positive results^{3,4}.

Other biological compounds, like Tumour Necrosis Factor (TNF) might also be dispersed in polydimethylsiloxane as a single drug or sequential multidrug schedule for local immunotherapy.

Materials and methods

Between January 1998 and December 2002 15 volunteers (Table 1) fulfilling the following criteria underwent the procedure: locally advanced quickly growing cancer with impending risk to life, after having completed all the prescribed chemo-radiation protocols, and having been discharged from the Oncological Centres, with symptomatic prescriptions.

After giving informed consent they were injected once a week for one month, with 0.25 ml polydimethylsiloxane medical grade, with a viscosity of 350 centistokes at 30°C temperature, as supplied by Eurosilicone (APT, France) in which 300,000 units of lyophilized interleukin-2 (Proleukin-Chiron) had been previously mixed (1.5 cc of silicone introduced into ampoules of lyophilized interleukin-2) and physically dispersed by means of prolonged shaking at 37°C for 5 minutes.

The injection was performed under local anaesthesia (1 ml 1% carbocaine + 1:100,000 epinephrine injected with 21 G needle) along the silicone-injecting needle track. Twenty minutes later, when the skin was blanched by vasoconstriction, we approached the tumour mass with an 18 G needle connected to a Luer-lock glass syringe containing polydimethylsiloxane mixed with cytokine. The needle was planted at least 0.5 cm into the cancer bulk, under ultrasound (US) guide, avoiding transfixing of any visible vessel. When the tip of the needle was correctly placed in the tumour, aspiration of blood was ruled out by withdrawing the plunger. Then the syringe content was slowly but firmly injected under high pressure due to the viscosity of the mix; temporary compressive medication was finally applied to stop any bleeding.

The procedure was repeated in various different areas of the tumour every week, for one month except for two cases who received to one injection only (n. 12 and 13).

Biopsies were taken in three cases at the fourth injection.

At follow-up, symptoms and vital signs were recorded. A CT scan was performed at the end of the injection cycles and compared with the pre-treatment scan.

Results

The procedure was painless, safe, without any major morbidity or mortality. Fever (38-40°C) was the main symptom arising 3-5 hours after interleukin-2 injection. Three cases had moderate pain worsening (n. 4 and 5 with burning or sharp pains, that were improved by tramadol+ketoprophen, and n. 7). In one patient with thyroid anaplastic cancer and cervical spine infiltration a significant increase in neck nerve pain was observed during treatment, and morphine 30 mg/daily was successfully administered to relieve it.

The quality of life was at least temporarily improved in 5 cases.

The tumour mass shrank and colliquated after the first injection in 3 cases, after the second in another case (n. 5). In case n. 3 necrosis ensued two weeks after the 4th injection: the neck mass was extruded from a cervical wound and a severe carotid haemorrhage proved possible to control by embolization. Reduction of the infiltrated mass, between 30% and 70%, was achieved in 6 cases with compression symptom improvement. In three patients a hard, 1 cm² wide tumour area around the injection site was observed after 48-72 hours. No acute phlogosis, and no severe pain or constriction symptoms were generally detected, and the final outcome was hardening of the tumour mass with extended fibrosis.

In the injected areas no tumour enhancement was ever demonstrated, and an increase by at least 6 months in the expected survival was observed in 8 cases, two of them are still alive (one treated three months ago (n. 9 (fig. 1)), and the other 12 months ago (n. 14). The causes of death were related to cancer complications spreading to the lungs, liver or abdomen (Table 1).

Discussion

Our open study does not claim to be a formal clinical trial, but rather an anecdotal palliative treatment for nodular primary or secondary tumours, whenever impending risk due to cancer mass growth, and compression-infiltration of vital structures with functional impairment is feared.

The idea of mixing medical grade silicone oil with cytokines, to induce both chemotaxis and slow cytokine release, thus improving the biologic effect, is intriguing.

Several experimental studies have investigated the adjuvant or arthritogen effect of silicone itself or mixed with complete or incomplete Freund adjuvant⁵⁻⁸.

Naim *et al*⁹ investigated the induction of hypergammaglobulinaemia and macrophage activation by silicone oil in female A.SW mice, showing that intraperitoneal injection of 0.5 ml of oil does not induce antinuclear antibodies but causes an increase in total serum IgM and IgG 3. Furthermore peritoneal macrophages produced higher levels of interleukin-1 beta (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) and tumour necrosis factor alpha (TNF- α), compared with controls.

Similar findings¹⁰ were detected when human monocytes were challenged *in vitro* with silicone oil, as compared with tissue culture polystyrene. The explanation of this almost redoubled cytokine release is related to the hydrophobic surface of silicone that will cause denaturing of any proteins absorbed into it. The monocytes were able to react to this silicone/serum protein exposure by increasing their cytokine production.

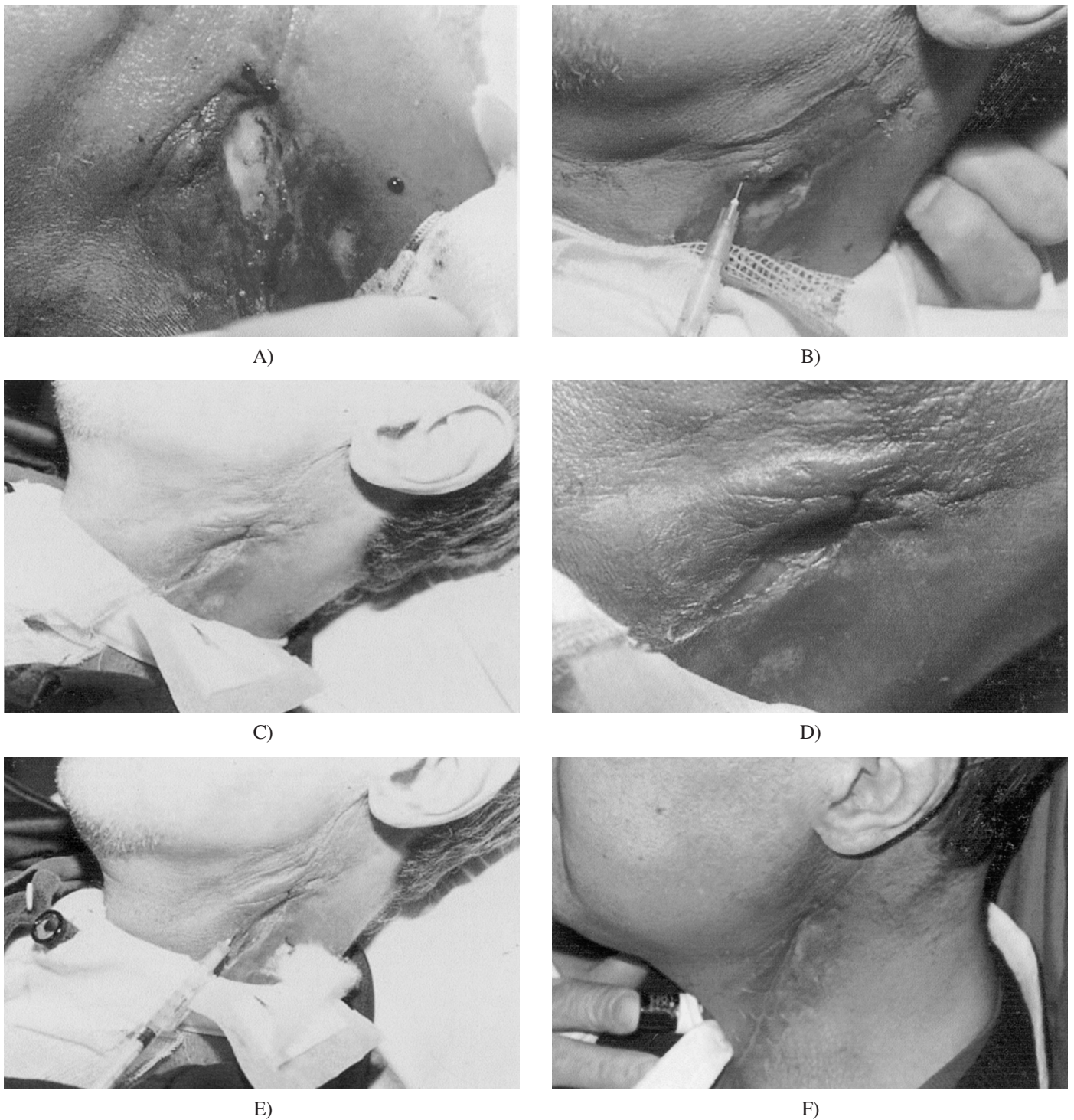


Fig. 1. P.C. Laryngeal cancer with neck involvement after chemo-radiation therapy at the beginning (A). Intratumoral injection (B and E) and progressive improvement (C and D) to healing at the end of the month (F).

The Chang investigation⁶ in the Lewis rat model, describes the results of intraperitoneal injection of silicone in conjunction with heat-killed *Mycobacterium tuberculosis* and mouse tumor cells EL₄; this protocol failed to enhance immunoresponse against the EL₄ cells in the peritoneal cavity.

The same mix injected into the subplantar foot area did not induce any arthritis and the author concludes that silicone cannot be considered a substitute for complete Freund's adjuvant.

Picha *et al*⁷, using the Lewis rat model, evaluated both the adjuvant and antigenic properties of low molecular weight silicone and fumed silica, variously mixed with complete and incomplete Freund's adjuvant, and followed up for 120 days. Again in this experimental model the silicone oil failed to act as an adjuvant; furthermore fumed silica did not act as an antigen, but elicited a delayed immune reaction, different from the classic arthritogenic one, and based on its ability to be an inert surface on which my-

Table 1 - Overview of the treated patients and of the benefits of intratumour injection

N.	Initials	Age	Sex	Diagnosis	Prognosis (months)	Reduction Local treatment effects	Shrinkage Fibrosis	Complications due to therapy	Survival Performance Status (Karnofsky index)		Cause of death	
									Before	After		
1	C.K.	28	F	Ethmoid cancer with skull and meningeal infiltration	1	Dramatic improvement at first; closure of orbital-maxillo ulcer and skinhealing injection	+	Chills and short term fever	9	30	100	Relapse after 8 month and progression of cerebromeningeal cancer; blindness and pain in the last 2 weeks
2	F.O.	68	M	Anaplastic thyroid cancer	3	Hardness and firmness of the thyroid mass.	+	Progressive pain to cervical nerves requiring opioids in the last period; short term fever.	12	70	100	Cancer cachexia and lung metastasis; progression of the tumour to cervical spine posteriorly in the non treated area.
3	G.G.	42	M	Cancer of pyriform sinus, neck invasion	1	Closure of neck ulcer, weight increase and general improvement.	+	Short term fever, pain at the end of injection cycle.	4	80	100	Tumour shrinkage and haemorrhage; infection of the tumour cavity; sepsis.
4	Z.N.	74	M	Left maxillary sinus cancer, orbit and nasal fossa infiltration: Progression of disease Pain and ocular globe extrusion by the tumour mass. Improvement of upper respiratory symptoms.	3	Improvement of nasal breathing, and partial orbit prominence reduction.	+	Fever and chills Lately facial pain.	8	30	80	Local tumour progression, severe pain; haemorrhage.
5	S.G.	72	M	Parotid cancer with neck multiple metastasis;	1	Shrinkage of retroauricular mass	+	Some fever and lately onset moderate pain.	6	30	60	Cachexia, lung metastases.
6	A.A.	62	F	Thyroid metastatic follicular cancer with big local recurrence: complete tumor fluidification after 3 sessions.	3	Massive tumor fluidification after the first injection.	+	Some fever, but very well tolerated.	9	60	90	Acute polmonary insufficiency (lung metastases).
7	B.M.	65	F	Cancer of the tongue.	3	Hardness and firmness of the tongue, trigeminal pain.	+	Some fever, but very well tolerated	Still alive after 18 months	60	100	Undergone tumor biopsy, and following chemoembolization.
8	Z.G.	58	M	Cancer of parotid. Local relapse	6	Hardness and firmness of the mass that never ulcerated.	+	Well tolerated, late onset pain.	16	60	90	Died of liver metastasis, ascites, and pulmonary complications.

