

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ



TEZĂ DE DOCTORAT

(Rezumat)

**ROLUL METABOLISMUL GLUCIDIC ÎN
APARIȚIA CARCINOMULUI
HEPATOCELULAR LA PACIENȚII CU
BOALĂ HEPATICĂ**

Coordonator Doctorat:

Prof. Univ. Dr. Rogoveanu Ion

Student-Doctorand

Dr. Braia Natalia

CRAIOVA

2014

Cuprins Selectiv al Tezei de Doctorat

I. Partea Generală (Stadiul Cunoașterii)

1. Introducere
2. Etiologie
3. Patogeneză
4. Diagnostic
5. Sindrom Metabolic
6. CHC indus de obezitate. Mecanisme patogenice

II. Partea Specială (Contribuția Personală)

Planul Tezei de doctorat

1. Materiale și Metode
2. Rezultate și Discuții
3. Concluzii

Bibliografie Selectivă

Cuvinte Cheie:

Ciroză hepatică, carcinom hepatocelular, diabet zaharat, steatoză hepatică non-alcoolică

PARTEA GENERALĂ

(Stadiul Cunoașterii)

1.Introducere

Carcinomul Hepatocelular (CHC) reprezintă a 5-a cauză de cancer la nivel mondial cu peste 800.000 de cazuri noi descoperite anual și a doua cauză de deces prin cancer. Dezvoltarea CHC este un proces secvențial, care urmărește evoluția displazie-carcinom, de cele mai multe ori fundamentul fiind boala hepatică cronică preexistentă, cu persistența procesului inflamator, fibroză sau ciroză.

Diferite studii cu privire la etiologia CHC-ului au identificat alcoolul, virusii hepatici și aflatoxinele ca având cel mai mare risc de a evolua spre cancer hepatic. În diferite zone ale lumii, CHC apărut sub acțiunea acestor factori, fie solitari, fie împreună prezintă o diversitate importantă în ceea ce privește genotipul sau fenotipul, fapt ce împiedică stabilirea procesului carcinogenetic. Cu toate acestea, o trăsătură caracteristică o reprezintă alterarea metabolismului glucidic, care poate reprezenta o legătură deosebită între diferite genotipuri și fenotipuri ale CHC și poate oferi o direcție importantă a tratamentului.

2.Etiologie

Hepatocarcinogeneza este un proces complex multifactorial. Spre deosebire de alte patologii tumorale, carcinomul hepatocelular (CHC) oferă posibilitatea de a identifica de cele mai multe cazuri, factorul etiologic care a contribuit major la inițierea și promovarea tumorigenezei. Cu toate acestea, nu există o cauză individuală ce determină apariția CHC, la bază fiind efectele cumulative determinate de prezența mai multor factori de risc la același individ. Contribuția fiecărui dintre acești factori este dependentă de caracteristicile populațiilor studiate, fiind în mare măsură influențată de susceptibilitatea genetică, zona geografică, stilul de viață.

3.Patogeneză

Patogeneza CHC nu a fost pe deplin elucidată până în prezent. Totuși, este clară natura plurifactorială a procesului de hepatocarcinogeneză. În majoritatea cazurilor, apariția carcinoamelor hepatocelulare este mediată de injurii hepatice care dezvoltă inflamație și fibroză,

ambele determinând alterarea arhitecturală a ficatului cu aspecte caracteristice cirozei hepatice. Progresia cirozei hepatice spre CHC este un proces complex, care se află în stransă legătură și cu afecțiunea hepatică de bază. Multiple studii au investigat posibilele mecanisme implicate în dezvoltarea CHC la pacienții cu ciroză. Totuși, inițierea și progresia carcinogenezei pot avea loc și în absența cirozei hepatice, cum este cazul carcinomului asociat infecției cu virusul hepatitic B (VHB). Datele obținute până în prezent, descriu hepatocarcinogeneza ca pe un proces malign complex și heterogen, care are la bază o gamă largă de modificări genetice și epigenetice, cât și alterări specifice ale unor căi de semnalizare celulară