(continued)

Table 1 - (continued)

N	Initials	Age	Sex	Diagnosis	Prognosis (months)	Reduction Local treatment effects	Shrinkage Fibrosis	Complications due to therapy	Survival months	Performance Status (Karnofsky index) Before	Performance Status After	Cause of death
9	P.C.	51	M	Cancer of the larynx, neck involvement, neck ulcer. Pharynx larynx fistula + gastrostomy	3	+ Quick healing of neck ulcer, starts swallowing, starts working		Fever well tolerated, no pain.	Still alive after 6 months	20	100	
10	F.R.	56	F	Pancreatic cancer: Peritoneal carcinosis (parietal nodules) cachexia and intestinal obstruction	1	+ Reversed bowel obstruction.		No fever, no pain.	2	20	20	Death due to cachexia and heart failure.
11	U.T.	52	F	Metastatic left neck mass from previous breast cancer and haemorrhagic pleurisy (ex. Basedow)	1	+ Neck nodules reduction, improvement of respiratory parameters.		No fever, well tolerated, appearance of partial tumor regression.	6	40	60	Lately heart-lung insufficiency.
12	M.M.H.	57	F	Pancreatic cancer (intraoperative single injection into the tumor mass). Colecysto-jejunal anastomosi	3	+ Steady state of the tumor, for 5 months then slow progression.		Single intraoperative injection during gastrojejunal bypass.	6	40	80	Liver infiltration by cancer.
13	P.T.	78	F	Bowel cancer with peritoneal carcinosis and parietal mass	1	+ Reduction of the abdominal mass and canalisation.		Single injection, well tolerated.	2	20	20	Cardiovascular insufficiency, Peritoneal carcinosis effective.
14	B.M.		F	Ovary cancer with metastatic nodule in the parietal peritoneum. Progression of disease	6	+ Reduction of the metastatic nodule infiltrated in the right lower abdomen, improved the abdominal subobstruction pain.		Some fever, very well tolerated.	Still alive with progressive markers	60	90	
15	F.L.	40	F	Ovary cancer with pelvic massive cancer invasion, nephrosotomy, anemia	1	+ Partial reduction of the pelvic mass; general conditions improved.		Well tolerated. Fever after injection.	8	20	50	Worsening of renal function.

cobacteria antigens are better exposed to the immunocompetent cells.

The liquid silicone used was a glucose-linked polydimethylpolysiloxane polymer chain.

It has been demonstrated¹¹ that polydimethylsiloxane is able to produce an immune response in guinea pigs, as shown by the macrophage inhibiting technique.

Heggens *et al*¹² hypothesize that macrophages may convert silicone to silica by means of an NADP dependent pathway that produces superoxide radicals: these radicals may attack the silicone methyl-bond of siloxane, thus releasing silica inorganic ion.

Smith *et al*¹¹ detected silicone molecules into the Golgi apparatus, the rough endoplasmic reticulum and at both ends of the lymphocyte-macrophage bridges: these findings confirm the intracellular process of this compound and its interactive role between lymphocytes and macrophages.

Wedler¹³ and Lavey and Pearl¹⁴ describe the silicone-protein interaction, suggesting the hypothesis of hapten-like molecular complex induction.

From these basic experimental results, the rationale for endorsing silicone oil as a locally injected cytokine amplifier against tumour masses is clearly outlined. We might suppose, in fact, that the better exposure of cytokine molecules on the silicone oil framework as well as their slow bioavailability in the micro-environment, might enhance the tumour immunological response. Moreover silicone itself might express tumour antigens to be exposed, as target to killer lymphocytes and macrophages.

As for the soluble immune response to silicone oil whereby injection of it may lead to autoimmune disease, it is alleged to be an HLA-dependent phenomenon, which might be a further mechanism of antibody-complement tumor control: on the other hand, we were never aware in our treated patients of any escape or enhancement phenomenon due to this mechanism.

Medical literature investigations on tissue granuloma¹⁵ due to soft-tissue injected silicone for cosmetic purposes suggest the following aetiology: impurities, an excessive amount of injected compound and individual (probably HLA-related) reactivity.

We tried taking advantage of this clinical warning, assuming that granulomatous and foreign-body response with final fibrosis might be limiting steps to the tumour invasion of the surrounding tissue.

TNF is a further cytokine released from macrophages in the chemotactic response with a strong antitumour effect that might play a rôle suited to our purpose.

We used high purity medical-grade silicone oil, moderately viscous, at low dosages so as not to engulf the immunocompetent

cells; as for to HLA antigens, identification of these would be very useful so as to recognize subgroups of patients on the basis of reactivity to local treatment.

In conclusion our clinical trial shows cytokine-silicone oil treatment to have a certain degree of effectiveness in the local control of tumour growth, and potentially in survival. Treatment by this protocol is painless, safe, not life-threatening, and sometimes causes rapid or delayed cancer fluidification, fibrotic outcome reaction most often enveloping the tumour mass.

Further laboratory investigations are urgently needed to better define the action mechanism of the injected mix and to address the immune response toward definite tumour regression.

References

1. Naoum C, Dasiou-Plakida D, Pantelidaki K, *et al*. A histological and immunohistochemical study of medical-grade fluid silicone. *Dermatol Surg* 1998; 24: 867-70.
2. De Stefani A, Forni G, Ragona R, *et al*. Improved survival with perilymphatic interleukin 2 in patients with resectable squamous cell carcinoma of the oral cavity and oropharynx. *Cancer* 2002; 95: 90-7.
3. Pizza G, Severini G, Menniti D, *et al*. Tumour regression after intravesical injection of interleukin 2 (IL-2) in bladder cancer. Preliminary report. *Int J Cancer* 1984; 34: 359-67.
4. Den Otter W, Balemans L, Battermann JJ, *et al*. Local low-dose IL-2 therapy. *Hepatogastroenterology* 1999; 46 suppl 1: 1280-6.
5. Sergott TJ, Limoli JP, Baldwin CM Jr, *et al*. Human adjuvant disease, possible autoimmune disease after silicone implantation: a review of the literature, case studies, and speculation for the future. *Plast Reconstr Surg* 1986; 78: 104-14.
6. Chang YH. Adjuvanticity and arthritogenicity of silicone. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 469-73.
7. Picha GJ, Goldstein JA. Investigation of silicone oil and fumed silica in an adjuvant animal model. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100: 643-52.
8. Naim JO, Ippolito KM, van Oss CJ. Adjuvancy effect of different types of silicone gel. *J Biomed Mater Res* 1997; 37: 534-8.
9. Naim JO, Satoh M, Buehner NA, *et al*. Induction of hypergammaglobulinemia and macrophage activation by silicone gels and oils in female A.SW mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 366-70.
10. Naim JO, van Oss CJ, Ippolito KML, *et al*. In vitro activation of human monocytes by silicones. *Colloids Surf B Biointerfaces* 1998; 11: 79-86.
11. Smith DJ Jr, Sazy JA, Crissman JD, *et al*. Immunogenic potential of carpal implants. *J Surg Res* 1990; 48: 13-20.
12. Heggens JP, Kossovsky N, Parsons RW, *et al*. Biocompatibility of silicone implants. *Ann Plast Surg* 1983; 11: 38-45.
13. Wedler FC. Analysis of biomaterials deposited on soft contact lenses. *J Biomed Mater Res* 1977; 11: 525-35.
14. Lavey EB, Pearl RM. Inflammation in a silicone-induced granuloma caused by a tuberculosis skin test. *Ann Plast Surg* 1981; 7: 152-54.
15. Wilkie TF. Late development of granuloma after liquid silicone injections. *Plast Reconstr Surg* 1977; 60: 179-88.

Alterazioni morfopatologiche nell'angiodisplasia gastrica: presentazione di un caso clinico

Morphopathological alterations in gastric angiodysplasia: a case report

Marina Accardo*, Massimo De Falco**, Domenico Parmeggiani** ed Alfonso Barbarisi**

* Dipartimento di Morfopatologia, II Università, Napoli, Italia

** Istituto di Chirurgia Sperimentale, Servizio di Chirurgia Generale e della Tiroide, II Università, Napoli, Italia

Riassunto

Obiettivo. È noto che una delle cause di emorragia gastro-intestinale sia rappresentata dalla presenza di focolai di angiodisplasia della mucosa, le cui alterazioni morfologiche di base sono rappresentate da ectasie vasali e da foci di proliferazione vascolare. Questa lesione è ben nota sul piano descrittivo, ma rimane tutt'ora controversa circa i meccanismi istogenetici che la determinano. Gli Autori, sulla base dell'osservazione di un caso clinico, hanno creduto opportuno portare un contributo alla conoscenza di questi meccanismi attraverso l'analisi delle alterazioni morfopatologiche. **Materiale e metodi.** Sono stati effettuati prelievi multipli a livello del corpo e dell'antro gastrico. Tali prelievi, dopo essere stati fissati (formalina tamponata 10%), disidratati e inclusi in resina Histowax, sono stati sottoposti a tagli seriatati dello spessore di 5 µm e colorati con i seguenti metodi: ematossilina-eosina, ematossilina-Van Gieson, Alcian-PAS pH 2,5, Mallory-Vannucci, impregnazione argentea, orceina per le fibre elastiche. **Risultati.** I risultati più significativi indicano che nei vasi angiodisplastici del caso in esame si ha un processo di ipotrofia e frammentazione delle fibre elastiche e delle cellule muscolari della media. **Conclusioni.** Tali risultati permettono di concludere che l'istogenesi di tali displasie è sostanzialmente legata ad uno stato di ipotrofia dell'apparato elastico-muscolare dei vasi colpiti, processo che tende ad accentuarsi con l'età. Eur. J. Oncol., 8 (4), 301-305, 2003

Parole chiave: angiodisplasia, ectasia vascolare antrale gastrica, emorragia gastrica

Introduzione

Sotto l'etichetta di "angiodisplasia" si raccoglie un insieme eterogeneo di alterazioni vascolari tuttora mal definito e non com-

Summary

Aim. It is known that one of the causes of gastro-intestinal haemorrhage is the presence of angiodysplastic lesions in the mucosa, in which the morphological changes consist of ectasic vessels and foci of vascular proliferation. This lesion is well-known in feature, but there are different opinions, as to the histogenetical mechanisms which cause it. On the occasion of a personal report, the authors bring a contribution to the knowledge of these mechanisms, through analysis of the morphopathological alterations. **Methods.** Multiple tissue specimens were obtained from the gastric body and antrum. After proper fixation (10% buffered formalin) and dehydration, they were inclosed in Histowax. Serial tissue sections, 5 µm thick, were subsequently stained with the following methods: haematoxylin-eosin, haematoxylin-Van Gieson, Alcian-PAS pH 2.5, Mallory-Vannucci, silver stain, orcein for elastic fibres. **Results.** The most significant result is that, in the case examined, a process of hypotrophy and fragmentation of the elastic fibres and the muscular cells of the media has been observed in the angiodysplastic vessels. **Conclusions.** These results allow one to conclude that the histogenesis of these angiodysplasias is substantially due to a state of hypotrophy of the elastic-muscular apparatus of the affected vessels. This process grows in patients who are getting on in years. Eur. J. Oncol., 8 (4), 301-305, 2003

Key words: angiodysplasia, gastric antral vascular ectasia, gastric haemorrhage

pletamente conosciuto; in tale gruppo confluiscono alterazioni vasali di tipo congenito o acquisito, spesso accompagnate da processi di neo-angiogenesi.

Quasi sempre, le alterazioni morfologiche di base di queste affezioni, sono rappresentate da ectasie vasali (riguardanti arterie, vene, linfatici), con alterazioni strutturali delle pareti, e frequentemente da foci di proliferazione vascolare.

Secondo la trattazione sistematica della patologia, fa parte del suaccennato capitolo anche la lesione vascolare dell'antro gastrico indicata con il colorito termine di "watermelon", carat-

Pervenuto/Received 16.4.2003 - Accettato/Accepted 1.7.2003

Indirizzo/Address: Dr. Marina Accardo, Dipartimento di Morfopatologia, II Università, Via L. Armanni 5, 80138 Napoli, Italia

Tel. 0039/081/5666006; 0039/081/459747 - Fax 0039/081/459224

E-mail: marina.accardo@unina2.it

terizzata da ectasie vasali della mucosa e della sottomucosa omonima.

Questa lesione si appalesa sotto forma di punti rossi isolati che, allargandosi e confluendo, diventano nel tempo grandi aree arrossate sempre più ampie, fino a raggiungere una diffusione globale a livello di tale mucosa^{1,2}; la localizzazione più frequente è a livello dell'antro, tuttavia sono descritti casi di manifestazione iniziale a livello del corpo e del fondo dello stomaco³⁻⁸.

Questa lesione vascolare non si manifesta esclusivamente a livello dello stomaco, ma può insorgere a qualsiasi livello dell'apparato gastro-enterico; o ancora può manifestarsi sotto forma di focolai multipli, disseminati a vari livelli del tubo digerente.

A proposito di reperti poco frequenti o rari, si provvede a ricordarne alcuni occorsi negli ultimi anni: sono stati riportati casi di angiodisplasia del piccolo intestino⁹; è stato descritto un caso di ectasia vasale del duodeno, complicato da perforazione con conseguente emoperitoneo¹⁰; sono stati segnalati nel medesimo paziente foci angiodisplastici a livello dello stomaco, dell'ileo e del colon¹¹.

Sono stati riportati anche un caso di angioectasia dell'appendice¹², e casi con disseminazione diffusa a tutto il tubo gastro-enterico¹³⁻¹⁵. Nell'ambito dei reperti rari di angiodisplasia è utile qui annotare un caso di angiodisplasia del colon con migrazione della lesione dopo resezione¹⁵. È possibile anche l'associazione di lesione angiodisplastica dello stomaco con lesioni presenti in altri apparati, ed è stato descritto un caso di angiodisplasia gastrica associata a teleangectasie generalizzate¹⁶.

Le ectasie angiodisplastiche dello stomaco possono manifestarsi in associazione a malattie quali epatiti croniche, cirrosi post-epatitiche, cirrosi biliari¹⁷⁻²¹, ipertensione portale da cause diverse, insufficienza renale, malattie autoimmuni^{22,23} o sclerosi sistemica²⁴, valvulopatie⁸, disfunzione congenita delle piastrine e del fattore di von Willebrand²⁵.

Eibner *et al*²⁶ hanno descritto un caso di angiodisplasia del colon associata a uno stato di trombocitopenia, che si manifesta sul piano clinico con numerosi quanto intensi episodi emorragici.

Dalla letteratura emerge che l'angiodisplasia gastro-intestinale è anche associata a una riduzione del fattore di Willebrand; questa situazione favorisce la possibilità di emorragie, poiché a preesistenti condizioni malformative dei vasi si sovrappone uno stato di diatesi emorragica²⁷.

Se si prende in considerazione il fattore età, è stata riportata in letteratura la possibilità della comparsa di tali lesioni in tutte le età; tuttavia il picco di maggiore incidenza si ha nella terza età; a tal proposito è opportuno aggiungere che la lesione angiodisplastica si accentua con il trascorrere della vita.

Il quadro istomorfologico è caratterizzato da due caratteri di base: il primo è rappresentato da un aumento numerico di vasi per unità di superficie dovuto a processi di angiogenesi, il secondo da dilatazione del lume di tali vasi.

La lesione si distribuisce a livello della mucosa e della sottomucosa sotto forma di foci di pochi millimetri di diametro, ma tendenti nel tempo all'ampliamento e alla confluenza. I vasi neoformati abitualmente sono solo di tipo ematico, tuttavia sono riportati in letteratura casi in cui il processo angiogenetico è formato anche da gruppi di vasi linfatici.

Questi vasi sono tra loro quasi a mutuo contatto e sono sostenuti da un'esigua quanto delicata trama fibrillare lassa.

I vasi con una maggiore dilatazione hanno aspetto lacunare e profilo arcuato o angolato.

Le pareti di questi vasi sono molto sottili ed hanno struttura semplificata; il loro rivestimento endoteliale poggia su un sottile strato fibrillare collagene, contenente nel proprio contesto una discontinua quanto insufficiente lamina elastica e una ridotta quota di fibrocellule muscolari lisce.

Accanto ed oltre queste alterazioni strutturali, sono state evidenziate recentemente anche variazioni dell'assetto molecolare delle cellule presenti nella parete dei vasi; infatti Junquera *et al*²⁸ hanno documentato, in un caso di angiodisplasia del colon, un incremento dell'espressività dei fattori angiogenetici (VEGF), dei fattori basici di crescita dei fibroblasti (bFGF) e dei recettori di cellule endoteliali (flt-1 e KDR).

Questi focolai angiodisplastici rappresentano un rischio per lo stato di salute o addirittura per la vita del portatore; possono rimanere silenti sul piano clinico, possono essere evidenziati casualmente nel corso di esame endoscopico oppure si appalesano improvvisamente con un episodio di emorragia.

Dall'esame della letteratura emerge che il profilo anatomico-clinico di questa lesione è ben conosciuto; al contrario la sua istogenesi e la sua etiopatogenesi permangono tuttora non completamente definite; permangono incertezze circa la natura congenita o acquisita, e dubbi sul ruolo svolto da stati ipertensivi portali nel determinismo delle ectasie vasali.

Questi interrogativi hanno suggerito agli Autori di studiare un caso di angiodisplasia dello stomaco per offrire un contributo alla conoscenza di tale lesione.

Caso clinico

O.G. di sesso maschile, 72 anni, giungeva in urgenza per un discreto episodio di ematemesi con valori di Hb 6,4 g/dl, RBC 3,15x10⁶ mm³, HCT 19%; all'esame endoscopico si evidenziava una diffusa congestione della porzione sovrapilorica, striata da bande di colore rosso vivo in parte isolate e ben demarcate, in parte tra loro affastellate e confluenti con numerosi foci emorragici che venivano parzialmente elettrocoagulati; il paziente non veniva sottoposto a esame biptico ed era formulata diagnosi endoscopica di gastropatia emorragica da erosioni antrali multiple con teleangectasie a carico della mucosa dell'antro gastrico; il paziente era quindi trasferito in reparto, dove veniva emotrasfuso e bilanciato da un punto di vista idroelettrolitico. Le indagini clinico-strumentali escludevano l'esistenza di patologia del fegato, delle vie biliari, e in particolare di uno stato di ipertensione portale.

Successivi e ripetuti episodi di ematemesi rendevano il trattamento chirurgico indifferibile. L'esplorazione chirurgica evidenziava che il corpo e in particolare la porzione angolare antro-pilorica erano marcatamente congesti, con multiple aree teleangectasiche; si procedeva pertanto a gastrectomia subtotale con ricostruzione del transito digestivo con ansa ad Y sec. Roux. L'esame istologico definitivo confermava il quadro endoscopico, con diagnosi di *Gastric Antral Vascular Ectasia*. Il paziente veniva dimesso in guarigione chirurgica in XIV giornata.

Reperti macroscopici

Il campione in esame è rappresentato da una trancia gastrica delle dimensioni di 8x7 cm; essa comprende le regioni del corpo e dell'antro dello stomaco.

La superficie interna del viscere ha un aspetto a strisce, per la presenza di strie di colore grigio-biancastro alternate ad altre di colore rosso intenso.

La mucosa e la sottomucosa sono ispessite, tumide, fragili, lacerabili, succulente e al taglio lasciano fuoriuscire liquido sieroso e sangue.

La tonaca muscolare e quella sierosa, invece, presentano un aspetto macroscopico nell'ambito della norma.

Reperti microscopici

Sono stati effettuati prelievi multipli riguardanti la parete del corpo e dell'antro gastrico.

Tali prelievi sono stati fissati con formalina al 10% diluita con soluzione tampone fosfato pH 7,2, 0,1 M.

Tali frammenti sono stati inclusi in histowax, e sottoposti con microtomo a tagli semiseriati dello spessore di 5 μ m.

Le sezioni così ottenute sono state colorate con i seguenti metodi: ematossilina-eosina, ematossilina-V, Gieson, orceina per le fibre elastiche, tricromica di Mallory-Vannucci per il connettivo, impregnazione argentea, Alcian-PAS pH 2.5

Risultati

I reperti istopatologici riscontrati a livello del corpo gastrico sono simili a quelli evidenziati a carico dell'antro; pertanto, per brevità, saranno presentati assieme.

La struttura d'insieme della mucosa appare nei limiti della norma. La linea epiteliale di rivestimento appare focalmente interrotta per erosioni e microulcerazioni superficiali.

La quota ghiandolare è ben sviluppata ed è ben strutturata.

La tonaca propria è infiltrata in modo diffuso da aggregati di cellule immunocompetenti.

In molte zone la linea epiteliale di rivestimento appare sollevata e sporgente per la presenza, al di sotto della stessa, di gomitoli vascolari; questi vasi hanno lume ectasico, ricolmo di eritrociti e hanno pareti sottili (figg. 1, 2); queste sono costituite da una membrana basale rivestita sulla superficie interna da endoteli e sulla faccia esterna da manicotti di cellule mioepiteliali e da fibre collagene.

La *muscularis mucosae* appare ispessita per un processo di iperplasia delle fibrocellule muscolari lisce.

La sottomucosa appare diffusamente ispessita per uno stato di marcato edema interstiziale e per la presenza di una cospicua componente vascolare costituita da arteriole, vene e vasi linfatici.

Lo stato di edema è in alcune zone molto intenso ed ha come conseguenza una dissociazione della tessitura fibrillare (fig. 3).

Nel contesto della sottomucosa, nelle zone in cui l'edema è più accentuato, si repertano cespugli vascolari di grandezza diversa; ognuno di essi è costituito da vasi di taglia diversa e sempre caratterizzati da lume ampio, di aspetto lacunare.

Tali pareti sono rivestite sulla faccia interna da un monostrato continuo di cellule endoteliali lamellari e sono costituite da sottili strati di fibrille collagene; nel contesto delle pareti si ritrovano lamine elastiche sottili, discontinue, slaminate con foci di varicosità (figg. 4-6).

La maggior parte dei vasi ha il lume zaffato di globuli rossi (vasi ematici). Altri, in minor numero, hanno il lume occupato da materiale amorfo, acidofilo, con linfociti, riferibile a linfa (vasi linfatici).