4.Diagnostic

Cele mai multe cazuri de CHC sunt asimptomatice, cu caracter insidios, din acest motiv este dificil de diagnosticat înainte de a atinge un stadiu avansat. Pacienții care dezvoltă CHC nu prezintă de obicei semne sau simptome cu excepția celor corelate cu boala hepatică cronică de care aceștia suferă. Poate fi identificat o dată cu apariția unor complicații ale cirozei hepatice precum ascita, encefalopatie, hemoragie digestivă superioară, icter. Aceste complicații sunt adesea asociate cu extensia tumorală în venele hepatice și în vena portă sau cu șuntarea arteriovenoasă indusă de tumoră

Investigațiile biologice ocupă un rol important cu toate că aceste teste pot să fie mult mai alterate atunci când CHC este însoțit de ciroză hepatică sau de alte patologii. Excepțiile fiind gama-glutamyltranspeptidaza și fosfataza alcalină a căror nivel crescut sugerează efectul cancerului de “ocupare al spațiului”. Alfa-fetoproteina (AFP) este un marker cu un cost scăzut și reprezintă o opțiune atractivă pentru screening fiind utilizat pentru diagnosticul precoce, monitorizarea și recuranța CHC. Din nefericire are o sensibilitate de doar 40-64% deoarece multe tumori nu produc AFP deloc sau doar în stadiile avansate. Prin urmare nivelul de AFP poate fi subiect de interpretare eronată. Când are valoare ridicată, AFP are o specificitate de 75-91%, iar la valori mai mari de 400 ng/mL este considerată ca fiind o bun indicator a diagnosticului de CHC în contextul clinic potrivit, mai ales dacă este cuplat cu rezultate radiologice potrivite. Valori normale ale AFP nu exclud CHC.

Diagnosticul histologic al CHC este necesar destul de rar astăzi deoarece există numeroase alternative imagistice non-invazive. Computer tomografia (CT), Imagistica prin rezonanță magnetică nucleară (IRM) și ultrasonografia cu substanță de contrast (CEUS) sunt larg disponibile la nivel global și au înlocuit în mare biopsia și angiografia convențională în diagnosticarea CHC .

5. Sindromul Metabolic

În ultimii ani a devenit evident faptul ca obezitatea poate fi complicată de apariția CHC. În tot acest timp, incidența crescândă a obezității, în special în țările dezvoltate, a reprezentat o bună parte din cauza ce a determinat creșterea incidenței CHC. O meta-analiză ce a cuprins 11 studii efectuate în Statele Unite ale Americii (SUA), Europa și Asia a evidențiat o creștere a riscului de dezvoltare a CHC de 1.89 (95% limite de încredere de 1.51 la 2.36), și faptul că tumora, în concordanță cu extinderea rapidă a obezității, a devenit cauza de deces prin cancer. În plus, un studiu prospectiv efectuat în Europa, a demonstrat legătura stransă dintre obezitate și CHC: risc relativ de 3.51, 95% interval de încredere 2.09 la 5.87 ($p < 0.0001$). Într-o altă analiză europeană, s-a fost raportat un risc relativ egal cu 1.9 la pacienții obezi. Mai mult, în SUA incidența CHC s-a triplat (de la 1.6/100 000 la 4.9/100 000 de locuitori) în paralel cu o creștere a incidenței obezității. La aceasta se adaugă faptul că un indice de masa corporală (IMC) crescut la copii mărește riscul de dezvoltare a CHC în timpul vieții adulte, și poate chiar determina apariția acestuia în timpul copilăriei.

6. CHC indus de obezitate. Mecanisme patogenice

Există în continuare multiple neclarități în ceea ce privește mecanismele prin care obezitatea și sindromul metabolic pot determina transformarea malignă, totuși se iau în considerare anumiți factori care pot juca un rol cheie în această transformare: insulino-rezistența, hiperinsulinemia, creșterea semnalizării celulare dependentă de factorul de necroza tumorală (TNF), alterări ale lipidelor celulare, prezența NASH și NAFLD, și microbiomul intestinal.