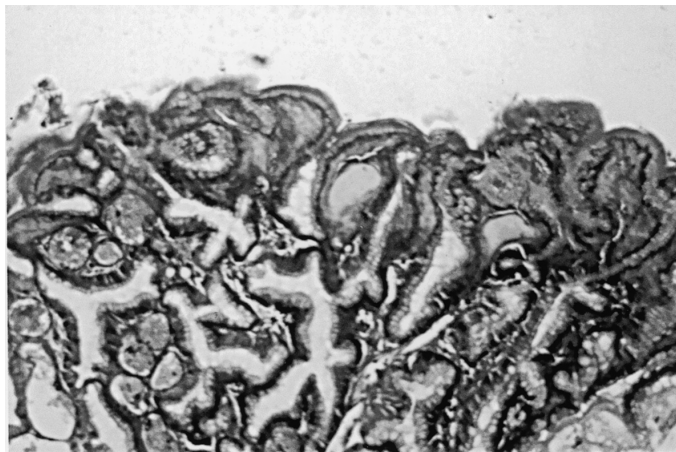


Fig. 1. Mucosa gastrica. Al di sotto dell'epitelio, lungo la fascia superficiale, si repertano gomitoli di vasi con lume ectasico e ricolmo di eritrociti. E.E. x 100.

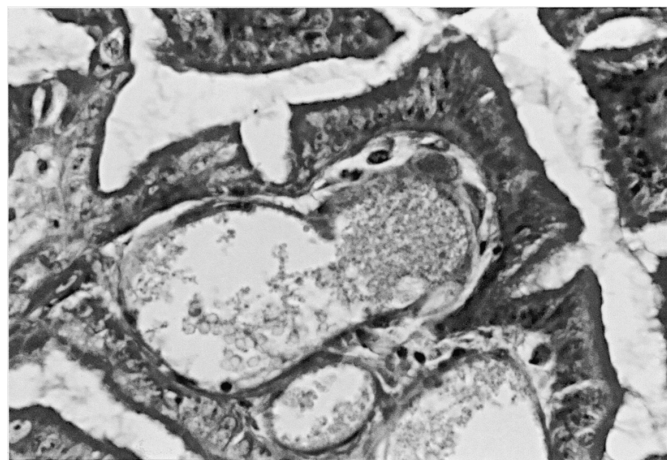


Fig. 2. Mucosa gastrica. A maggiore ingrandimento è possibile rilevare che i suddetti vasi ectasici e dismorfi sono appena al di sotto della membrana basale. In contrasto con l'ampiezza del lume si rileva la sottigliezza delle pareti. E.E. x 400.

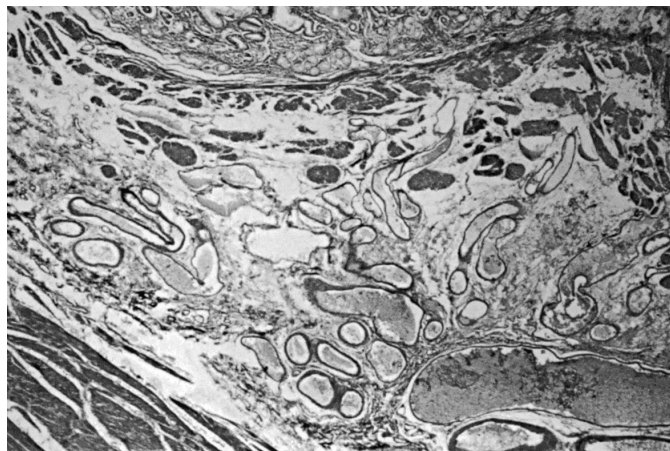


Fig. 3. Sottomucosa gastrica. La sottomucosa appare dissociata da edema ed è sede di grappoli di vasi neoformati ed ectasici. E.E. x 100.



Fig. 4. Sottomucosa gastrica. I vasi hanno lume molto dilatato, le pareti sono assottigliate e quasi del tutto prive di fibre elastiche. Orceina x 400.

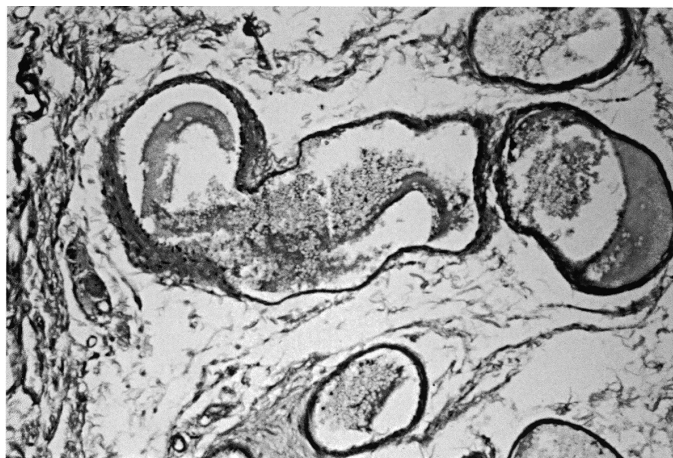


Fig. 5. Sottomucosa gastrica. I vasi hanno profilo distorto e lume ampio. Le pareti sono fornite di quote di fibre elastiche disposte in modo segmentale. Orceina x 400.

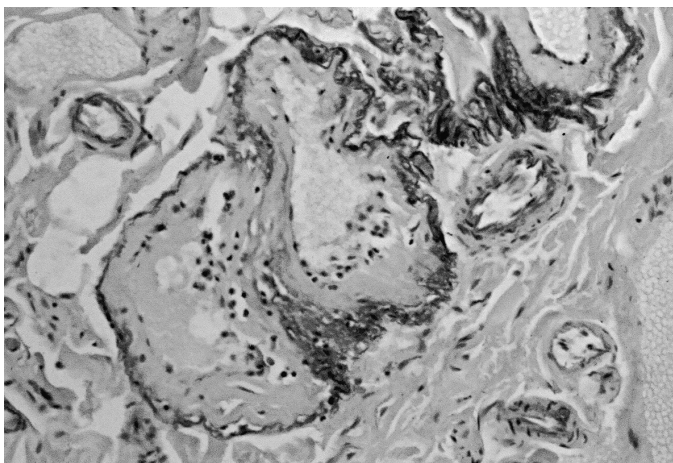


Fig. 6. Sottomucosa gastrica. I vasi sono dismorfi, dilatati e parzialmente occupati da materiale sierico-ematico. Le fibre elastiche sono slaminate e hanno una distribuzione discontinua. Orceina x 400.

Alcuni dei vasi ematici hanno il lume obliterato da trombi di data recente (fig. 7). Tutti i vasi ectasici, ematici e linfatici, hanno pareti molto sottili e comunque inadeguate al diametro del lume.

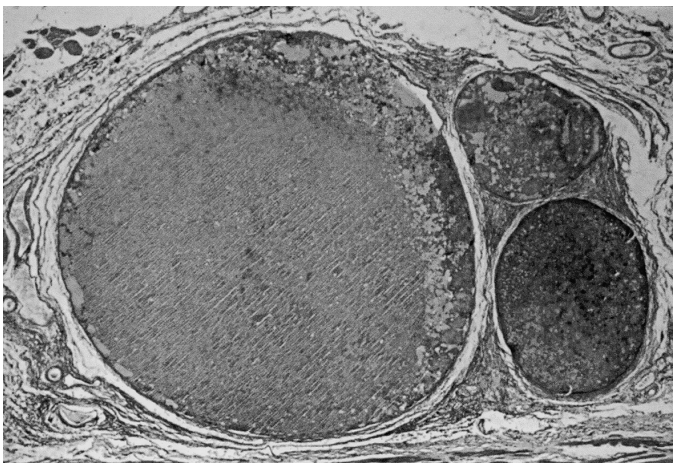


Fig. 7. Sottomucosa gastrica. Il lume dei vasi ectasici può essere completamente ostruito da formazioni trombotiche. E.E. x 400.

Conclusioni

L'etiopatogenesi dell'angiodisplasia dell'apparato gastro-enterico è tuttora incerta ed è oggetto di numerose ipotesi²⁹⁻³¹.

Da quanto è riportato in letteratura, i focolai angiodisplastici possono essere molteplici ed essere distribuiti, anche se con incidenza diversa, in tutto l'apparato gastro-enterico, anche a livello di eventuali diverticoli¹⁶.

Accanto a foci di angiodisplasia con lume ectasico e con stravasi emorragici, possono esistere foci di angiodisplasia clinicamente silenti, con pareti collabite e lume virtuale.

Questa interpretazione poggia sull'ipotesi che foci angiodisplastici siano già presenti alla nascita (malformazioni vascolari), e nel corso degli anni, per cause diverse, possono accrescersi, arricchirsi di nuovi rami^{25,32} ed essere forniti di vasi con lume ectasico; questo processo di ectasia comporta un assottigliamento delle pareti, con squilibrio progressivo tra pressione endovasale e capacità tensive della parete. Molto probabilmente fattori occasionali intervengono improvvisamente, rompendo tale equilibrio, slantizzando i foci di angiodisplasia ed innescando un quadro anatomico-clinico di ematemesi o di melena²⁰.

Tali pareti non solo sono sottili, ma sono zonalmente povere o prive di fibre elastiche.

Roskell *et al*³³ hanno sostenuto che il fattore causale dell'angiodisplasia gastroenterica sia rappresentato da una riduzione del collagene di tipo IV a carico dei vasi. Questa situazione di base può essere aggravata da improvvise puntate ipertensive, e da fattori che modificano i processi di coagulabilità (stati ipertensivi, piastrinopenia, fattore di Willebrand, ecc)^{26,27}.

In letteratura sono stati riportati casi di angiodisplasia a carico dello stomaco o del colon in soggetti affetti da sclerosi sistemica; tale associazione può essere considerata non casuale anche se è difficile dare una concreta spiegazione etiopatogenetica. Non mancano segnalazioni di casi di angiodisplasia gastro-enterica con quadro clinico di emorragia esente da ogni altra patologia; si può verosimilmente ritenere, in questi casi, che le primitive alterazioni vascolari siano già inizialmente molto gravi e spontaneamente incorrano in micro-lacerazioni delle pareti.

Questi elementi consentono di mostrare alcuni aspetti degni di nota del caso in esame, aspetti che ne giustificano la descrizione, e di fornire un contributo alla conoscenza delle angiodisplasie gastriche. Nel caso in esame le lesioni sono ben sviluppate sia a livello della mucosa, sia a carico della sottomucosa.

Nell'ambito della sottomucosa i processi displastici sono più accentuati, più estesi e si accompagnano anche a displasia ed ectasia dei vasi linfatici.

Tutti i segmenti vascolari così compromessi rivelano pareti assottigliate, semplificate e fornite di membrane elastiche molto esigue o addirittura cancellate, con conseguente progressivo sfiancamento delle pareti vascolari nel corso degli anni.

È importante sottolineare il ruolo svolto dalle lesioni angioectasiche superficiali (localizzate cioè appena al di sotto della linea epiteliale di rivestimento) nelle manifestazioni emorragiche.

Appare evidente che anche le semplici lesioni flogistico-erosive possono far desquamare la linea epiteliale, lacerare i vasi e provocare l'episodio emorragico; il rischio di micro-macroemorragie può essere aggravato dallo stato di iperemia attiva indotta dalla flogosi.

Infine è accertato che nel caso in esame non sono stati evidenziati fattori predisponenti, scatenanti o malattie sistemiche preesistenti.

Questo caso rappresenta, quindi, un esempio di angiodisplasia primitiva essenziale, priva di correlazioni patogenetiche con altre patologie. Molto verosimilmente questo caso rappresenta un contributo all'ipotesi malformativa delle angiodisplasie^{20, 29, 33}.

Bibliografia

- Ikeda M, Hayashi N, Imamura E, *et al.* Endoscopic follow-up study of development of gastric antral vascular ectasia. *J Gastroenterol* 1977; 32 (5): 587-92.
- Tominaga K, Arakawa T, Taguchi M, *et al.* Histological estimation of the efficacy of endoscopic laser coagulation therapy for diffuse antral vascular ectasia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12 (4): 469-72.
- Peny MO, Van Gossum A, Noel JC, *et al.* Two cases of water-melon stomach and a review of the literature. *Acta Gastroenterol Belg* 1994; 57 (2): 166-70.
- Takaishi O, Fujiwara Y, Uchida T, *et al.* Histological estimation of the efficacy of endoscopic laser coagulation therapy for diffuse antral vascular ectasia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000; 12 (4): 469-72.
- Occhionorelli S, Mitaritunno M, Pennella A, *et al.* Ectasia vascolare gastrica antrale (GAVE o watermelon stomach): descrizione di un caso. *Pathologica* 2000; 92 (1): 32-5.
- Vesoulis Z, Naik N, Mascellani P. Histopathologic changes are not specific for diagnosis of gastric antral vascular ectasia (GAVE) syndrome: a review of the pathogenesis and a comparative image analysis morphometric study of GAVE syndrome and gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 1998; 109 (5): 558-64.
- Makharia GK, Behra A, Kaman L, *et al.* Watermelon stomach: a rare cause of upper gastrointestinal bleeding. *Indian J Gastroenterol* 1999; 18 (2): 86-7.
- Estevez P, Jimenez FP. Ectasias vasculares del anatro gastrico como causa de sangramiento digestivo cronico. Presentacion de un caso. *Acta Gastroenterol Latinoam* 1999; 29 (5): 325-30.
- Lewis BS. Small intestinal bleeding. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29 (1): 67-95, vi.
- Soda G, Nardoni S, Bosco D, *et al.* Angiodisplasia of the duodenum with arterovenous shunts sub-serosal prevalence and interstitial elastosis; peritonitis and rupture of sub-serous dysplastic vessels and hemoperitoneum. Description of a case and review of the literature. *Pathologica* 1999; 91 (3): 184-91.
- Weinstoch LB, Larson RS, Stahl DJ, *et al.* Diffuse microscopic angiodisplasia a previously unreported variant of angiodisplasia. Report of a case. *Dis Colon Rectum* 1995; 38 (4): 428-32.
- Kyokane T, Akita Y, Katayama M, *et al.* Angiodisplasia of the appendix. *Am J Gastroenterol* 2001; 96 (1): 242-4.
- Gursoy M, Baysal C, Demirhan B, *et al.* Rectal vascular ectasia associated with watermelon stomach. *Gastrointest Endosc* 1999; 50 (6): 854-7.
- Dodda G, Trotman BW. Gastrointestinal angiodisplasia. *J Assoc Acad Minor Phys* 1997; 8 (1): 16-9.
- Oshiro T, Tamai O, Nosato E, *et al.* Migrating site of bleeding in a right colon demonstrating angio-displasia following a segmental resection of the colon. A unique variant of angiodysplasia. *Dig Surg* 2000; 17 (5): 537-41.
- Checketts SR, Burton PS, Bjorkman DJ, *et al.* Generalized essential telangiectasia in the presence of gastrointestinal bleeding. *J Am Acad Dermatol* 1997; 37 (2 Pt2): 321-5.
- Marcinkiewicz A. Watermelon stomach. *Pol Merkuriusz Lek* 1999; 6 (32): 96-9.
- Shirahama M, Miyamoto Y, Irie K, *et al.* Gastric antral vascular ectasia (GAVE) in a patient with primary biliary cirrhosis: seven-year follow-up. *Nippon Shokakibyō Gakkai Zasshi* 1999; 96 (2): 170-5.
- Sebastian JJ, Lucia F, Botella MT, *et al.* Diffuse gastrointestinal angiodisplasia associated with cryogenic hepatic cirrhosis and coagulopathy simulating von Willebrand disease. *Rev Esp Enferm Dig* 1996; 88 (9): 631-3.
- Spahr L, Villeneuve JP, Dufresne MP, *et al.* Gastric antral vascular ectasia in cirrhotic patients: absence of relation with portal hypertension. *Gut* 1999; 44 (5): 739-42.
- Yamada M, Nishimura D, Hoshino H, *et al.* Gastric antral vascular ectasia successfully treated by endoscopic electrocoagulation. *J Gastroenterol* 1998; 33 (4): 546-9.
- Fabian G, Tovari E, Baranyay F, *et al.* Watermelon-stomach as a cause of chronic iron deficiency anemia in a patient with systemic sclerosis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1999; 12 (2): 161-4.
- Klump B, Schneider GA, Fierlbeck G, *et al.* Argon plasma coagulation in endoscopic therapy of CREST syndrome associated upper gastrointestinal hemorrhage. *Z Gastroenterol* 1997; 35(6): 469-76.
- Elkayam O, Oumanski M, Yaron M, *et al.* Watermelon stomach following and preceding systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum* 2000; 30(2): 127-31.
- Okamura T, Kanaji T, Osaki K, *et al.* Gastrointestinal angiodisplasia in congenital platelet dysfunction (comment). *J Hematol* 1997; 65 (4): 419-20.
- Eibner J, Stoltzing H, Thon KP. Angiodisplasia of the colon as the etiology of severe, chronique recurrent intestinal hemorrhage. Idiopathic thrombocytopenia hinders early diagnosis and therapy. *Med Klin* 2000; 95 (11): 649-54.
- Veyradier A, Balian A, Wolf M, *et al.* Abnormal von Willebrand factor in bleeding angiodisplasia of the digestive tract. *Gastroenterology* 2001; 120 (2): 346-53.
- Junquera F, Saperas E, de Torres I, *et al.* Increased expression of angiogenic factors in human colonic angiodysplasia. *Am J Gastroenterol* 1999; 94 (4): 1070-6.
- Egger C, Keezy A, Kirchmair R, *et al.* Gastric antral vascular ectasia with portal hypertension: treatment with TIPSS. *Am J Gastroenterol* 1997; 92 (12): 2292-4.
- Nardone G, Rocco A, Balzano T, *et al.* The efficacy of octreotide therapy in chronic bleeding due to vascular abnormalities of the gastrointestinal tract. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13 (11): 1429-36.
- Afifi R, el Alaoui M, Kerkeb O. A rare cause of lower digestive tract bleeding: angiodisplasia of the small bowel. *J Chir* 1997; 134(4): 189-92.
- Greason K, Acosia JA, Magrino TJ, *et al.* Angiodysplasia as the cause of massive lower gastrointestinal hemorrhage in a young adult. Report of a case. *Dis Colon Rectum* 1996; 39 (6): 702-4.
- Roskell DE, Biddolph SC, Warren BF. Apparent deficiency of mucosal vascular collagen type IV associated with angiodisplasia of the colon. *J Clin Pathol* 1999; 52 (3): 237.

Non Hodgkin's lymphoma of the adrenal gland in a patient with HCV-related cirrhosis

Linfoma non Hodgkin surrenalico in paziente con cirrosi HCV correlata

Nicla La Verde*, Donata Pedretti*, Alessandro Bertolini*, Giovanni Casella**, Daniele Perego**, Vittorio Baldini**, Giorgio Gherardi*** and Alberto Scanni*

* Unit of Medical Oncology, Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, Milan, Italy

** Unit of General Medicine, Ospedale Civile di Vimercate, Presidio di Desio, Desio (MI), Italy

*** Unit of Pathological Anatomy, Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, Milan, Italy

Summary

The case is reported of a Caucasian man suffering from HCV liver cirrhosis, who developed a B-cell non Hodgkin's lymphoma (NHL) of the adrenal gland. The description of the case is the occasion for a review of the literature. Primary NHL of the adrenal glands is very rare; no more than 30 cases have been described in the literature. Several studies confirm the higher prevalence of B-cell NHL in patients with HCV infection: in fact this infection seems to increase 50-fold the risk of B-cell NHL in the liver and major salivary glands and 4-fold the risk of B-cell NHL in other sites. HCV infection and consequent cryoglobulinaemia could trigger the immunoproliferative process. Prognosis of adrenal NHL seems to be very poor and more than 70% of patients die within 6 months of diagnosis. Eur. J. Oncol., 8 (4), 307-309, 2003

Key words: adrenal gland, cirrhosis, non Hodgkin's lymphoma

Introduction

HCV infection with essential mixed cryoglobulinaemia induces a chronic immune complex-mediated disease with underlying B-cell clonal proliferation that predisposes to overt B-cell malignancy¹. Low-grade MALT lymphomas, centroblastic-centrocytic follicular lymphomas, splenic marginal zone B-cell lymphomas and nodal monocytoid B-cell lymphoma are associated

Riassunto

In questo lavoro viene descritto il caso di un paziente affetto da cirrosi epatica HCV-correlata, che ha sviluppato un linfoma non Hodgkin (LNH) a cellule B nel surrene. La descrizione del caso è lo spunto per effettuare una revisione della letteratura. Numerosi studi confermano l'alta prevalenza di LNH a cellule B in pazienti con epatite da virus C. L'infezione sembra aumentare di cinquanta volte il rischio di sviluppare un LNH a cellule B nel fegato e nelle ghiandole salivari maggiori e di quattro volte in altre sedi. L'infezione da virus C e la conseguente presenza di crioglobuline potrebbero sostenere lo sviluppo di un processo immunoproliferativo. La sede surrenalica del LNH primitivo è molto rara; nella letteratura ne vengono descritti non più di trenta casi. La prognosi del LNH surrenalico sembra essere infausta, con una mortalità a sei mesi che raggiunge il 70% dei pazienti. Eur. J. Oncol., 8 (4), 307-309, 2003

Parole chiave: surrene, cirrosi epatica, linfoma non Hodgkin

with HCV infection². A possible pathogenic rôle of HCV in the development of B-cell non Hodgkin's lymphoma (NHL) has recently been studied³. The case of a 69 year old Caucasian man, with HCV liver cirrhosis who developed a lymphoma is described.

Case report

The patient had HCV-related cirrhosis from 1995; he had not received any blood transfusion in previous years. Up to 1995 he used to drink 20 g alcohol/day. At the first clinical examination, the general condition appeared fairly good. The liver was enlarged, particularly in the left lobe, with a hard consistency; splenomegaly was evident, as well as marked bilateral leg oedema. Blood examination showed a fairly low platelet count (97,000/mm³), mild

Pervenuto/Received 18.2.2003 - Accettato/Accepted 7.5.2003

Indirizzo/Address: Dr. Nicla La Verde, U.O. di Oncologia Medica, Azienda Ospedaliera - Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, Via Castelfidardo 15, 20121 Milano, Italia - Tel. 0039/02/63632223
Fax 0039/02/63632216 - E-mail: niclalaverde@libero.it

hyperbilirubinaemia (total 1.48 mg/dl with indirect bilirubin 0.62 mg/dl), an increased level of AST (373 U/L, n.v. <40) and ALT (639 U/L, n.v. <40). Albumin level, prothrombin time and ammoniaemia were normal. Cryoglobulinaemia was slightly positive. The rheumatoid factor was slightly increased (61 U/L, n.v. absent). Ultrasound confirmed an enlarged liver with an altered pattern without any focal lesions, a portal vein of 15 mm of diameter (n.v.<12) and a splenomegaly (longitudinal diameter 149 mm). An upper gastrointestinal endoscopy failed to detect any oesophageal or gastric varices or congestive gastropathy. The patient was on therapy with anti-aldosterone diuretic (potassium canrenoate 100 mg/day) and loop diuretic (furosemide 25 mg/day). In May 2000, a CT scan showed coeliac and liver hilar multiple lymph node enlargement with a maximum diameter of 2 cm, which were not considered pathological because they showed no enhancement. Chest X-ray showed no mediastinum enlargement and no superficial lymphadenopathies. The patient reported impaired attention and sleepiness; increased blood levels of ammonium were noted and therapy with lactulose (30 g/day) and rifamixin (800 mg/day) was started. In May 2002, ultrasound examination showed two bilateral adrenal masses with an isoechogenic pattern and a diameter of 3 cm. A new abdominal CT scan failed again to show any enhancement. No sign of adrenal insufficiency or hormonal hypersecretion (pheochromocytoma, hyperaldosteronism, Cushing's disease) was noted. In September 2002, adrenal masses were markedly increased with a size of 7 cm and in the right one a complex hypoechoic pattern was noted. Fine needle aspiration and a tru-cut biopsy were performed; histologic and cytological materials were diagnostic for B-cell NHL (fig. 1). A new chest and abdominal CT scan revealed multiple mediastinal and liver hilar, coeliac, para-aortic and caval lymphadenopathies together with a partial inferior caval vein thrombosis. The bone marrow biopsy documented a lymphoma infiltration. A new upper gastrointestinal endoscopy noted F1-F2 oesophageal varices and congestive gastropathy. The lymphoma was classified as low-grade and stage IV, and a chemotherapy with CVP (cyclophosphamide, vincristine and prednisone) every 21 days was started. After 6 cycles of chemotherapy, the patient had a partial remission (PR >50%) with a CT showing complete bilateral remission of adrenal masses, and considerable reduction of abdominal lymphadenopathies. The patient is in good general condition, has a PS of 1 and has reported only mild asthenia during chemotherapy. We are performing another two chemotherapy cycles in order to consolidate the clinical response.