Insulino-rezistența este principalul factor care leagă toate componentele sindromului metabolic. De asemenea contribuie și la acumularea de lipide în hepatocite, chiar și în cazul subiecților fără dereglări ale controlului glicemic, și joacă în același timp un rol important în dezvoltarea NAFLD. Steatoza hepatică duce la apariția steatohepatitei, care va progresa în final spre transformare malignă.

Partea Specială

Planul Tezei de Doctorat

Studiile efectuate au avut ca scop identificarea și evaluarea factorilor de risc în apariția carcinomului hepatocelular (CHC), factori independenți de consumul de alcool, infecțiile virale cronice sau toxice hepatice, construind astfel un profil al unei populații cu risc de a dezvolta cancer hepatic. Cu un caracter prospectiv cât și retrospectiv am inclus în studiu pacienți aflați în evidență cu boală hepatică, diagnosticul de CHC urmărind aspecte epidemiologice, clinice, biologice și imagistice ce au fost corelate cu prognosticul bolii.

- Am urmărit evaluarea pacienților prin diagnostic de certitudine al CHC, impus fie de criteriile imagistice sau puncție hepatică când a fost necesar;
- identificarea diabetului zaharat tip II, ca factor de risc la pacienții cu boală hepatică cronică pentru CHC. S-a urmărit asocierea diabetului zaharat cu CHC cu scopul de a sublinia necesitatea monitorizării atente și a obiectiva astfel potențialul crescut pe care îl prezintă acești pacienți în a dezvolta cancer hepatic primitiv;
- Identificarea și diagnosticul CHC la pacienții fără boală hepatică cronică evidentă clinic sau imagistic;
- Obiectivarea Steatozei Hepatice Non-Alcoolice (NAFLD) și a obezității ca factori de risc în dezvoltarea CHC, oferind astfel o nouă perspectivă a pacientului care poate dezvolta cancer hepatic.

1. Materiale și Metode

Studiul a fost unul prospectiv și a inclus pacienți consecutivi internați în cadrul Clinicilor de Gastroenterologie, respectiv Medicină Internă ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova în perioada 1 Ianuarie 2008 și 30 Iunie 2014, cu un diagnostic de boală hepatică. Toți pacienții au oferit consimțământ informat scris, urmărind protocolul aprobat de Comisia de Etică a UMF Craiova. Toate procedurile de studiu au fost efectuate în concordanță cu Declarația de la Helsinki; pacienții nu au fost supuși nici unei manevre în afara protocoalelor de diagnostic normale.

Au fost extrase date relevante din anamneza privind factorii de risc, mediul de proveniență, antecedente heredocolaterale și personale patologice semnificative, dar și semne și simptome specifice bolii hepatice.

Diagnosticul de CH a fost stabilit conform ghidurilor EASL, necesitând cel puțin două criterii îndeplinite simultan:

1. Prezența endoscopică de varice esofagiene;
2. Existența nodulilor de regenerare la ultrasonografie;
3. Evidență imagistică de splenomegalie (ecografic sau CT);

Diabetul Zaharat (DZ) a fost diagnosticat pe baza prezenței hiperglicemiei ($>8\text{mmol/L}$) la cel puțin două determinări, sau tratament activ cu insulină, agenți orali hipoglicemianți, sau ambele. Nu au fost luate în considerare alterările minore ale metabolismului glucidic, cum ar fi toleranța alterată la glucoză bazată pe un test de toleranță orală la glucoză.

Un diagnostic de CHC a fost stabilit în urma unei combinații de metode imagistice transsecționale de înalt contrast (CT și IRM), cu biopsie hepatică în cazurile incerte și un control de cel puțin 6 luni. Alfa-fetoproteina (AFP) cu valori de peste 400 ng/mL a fost considerată relevantă, fără a exclude CHC la pacienții cu AFP în limite normale, dar cu rezultate imagistice sugestive.