Discussion

The prevalence of serum cryoglobulins in HCV patients varies from 19 to 55%⁴, while the percentage of symptomatic patients varies from 12 to 30%⁴. Santagostino *et al*⁶ reported a 31% preva-

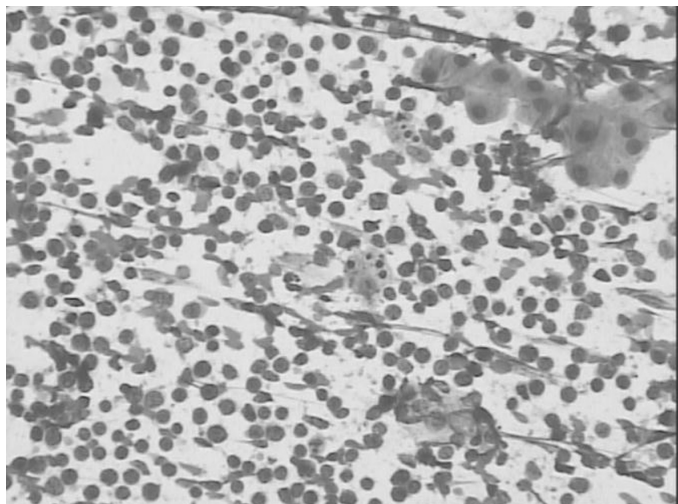


Fig. 1. The aspirate consists of a population of monomorphic intermediate sized lymphoid cells with occasional histiocytes; an aggregate of polygonal endocrine cells of adrenal cortical origin is seen in this picture. Papanicolau stain, x 400.

lence of serum cryoglobulins in 135 HCV positive haemophiliac patients without clinical manifestations. Gandini *et al*⁷ reported a similar percentage (33%), but 2 of the patients in their series developed cryoglobulinaemic syndrome probably due to the presence of type II cryoglobulins and genotype 1b. A possible pathogenic rôle of HCV in the development of B-cell NHL has recently been studied; HCV infection with essential mixed cryoglobulinaemia induces a chronic immune complex-mediated disease with underlying B-cell clonal proliferation that predisposes to overt B-cell malignancy. Low-grade MALT lymphomas, centroblastic-centrocytic follicular lymphomas, splenic marginal zone B-cell lymphomas and nodal monocytoid B-cell lymphoma are associated with HCV infection³. Several studies in Italy⁸ and Europe³ confirm the higher prevalence of B-cell NHL in patients with HCV infection than in healthy age-comparable groups; the prevalence of NHL in HCV infection is 3-5%³. HCV infection seems to increase 50-fold the risk of B-cell NHL in the liver and major salivary glands (greater than hepatocellular carcinoma!) and 4-fold the risk of B-cell NHL in other sites⁹. Host genetic susceptibility, immunologic and hormonal status, chemical and physical co-carcinogens, as well as a long latency period may be considered "multi-step cooperating" fundamental events to developing lymphoproliferative disorders⁹. Dammacco *et al*¹⁰ showed that stem cells CD34+ have both genomic sequences and viral proteins in 80% of all HCV-infected patients; these cells, with self-regeneration properties, are responsible for the development of all HCV-infected B and T lymphocytes and macrophages¹⁰. CD34+ cells are located in the liver parenchyma¹¹ and may migrate to bone marrow and thymus, where they remove autoreactive T cells, thus determining host tolerance versus viral epitopes¹¹. The presence of rheumatoid factor (RF), in our patient, may explain a permanent impulse for B lymphocytes to produce clonal expansion and RF IgM molecules¹². The presence of immune complexes RF IgM and IgG is the most important pathogenic event¹². There are two types of NHL correlated to HCV infection: 1) one type develops in patients with mixed cryoglobulinaemia (MC), has a low grade of malignancy involving bone marrow, but may evolve into high-grade malignancy; 2) another type is not associated with MC and is high-grade lymphoma, not involving the bone marrow¹³, with sometimes auto-immune disorders such as haemolytic anaemia and thrombocytopenia¹⁴. Adrenal involvement by NHL is usually associated with other sites of disease, particularly the retroperitoneal lymph nodes and homolateral kidney¹⁵. NHL adrenal involvement, diagnosed by CT, occurs in 4% of all patients affected by NHL¹⁶, but this percentage increases to 24% in autopsic studies¹⁷.

Primary NHL of the adrenal glands is very rare; no more than 30 cases have been described in the literature¹⁸. This localization is more common in males (20/8, mean age 61 years, range 39-84). Adrenal insufficiency¹⁹ or lymphoma symptoms (weight loss, fever, abdominal pain) may be the presenting clinical features²⁰. In man, the adrenal gland contains no lymphoid tissue; the follicle centre cell origin may be explained as a metastasis or a background of previous autoimmune adrenalitis²¹. This type of lymphoma may be an incidental finding. Baker *et al*²² suggest that tumours <3 cm in diameter with well defined margins, without signs of active disease (no positive lymph nodes, no increase in size), should be considered benign, while the adrenal masses greater than 6 cm in diameter should be addressed as malignant²². Tumour involvement is frequently bilateral (18/28 cases report-

ed)²³. Our case confirms that adrenal localization has a rapid evolution and a markedly altered echo-pattern because of frequent haemorrhagic and necrotic events. It is possible that cortisol may impair immunological response by adrenal tissue to neoplastic insult. Adrenal metastases, unlike adrenal adenomas, are nearly always bilateral²⁴. Magnetic Resonance Imaging (MRI) leads to a differential diagnosis between an adrenal adenoma, a metastasis and a pheochromocytoma, but is unable to distinguish a metastatic lesion from an NHL²⁵; MRI of adrenal NHL is hypo-intense in T1 and mixed in T2 (hypo-intense areas alternated to hyper-intense areas)²⁵. Percutaneous tru-cut biopsy is always required for diagnosis and immunophenotypic analysis of a cell sample is frequently useful²⁶.

The prognosis of adrenal NHL seems to be very poor and 77% of all patients die within 6 months of diagnosis with a median survival of 12.5 weeks²⁷. Only two cases, described by Serrano¹⁹ and Bauduer²⁰, have survived a longer time.

Conclusion

The clinical response of our patient to medical treatment may be considered good, confirming the importance of chemotherapy in these patients, who can benefit from the therapy, if responders. Unfortunately, at the moment, there are no available predictive factors as concerns the clinical outcome of these patients.

References

1. Wong VS, Egner W, Elsey T, *et al*. Incidence, character and clinical relevance of mixed cryoglobulinemia in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 1996; 104: 25-31.
2. Gorevic PD, Frangione B. Mixed cryoglobulinemia cross-reactive idiotypes: implications for the relationship of MC to rheumatic and lymphoproliferative diseases. *Semin Hematol* 1991; 28: 79-94.
3. Zuckerman E, Zuckerman T, Levine AM, *et al*. Hepatitis C virus infection in patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Ann Intern Med* 1997; 127: 423-8.
4. Akriviadis EA, Xanthakis I, Navrozidou C, *et al*. Prevalence of cryoglobulinemia in chronic hepatitis C virus infection and response to treatment with interferon-alpha. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 612-8.
5. Donada C, Crucitti A, Donadon V, *et al*. Systemic manifestations and liver disease in patients with chronic hepatitis C and type II or III mixed cryoglobulinemia. *J Viral Hepatol* 1998; 51: 179-85.
6. Santagostino E, Colombo M, Cultraro D, *et al*. High prevalence of serum cryoglobulins in multitransfused hemophilic patients with chronic hepatitis C. *Blood* 1998; 92: 516-9.
7. Gandini G, Franchini M, Capra F, *et al*. Clinical relevance of serum cryoglobulins in haemophilic patients with hepatitis C virus infection. *Ann Ital Med Int* 1999; 14: 285-7.
8. Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, *et al*. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos study. *Hepatology* 1994; 20: 1442-9.
9. De Vita S, Zagonel V, Russo A, *et al*. Hepatitis C virus non-Hodgkin's lymphomas and hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 1998; 77: 2032-5.
10. Dammacco F, Sansonno D, Piccoli C, *et al*. The lymphoid system in hepatitis C virus: autoimmunity, mixed cryoglobulinemia and overt-B-cell malignancy. *Semin Liver Dis* 2000; 20: 153-66.
11. Crosbie OM, Reynolds M, McEntee G, *et al*. In vitro evidence for the presence of hematopoietic stem cells in the adult human liver. *Hepatology* 1999; 29: 1193-8.
12. Youngblood K, Fruchter L, Ding G, *et al*. Rheumatoid factors from the peripheral blood of two patients with rheumatoid arthritis are genetically heterogeneous and somatically mutated. *J Clin Invest* 1994; 93: 852-61.
13. Mazzauro C, Zagonel V, Monfardini S, *et al*. Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Haematol* 1996; 94: 544-50.
14. Mazzauro C, Franzin F, Tulissi P, *et al*. Regression of monoclonal-B-cell expansion in patients affected by mixed cryoglobulinemia responsive to α -interferon therapy. *Cancer* 1996; 77: 2604-13.
15. Glazer HS, Lee JK, Balfe DM. Non-Hodgkin's lymphoma: computed tomography demonstration of unusual extra nodal involvement. *Radiology* 1983; 149: 211-7.
16. Paling MR, Williamson BRJ. Adrenal involvement in non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Roentgenol* 1983; 141: 303-5.
17. Rosenberg SA, Diamond HD, Jaslowitz B. Lymphosarcoma: a review of 1269 cases. *Medicine (Baltimore)* 1961; 40: 31-84.
18. Liang R, Loke SL. CD30-positive lymphoma involving primarily the adrenal glands (letter). *Ann Oncol* 1991; 2: 40.
19. Serrano S, Tejedor L, Garcia B, *et al*. Addisonian crisis as the presenting features of bilateral primary adrenal lymphoma. *Cancer* 1993; 71: 4030-3.
20. Bauduer F, Delmer A, Le Tourneau A, *et al*. Primary adrenal lymphoma. *Acta Haematol* 1992; 88: 213-5.
21. Ellis RD, Read D. Bilateral adrenal non-Hodgkin's lymphoma with adrenal insufficiency. *Postgrad Med J* 2000; 76: 508-9.
22. Baker ME, Spritzer CH, Blinder R. Benign adrenal lesions mimicking malignancy on resonance imaging: report of two cases. *Radiology* 1987; 163: 669-71.
23. Cavanna L, Civardi G, Vallisa D, *et al*. Primary adrenal non-Hodgkin's lymphoma associated with autoimmune haemolytic anaemia: a case diagnosed by ultrasound guided fine needle biopsy. *Ann Ital Med Int* 1999; 14: 298-301.
24. Marchal G, Gelin J, Verbeken E, *et al*. High resolution real time sonography of adrenal glands: a routine examination. *J Ultrasound Med* 1986; 5: 65.
25. Dahami Z, Debbagh A, Hafiani M, *et al*. Lymphome primitif de la surrenale de phenotype B, diagnostique a la ponction-biopsie percutaneé. *Ann Urol* 2001; 35: 22-5.
26. Cavanna L, Civardi G, Fornari F, *et al*. Ultrasonically guided percutaneous splenic tissue core biopsy in patients with malignant lymphomas. *Cancer* 1992; 69: 2932-6.
27. Levaltier X, Troussard X, Fournier L, *et al*. Lymphoma primitif surrenalien: une observation. *Presse Med* 1994; 23: 372-9.

The European Journal of Oncology (Eur. J. Oncol.), Official Organ of the Italian Society of Tumours (SIT)/Prevention, Diagnosis and Therapy, is promoted by the **European Foundation of Oncology and Environmental Sciences "B. Ramazzini"** via Guerrazzi, 18 - 40125 Bologna, Italy

telephone: for Italy 051/237286; for abroad 0039/051/237286

fax: for Italy 051/2911679; for abroad 0039/051/2911679

and published by:

Mattioli 1885 - Casa Editrice

via Coduro, 1/B - 43036 Fidenza (PR) - Italy

telephone: for Italy 0524/84547; for abroad 0039/0524/84547

fax: for Italy 0524/84751 - for abroad 0039/0524/84751

All editorial mail must be addressed to the:

Editorial Office of the European Journal of Oncology

Cancer Research Centre,

Castle of Bentivoglio, Via Saliceto 3, 40010 Bentivoglio (Bologna), Italy

telephone: for Italy 051/6640650-6640143; for abroad 0039/051/6640650-6640143

fax: for Italy 051/6640223; for abroad 0039/051/6640223

All administrative mail must be sent to the publisher (Mattioli 1885 - Casa Editrice)

The European Journal of Oncology is sent free of charge to all paid-up members of the SIT.

The journal is a quarterly publication

INFORMATION AND INSTRUCTIONS TO AUTHORS

INFORMATION

The European Journal of Oncology publishes contributions in the various areas of oncology: biology, epidemiology, pathology and clinical medicine.

Contributions may be in the form of:

- editorials;
- general reviews;
- original studies and research;
- clinical case reports;
- brief communications;
- letters to the Editors.

The official languages of the journal are Italian and English.

Acceptance of contributions for publication is subject to review by referees chosen from experts in the various fields. The Editors may require modifications to manuscripts, as suggested by the referees, and all adjustments necessary to maintain homogeneity of style in the journal. Editorials and critical reviews may be solicited by the Editors, or submitted without request. In all cases they must adhere to the instructions to Authors, and will be submitted to referees like other contributions.

Publications, once accepted, belong to the journal. No papers, or substantial parts thereof, may be published in other journals or books, without written permission from the Publisher.

The European Journal of Oncology assumes no responsibility for statements and opinions advanced by contributors to the journal.

INSTRUCTION FOR MANUSCRIPTS

Mailing

Manuscripts must be sent to the Editorial Office (at the Cancer Research Centre, Bentivoglio) in THREE HARD COPIES AND ON DISKETTE. Texts must be written in Word 6 (or earlier versions) for Windows or Mac and sent on floppy discs or CDs. Floppy discs or CDs must be labelled as follows: author's first name, surname and address and software used.

In the covering letter to the Editorial Staff, all relations that might raise a conflict of interests for the Authors with reference to the topic of the report must be clearly stated.

Texts

Texts must be typewritten or printed, double or triple-spaced, on good quality, 8.5 x 11 inch, white paper, with a margin of at least 1 inch.

Pages must be numbered sequentially.

EDITORIALS, GENERAL REVIEWS AND ORIGINAL STUDIES AND RESEARCH

Title page. The first page of the manuscript should contain the following information: 1) title of the report, in English and Italian; 2) complete Authors' names; 3) name of institution in which the work was done; 4) acknowledgments of collaboration and research support; 5) name and address of the Authors to whom communications regarding the manuscript should be directed and by whom reprints may be requested; and 6) running title of 45 characters or less.

Abstract. The page(s) following the title page is/are to contain an abstract of 250 words or less, with the following headings: 1) aim; 2) materials and methods, or patients and methods; 3) results; 4) conclusions. For all articles the abstract must be prepared in English and Italian, the first version being the one in the language in which the text is written.

Key words. These must be indicated after the abstract, in both languages, and must not exceed 5 in number.

Text. In the text the various sections must be clearly defined in the following order: introduction, materials and methods, results, discussion, conclusions. This is not the case for editorials and general reviews.

References. These should be numbered consecutively in the order in which they appear in the text. The list of references should be typed on separate sheets and numbered following the citation order, in accordance with the examples hereunder reported.

Bibliography style

Journal report, up to 3 Authors:

Sheibani K, Battifora H, Burke J. Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1986; 123: 212-9.

Journal report, more than 3 Authors:

Fisher B, Costantino JP, Redmond CK, *et al.* Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 527-37

Complete book:

Selikoff IJ, Lee DHK. Asbestos and disease. New York: Academic Press, 1978.

Chapter of book:

Freedman AS, Nadler LM. Non-Hodgkin's lymphomas. In Holland JF, Breast RC J, Morton DL, *et al*: Cancer Medicine, IV Ed, 2. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997, 2757-95.

Chapter of book that forms the proceedings of a meeting:

Lipkin M. Current knowledge of the cancer latent period. Chemoprevention strategies during colonic cancer development. In Maltoni C, Soffritti M, Davis W. International Forum, The Scientific Bases of Cancer Chemoprevention, Amsterdam: Excerpta Medica, 1996, 61-71.

Abstract:

Abeloff MD, Gray R, Tarmey DC, *et al*. Randomized comparison of CMFPT versus CMFPT/VATHT and maintenance versus no maintenance tamoxifen in premenopausal, node positive breast cancer. An ECOG study. Proc Am Soc Clin Oncol 1991; 10, 43: abstr 47.

Supplement:

Elison LO, Ekberg L. Ifosfamide, doxorubicin, vincristine, and etoposide in small cell lung cancer. Semin Oncol 1995; 22 suppl 2: 15-7.

Editorial:

Morrow M. The natural history of ductal carcinoma in situ: implications for clinical decision making. Cancer 1995; 76: 1113-5 (editorial).

Letter to the Editor:

Peat IM, Madden FJF. Neurological assessment of high grade astrocytomas following high dose radiotherapy as sole treatment. Clin Oncol 1995; 7: 273 (letter).

Scientific or technical report:

Akutsu T. Total heart replacement device - Bethesda (MD): National Institute of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4

Newspaper article:

Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7; Sect. A:2 (col. 5).

Tables. Tables must be typewritten or printed separately on one or more sheets, and must be numbered progressively, at the top left, in arabic numerals, and as such quoted in the text. Each table must have a title heading, which must appear at the top, near the identification number. Legends should include specifications or abbreviations, and should be listed at the bottom of the table, identified with small letters. Tables should be inserted in the manuscript after the text and references.

Figures. Graphs, diagrams, drawings and photographs, macro and micro, are to be indicated as figures and identified with progressive arabic numerals as a separate category. The size should not be larger than that of journal pages, and further reduction may be necessary. Pictures must be of a high technical quality, must be sent unmounted and should not be retouched. On the back of each figure, the name of Authors, the progressive number and an indication of top and bottom should be lightly pencilled. Legends to figures should be collected, double-space typewritten or printed, on one or more pages, under the page title FIGURES. All legends to figures and the figures themselves must be inserted in the manuscript after the tables.

Files must be saved on PC or MAC formatted floppy discs, CDs or ZIP discs. Images must be saved as single files in 10x15 cm format. *DRAWINGS-GRAPHS-DIAGRAMS* (black & white) must have an 800 dpi resolution and must be saved in BMP (bit map) or TIFF format. *RADIOGRAPHIES* (shades of grey) and digital images (full colour) must have a 300 dpi resolution and they must be in JPEG format with medium compression.

CASE REPORTS

The text should follow the indications given for articles on original research and studies. The manuscript should have its various sections identified, i.e.: introduction, general data on cases, illustration of cases, discussion and conclusions.

BRIEF COMMUNICATIONS

Communications should deal with issues of particular originality and topicality. They must be double-space typewritten or printed, and not exceed 3 pages of text, without including references, tables or figures. The sequence of sections of the report (which however should not be labelled), references, tables and figures should follow the instructions given for the articles on original studies and research. If accepted, brief communications will be given special priority in publication.

LETTERS TO THE EDITOR

Letters to the Editor are welcome, and if their content is appropriate will be published. Letters must be double-space typewritten or printed, and should not exceed 2 pages. The letter should have a title and be signed by the Author, who must also state his/her affiliation. Letters should also include references (few and specific).

PROOF READING

The Authors will be sent galley proofs and are asked to correct typesetting errors. Minor changes are allowed: any Author making undue alterations to proofs will be charged with the cost. The galley proofs must be returned within 5 days from receiving them.

REPRINTS

Reprints should be requested by order form, which will be sent with the galley proofs. The same order form indicates the cost of reprints, which varies according to the number of pages and the number of copies requested. Readers who wish to obtain a reprint of an article appearing in the European Journal of Oncology, should contact the Author, at the address given on the first page of the article.

ANNOUNCEMENTS

Announcements of meetings, conferences and similar, which may be of interest to readers of the European Journal of Oncology, should be sent to the Editorial Staff at least 4 months before the event. A fee is charged for each announcement, and the cost will be based on the length of the announcement. Further details may be obtained by contacting the Publisher directly.

PUBLICITY

The European Journal of Oncology publishes advertisements dealing with fields of interest for the Readers. For ethical reasons, advertisements are submitted to the approval of the Editors. Enquiries concerning economic and administrative aspects should be directed to the publisher Mattioli 1885 - Casa Editrice.

TRANSFER OF AUTHOR COPYRIGHT

Please include a signed release of copyright to European Journal of Oncology with your manuscript. Include the title of the article being submitted, as well as the date. Include the signature of coauthors.

Il Giornale Europeo di Oncologia, Organo Ufficiale della Società Italiana Tumori (SIT)/Prevenzione, Diagnosi e Terapia, è promosso dalla: **Fondazione Europea di Oncologia e Scienze Ambientali "B. Ramazzini"**

via Guerrazzi, 18 - 40125 Bologna, Italia
 telefono: per l'Italia 051/237286 - per l'estero 0039/051/237286
 fax: per l'Italia 051/2911679 - per l'estero 0039/051/2911679
 e pubblicato presso la:

Mattioli 1885 - Casa Editrice

via Coduro, 1/B - 43036 Fidenza (PR) - Italia
 telefono: per l'Italia 0524/84547 - per l'estero 0039/0524/84547
 fax: per l'Italia 0524/84751 - per l'estero 0039/0524/84751

Tutta la corrispondenza editoriale deve essere indirizzata a:

Redazione Giornale Europeo di Oncologia

Centro di Ricerca sul Cancro,
 Castello di Bentivoglio, Via Saliceto 3, 40010 Bentivoglio (Bologna), Italia
 telefono: per l'Italia 051/6640650-6640143 - per l'estero 0039/051/6640650-6640143
 fax: per l'Italia 051/6640223 - per l'estero 0039/051/6640223

Tutta la corrispondenza amministrativa va invece inviata alla Mattioli 1885 - Casa Editrice. Il Giornale Europeo di Oncologia viene inviato gratuitamente ai Soci della SIT in regola con le quote associative.