A fost selectat un număr de pacienți, cu obezitate și NAFLD cărora li s-a efectuat puncție biopsie hepatică. Inițial a fost cuantificat gradul de fibroză hepatică cu ajutorul dispozitivului Fibroscan (Echosense, Franța). S-a considerat ca valoare cut-off de determinare a fibrozei o valoare de 8 kpa. Cu ajutorul metodelor imagistice au fost evaluate dimensiunile tumorii, caracteristicile acesteia, dar și determinări la distanță. Pacienții au fost clasificați conform stadializării “Barcelona Clinic Liver Cancer”, pentru o evaluare cât mai precisă și alegerea tratamentului de elecție.

2. Rezultate și Discuții

Un total de 2718 pacienți au fost diagnosticați cu CH; 71 au refuzat să ofere consimțământ informat și 91 nu s-au prezentat la urmărirea periodică. În total, 164 cazuri de CHC au fost confirmate de-a lungul perioadei de studiu. La momentul diagnosticului de CHC, DZ a fost observat la 54 dintre pacienți. Am identificat DZ la 317 de pacienți fără CHC.

Studiul statistic efectuat a evidențiat o corelație semnificativă între DZ și ciroză ($p = 0,040 < 0,05$). De asemenea, valoarea Odds Ratio $OR=2.053$ a fost semnificativă statistic ($95\% CI =$

1.026-4.109, nu conține valoarea 1), subliniind în plus că există o asociere între DZ și ciroză, lucru care contribuie la apariția CHC.

Analizând toți pacienții cu hepatită, am găsit o corelație puternică între existența CHC și cea a diabetului zaharat (DZ) – rezultatul testului Chi pătrat a fost $p < 0,001$, ceea ce a subliniat faptul că există o relație extrem de puternică între cei doi factori, pentru pacienții cu hepatită. Deoarece rezultatul testului Chi pătrat a fost semnificativ statistic, am calculat riscul relativ (RR) pentru apariția CHC dacă DZ este asociat cu hepatita, care este de 2.894 de ori mai mare decât în cazul în care DZ nu este prezent (95% CI= 2.063 - 4.060).

Din totalul de pacienți diagnosticați am selectat 23 de pacienți cu CHC cărora li s-a efectuat puncție biopsie hepatică – 14 bărbați și 9 femei, cu vârste cuprinse între 42 și 69 ani (cu o vârstă medie de 56 de ani). Toți pacienții erau cunoscuți cu steatoză hepatică, fără semne clinice de ciroză hepatică și sufereau de obezitate cu un indice de masă corporală (IMC) între 25 și 35 kg/m² (mediana IMC fiind de 32 kg/m²) și o circumferință a taliei între 95 cm și 129 cm (mediana fiind 114 cm). În lotul selectat atât consumul de alcool și boala hepatică virală au fost criterii de excludere. Trei pacienți prezentau istoric de fumători. Funcția hepatică a fost alterată la toți pacienții, conform testelor de laborator, fiind remarcate valori crescute ale transaminazelor și ale bilirubinei.

Investigațiile imagistice (ecografia transabdominală, CT și IRM) au permis vizualizarea și localizarea formațiunilor hepatice, caracterizarea lor oferind astfel un diagnostic orientativ. Pentru confirmarea malignității s-a impus efectuarea biopsiei hepatice. În același timp, istoricul de steatoză hepatică a fost confirmat în urma investigațiilor imagistice.

În 11 cazuri, la momentul diagnosticului, CHC-ul avea diseminări la distanță, îndeosebi la nivelul ficatului, pulmonar și osos. Diametrul tumorilor în urma examinării US fost 3.4 cm cu aproximativ 0.3 cm medie mai mare decât în restul cazurilor aflate în studiu.

Conform Clasificării “Barcelona Clinic Liver Cancer”, aproape jumătate de pacienți au fost diagnosticați în stadii avansate, C, respectiv D, cele mai puține cazuri fiind diagnosticate în stadiul incipient (A).

Din cei 23 de pacienți care au fost evaluați prin elastografie impulsională s-a observat că a predominat stadiul F4 de fibroză cu 13 pacienți, urmat de stadiul F3 cu 6 pacienți. În ceea ce privește valoarea obținută în kpa a fibrozei s-a observat o medie $15,425 \pm 6.46$ kpa.