La rivista esce con periodicità trimestrale

INFORMAZIONI E ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

INFORMAZIONI

Il Giornale Europeo di Oncologia pubblica contributi nei vari settori dell'oncologia: biologia, epidemiologia, patologia e clinica.

I lavori possono essere sotto forma di:

- editoriali;
- riviste generali;
- studi e ricerche originali;
- resoconti di casi clinici;
- comunicazioni brevi;
- lettere ai Direttori.

Le lingue ufficiali della rivista sono l'italiano e l'inglese.

L'accettazione per la pubblicazione dei lavori è subordinata al giudizio di revisori, scelti fra studiosi dell'argomento di volta in volta trattato. La Direzione si riserva di richiedere eventuali modifiche indicate dai revisori, e di apportare quelle che sono necessarie per mantenere una omogeneità di stile nella rivista. Editoriali e riviste critiche possono essere richiesti dalla Direzione della rivista, o essere inviati senza richiesta. In ogni caso devono essere preparati secondo le istruzioni per gli Autori, e verranno sottoposti ai revisori come tutti gli altri contributi.

Le pubblicazioni accettate diventano di proprietà della rivista. I lavori, o parti sostanziali di essi, non potranno essere pubblicati in altre riviste o libri, senza permesso scritto dell'Editore.

Il Giornale Europeo di Oncologia non assume alcuna responsabilità per affermazioni ed opinioni enunciate nel giornale dagli Autori.

ISTRUZIONI PER I MANOSCRITTI

Invio

I testi completi devono essere inviati alla Redazione (presso il Centro di Ricerca sul Cancro, Bentivoglio), in TRE COPIE CARTACEE E SU DISCHETTO. I testi inviati su supporto informatico devono essere in Word 6 (o versione inferiore) per Windows o Mac su dischetti o CD. Il dischetto o CD va etichettato con: nome e cognome, indirizzo dell'autore e indicazione del programma utilizzato.

Nella lettera di accompagnamento devono essere specificate le relazioni che possono porre conflitti di interesse per gli Autori in riferimento al contenuto dell'articolo.

Stesura

I testi devono essere dattilografati o stampati, a doppio o triplo spazio, su carta bianca di buona qualità, di cm 29,5 x 21, con un margine di almeno cm 2,5.

Le pagine devono essere numerate sequenzialmente.

EDITORIALI, RIVISTE GENERALI E STUDI E RICERCHE ORIGINALI

Pagina con titolo. La prima pagina del manoscritto deve contenere le seguenti informazioni: 1) titolo del lavoro, in italiano e in inglese; 2) nome per esteso degli autori; 3) nome dell'istituzione in cui la ricerca è stata fatta; 4) riconoscimenti per le collaborazioni e per i supporti economici della ricerca; 5) nome e indirizzo dell'autore a cui vanno indirizzate le comunicazioni relative al lavoro, e a cui vanno richiesti gli estratti; e 6) titolo abbreviato di testa che non deve superare i 45 caratteri.

Riassunto. Alla pagina con titolo segue un riassunto di massimo 250 parole, con i seguenti titoli: 1) finalità; 2) materiali e metodi o casistica e metodi, ecc; 3) risultati; 4) conclusioni. Per tutti gli articoli, il riassunto va preparato sia in lingua italiana che in lingua inglese, in pagine successive, mettendo per prima versione quella nella lingua in cui è scritto il testo.

Parole chiave. Vanno indicate dopo i riassunti nelle due versioni in misura non superiore a 5, in italiano ed in inglese.

Testo. Il lavoro deve avere chiaramente identificate le varie sezioni, e cioè nell'ordine: introduzione, materiali e metodi o equivalenti, risultati, discussione, conclusioni. Questa suddivisione non è necessaria per gli editoriali e le riviste generali.

Bibliografia. Le voci bibliografiche dovranno essere numerate in ordine di citazione ed il numero riportato nel testo tra parentesi. Tutta la bibliografia citata dovrà essere dattiloscritta su fogli separati e numerata secondo l'ordine di citazione, secondo gli esempi riportati di seguito.

Stile della bibliografia

Articolo in rivista, fino a 3 autori:

Sheibani K, Battifora H, Burke J. Antigenic phenotype of malignant mesotheliomas and pulmonary adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1986; 123: 212-9.

Articolo in rivista, più di 3 Autori:

Fisher B, Costantino JP, Redmond CK, *et al.* Endometrial cancer in tamoxifen-treated breast cancer patients: findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABP) B-14. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 527-37

Libro completo:

Selikoff IJ, Lee DHK. Asbestos and disease. New York: Academic Press, 1978.

Capitolo di libro:

Freedman AS, Nadler LM. Non-Hodgkin's lymphomas. In Holland JF, Breast RC J, Morton DL, *et al.* Cancer Medicine, IV Ed, 2. Baltimore: Williams and Wilkins, 1997, 2757-95.

Capitolo di libro che costituisce gli atti di un convegno:

Lipkin M. Current knowledge of the cancer latent period. Chemoprevention strategies during colonic cancer development. In Maltoni C, Soffritti M, Davis W. International Forum, The Scientific Bases of Cancer Chemoprevention, Amsterdam: Excerpta Medica, 1996, 61-71.

Abstract:

Abeloff MD, Gray R, Tarmey DC, *et al.* Randomized comparison of CMFPT versus CMFPT/VATHT and maintenance versus no maintenance tamoxifen in premenopausal, node positive breast cancer. An ECOG study. Proc Am Soc Clin Oncol 1991; 10, 43: abstr 47.

Supplemento:

Elison LO, Ekberg L. Ifosfamide, doxorubicin, vincristine, and etoposide in small cell lung cancer. Semin Oncol 1995; 22 suppl 2: 15-7.

Editoriale:

Morrow M. The natural history of ductal carcinoma in situ: implications for clinical decision making. Cancer 1995; 76: 1113-5 (editorial).

Lettera all'Editore:

Peat IM, Madden FJF. Neurological assessment of high grade astrocytomas following high dose radiotherapy as sole treatment. Clin Oncol 1995; 7: 273 (letter).

Resoconto scientifico o tecnico:

Akutsu T. Total heart replacement device - Bethesda (MD): National Institute of Health, National Heart and Lung Institute; 1974 Apr. Report No.: NIH-NHLI-69-2185-4

Articolo di giornale:

Rensberger B, Specter B. CFCs may be destroyed by natural process. The Washington Post 1989 Aug 7; Sect. A:2 (col. 5).

Tabella. Le tabelle devono essere dattiloscritte o stampate, ciascuna in un foglio o più fogli separati, e vanno numerate progressivamente, in alto a sinistra, con numeri arabi (e come tali citate nel testo). Ogni tabella va illustrata con un titolo che deve comparire in testa a fianco del numero di identificazione. Eventuali legende, che devono comprendere anche la specificazione delle abbreviazioni, vanno posizionate ai piedi della tabella, e identificate con lettere minuscole. Le tabelle vanno inserite nel lavoro dopo il testo e la bibliografia.

Figure. I grafici, gli schemi, i disegni, le foto (microfoto o macrofoto) vanno denominati come figure, e vanno identificate con numeri arabi, progressivamente, come un'unica categoria. Le loro dimensioni devono tenere conto di quelle della rivista, pur considerando l'eventualità di riduzioni. Le fotografie devono essere di alta qualità tecnica, e vanno inviate non montate né ritoccate. In ciascuna fotografia sul retro, leggermente a matita, vanno scritti il nome dell'Autore ed il numero progressivo, e indicata la base. Le legende delle figure vanno riportate, in un foglio o più fogli a parte, dattilografate o stampate a doppio spazio, sotto il titolo di pagina FIGURE. Tutte le legende delle figure e le figure stesse vanno inserite dopo le tabelle.

Per quanto concerne il supporto informatico, i files devono essere salvati su dischetto, CD o ZIP formattati PC o MAC. Le immagini vanno salvate come singolo file in formato di 10x15 cm. I *DISEGNI-GRAFICI-DIAGRAMMI* (tratti bianco/nero) devono avere una risoluzione di 800 dpi ed essere salvati in formato BMP (bit map) o TIFF. Le *RADIOGRAFIE* (scala di grigio) e le immagini digitali (colore) devono avere una risoluzione di 300 dpi ed essere in formato JPEG con compressione media.

RESOCONTI SU CASI CLINICI

I testi devono essere preparati secondo le indicazioni fornite per gli articoli su studi e ricerche originali. Il resoconto deve avere chiaramente identificate le varie sezioni, e cioè: introduzione, materiali e metodi, dati generali sulla casistica, illustrazione della casistica, discussione e conclusioni.

COMUNICAZIONI BREVI

Le comunicazioni devono riguardare contributi di particolare novità ed attualità. Devono essere dattiloscritte o stampate in doppio spazio, e non devono essere più lunghe di 3 pagine, escludendo bibliografia, tabelle e figure. La sequenza delle sezioni (che tuttavia non vanno evidenziate), la bibliografia, le tabelle e le figure devono uniformarsi alle stesse istruzioni fornite per gli articoli su studi e ricerche originali. Se accettate, le comunicazioni brevi avranno una speciale priorità nella pubblicazione.

LETTERE ALL'EDITORE

Le lettere all'Editore sono ben accette e, se il loro contenuto è interessante, vengono pubblicate. Le lettere devono essere dattiloscritte o stampate in doppio spazio, non devono essere più lunghe di due pagine. L'Autore deve proporre un titolo, e deve sottoscrivere, indicando anche l'istituzione di appartenenza. La lettera può fare riferimento a voci bibliografiche, che devono essere contenute nel numero ed essere assolutamente specifiche.

CORREZIONE DELLE BOZZE

Gli Autori riceveranno le bozze per la lettura e la correzione degli errori di stampa. In sede di bozze sono ammesse soltanto minime modifiche del dattiloscritto: gli Autori che apporteranno eccessive modificazioni devono sostenerne il costo. Le bozze corrette devono essere inviate alla Redazione entro 5 giorni dal loro ricevimento.

ESTRATTI

Gli estratti dei lavori devono essere richiesti con l'apposito modulo, che viene inviato insieme alle bozze. Nello stesso modulo è indicato il costo degli estratti a seconda del numero delle pagine e del numero di copie. Coloro che desiderano avere estratti di un articolo comparso sul Giornale Europeo di Oncologia devono richiederlo all'Autore di riferimento, all'indirizzo indicato nella prima pagina del testo.

ANNUNCI

Gli annunci di convegni, congressi e simili, che possono interessare i Lettori del Giornale Europeo di Oncologia, possono essere inviati alla Redazione, almeno quattro mesi prima dell'evento. Gli annunci sono pubblicati a pagamento, ed il costo varierà a seconda della lunghezza dell'annuncio. Per ulteriori dettagli rivolgersi alla Casa Editrice Mattioli.

PUBBLICITÀ

Il Giornale Europeo di Oncologia pubblica inserzioni pubblicitarie inerenti a settori di interesse per i Lettori. La pubblicazione degli annunci pubblicitari è sottoposta ad approvazione dei Direttori della rivista. Per gli aspetti economici ed amministrativi rivolgersi alla Mattioli 1885 - Casa Editrice.

TRASFERIMENTO DEL COPYRIGHT

Si prega di accludere al manoscritto una dichiarazione di cessione del copyright al Giornale Europeo di Oncologia. Citare il titolo dell'articolo, la data di invio e il nome di tutti i co-autori con le firme autografe.