În urma examinării microscopice a secțiunilor colorate cu HE, au fost descoperite alterări la nivelul citoarhitectoniei, cu câteva cordoane rămase de hepatocite și celule tumorale ce se asemanau cu hepatocitele, fără a prezerva multe dintre caracteristicile structurilor originale. Doar câteva celule Kupffer au fost prezente, iar rețeaua de reticulină a fost complet absentă din tot materialul de studiu. Celule mici, deformate cu un raport nucleu/citoplasmă alterat au fost adesea prezente și trabeculi reziduali cu spații pseudoglandulare au fost vizualizați. Șase cazuri au prezentat varianta pseudoglandulară a CHC, cu structuri asemănătoare acinilor căptușiți cu celule tumorale asemănătoare hepatocitelor, derivate din dilatarea canalelor biliare reziduale. În aceste structuri, am putut observa infiltrate eozinofilice dense și detritus inflamator, cu puține fragmente biliare rămase. Nouă cazuri au prezentat fracturi trabeculare; în aceste cazuri am observat trabecule mult mai diferențiate cu mai multe straturi de celule și endoteliu. Două dintre aceste cazuri au fost descrise ca fiind macrotrabeculare, din moment ce am găsit mai mult de opt straturi celulare. Cele 4 cazuri rămase sufereau de CHC avansat, cu necroză suplimentară prezentă, infiltrat inflamator abundent și detritus celular. Citoarhitectura a fost sever alterată, fără structuri trabeculare rămase sau epitelii organizat, acini sau ducte biliare.

3. Concluzii

- CHC este o problemă majoră de sănătate, fiind a cincea cauză de patologie malignă la nivel global, deși este unul dintre puținele cancere a cărui etiologie a fost cel puțin parțial descifrată;
- nu există o cauză individuală ce determină apariția CHC, la bază fiind efectele cumulative determinate de prezența mai multor factori de risc la același individ ceea ce subliniază natura plurifactorială a procesului de carcinogeneză
- au fost evidențiate numeroase căi de semnalizare celulară care prezintă implicații în inițierea și progresia CHC, la fel cum există și un număr mult mai mare de modificări genetice și epigenetice asociate cu CHC. Totuși, indiferent de complexitatea acestor modificări și de asocierea lor cu diverșii factori etiologici, apare evidentă o cale comună a patogenezei CHC, în care o afectare hepatocitară repetată determină un cerc vicios de moarte și regenerare celulară cu o etapă finală ce conduce către instabilitate genomică și inițierea procesului de hepatocarcinogeneză;

- factorul de risc cu contribuția cea mai mare la dezvoltarea carcinomului hepatocelular este reprezentat de ciroza hepatică, dar inițierea și progresia carcinogenezei poate avea loc și în absența acesteia;
- diabetul zaharat tip II, obezitatea, fumatul, consumul de alcool, aflatoxinele sunt câțiva dintre factorii de risc ce favorizează formarea CHC iar deficitul de α 1-antitripsina, hemocromatoză, boala Wilson sunt cauze rare de CHC;
- cele mai multe cazuri de CHC sunt asimptomatice, cu caracter insidios, din acest motiv este dificil de diagnosticat înainte de a atinge un stadiu avansat;
- pacienții care dezvoltă CHC nu prezintă de obicei semne sau simptome cu excepția celor corelate cu boala hepatică cronică de care aceștia suferă;
- alfa-fetoproteina este un marker cu un cost scăzut și reprezintă o opțiune atractivă pentru screening fiind utilizat pentru diagnosticul precoce, monitorizarea și recuranța CHC;
- diagnosticul histologic al CHC este necesar destul de rar astăzi deoarece există numeroase alternative imagistice non-invazive;
- există în continuare multiple neclarități în ceea ce privește mecanismele prin care obezitatea și sindromul metabolic pot determina transformare malignă, totuși se iau în considerare anumiți factori care pot juca un rol cheie în această transformare: insulino-rezistența, hiperinsulinemia, creșterea semnalizării celulare dependența de factorul de necroză tumorală (TNF), alterări ale lipidelor celulare, prezența NASH și NAFLD, și microbiomul intestinal;
- definirea etiologiei aduce un beneficiu important atât în prevenția bolii, cât și în tratarea CHC;
- biopsia tumorilor hepatice suspecte se efectuează doar după eșecul unor metode imagistice bazate pe agenți de contrast, în principal datorită inconvenienței tehnicii și riscului mare de complicații și de diseminare a celulelor tumorale, fără a exclude posibilitatea rezultatelor fals negative;
- Dereglările metabolice sunt într-o continuă creștere, cu incidențe considerabile în special în ceea ce privește diabetul zaharat, NAFLD și obezitatea morbidă;
- obiceiurile dietetice, combinate cu proveniența mâncării și a băuturilor și un schimb al stilului de viață contribuie cu toate la răspândirea sindromului metabolic, definit prin

rezistența la insulină, diabet zaharat, obezitate și în cele din urmă injurie renală în urma steatohepatitei nonalcoolice;

- din studiul efectuat am obținut mai multe informații legate de co-factori, inclusiv ciroza, complicațiile ei, istoricul de hepatită, obezitate, diabet zaharat, NAFLD ce au putut fi corelați cu diagnosticul CHC;
- conexiunile demonstrate între diabetul zaharat și CHC contribuie într-o măsură semnificativă la înțelegerea mecanismelor de inițiere și progresie ale proceselor tumorale în general, dar în special a celor implicate în hepatocarcinogenază;
- riscul de CHC este semnificativ după câțiva ani de la diagnosticarea diabetului, această observație aducând argumente împotriva ipotezei că manifestările precoce de ciroză și procesul de carcinogenază sunt responsabile pentru dezvoltarea clinică a diabetului. Există o asocieră pozitivă între istoricul de diabet și apariția de CHC, iar studiul nostru indică de asemenea că această relație este independentă de contribuțiile aduse de alți factori majori de risc implicați în etiologia CHC;
- descoperirile noastre din acest studiu pot oferi susținere cantitativă ipotezei conform căreia subiecții cu diabet zaharat au o prevalență mai mare de dezvoltare a cancerului hepatic primitiv;
- s-a observat și o legătură între stilul de viață și dezvoltarea cancerului hepatic, îndeosebi prin stilul de viață sedentar și alimentația zilnică care sunt factori de risc principali pentru obezitate și diabet zaharat;
- CHC-ul se poate dezvolta pe un ficat non-cirotic și la un pacient ce neagă consumul de alcool și nu prezintă o infecție virală cronică, studiul nostru confirmând prezența obezității și a NAFLD ca factor de risc în cadrul pacienților cu CHC;
- nici unul din pacienți nu a dezvoltat colangiocarcinom
- având în vedere că la momentul prezentării, majoritatea pacienților se aflau deja în stadiu avansat, acest lucru poate fi atribuit unei supravegheri deficitare a unei populații cu risc. Supravegherea și monitorizarea pacienților cu obezitate și NAFLD ar trebui luată în considerare pentru o mai bună optimizare pe viitor a ratei de supraviețuire.
- în cazurile evidențiate de noi diagnosticul în stadiile deja avansate evidențiază necesitatea implementării unor programe de screening pentru identificarea și monitorizarea factorilor de risc;

- cu toate că în studiul nostru nu am luat în discuție tratamentul ulterior pe care l-au primit pacienții diagnosticați cu CHC, având în vedere ca aproximativ jumătate au fost diagnosticați în stadii depășite chirurgical prognosticul și speranța de viață au fost scăzute;
- necesitatea efectuării unor studii epidemiologice pentru a identifica grupurile cu risc crescut pt NAFLD-CHC pot duce la supravegherea și îmbunătățirea strategiilor de tratament. Investigarea adiacentă a mecanismelor și edificare mecanismelor de dezvoltare a CHC pe ficat non-cirotic cu NAFLD pot oferi date importante pentru crearea unor noi ghiduri de diagnostic, tratament și supraveghere;
- provocarea viitoare a medicilor angajați în tratarea pacienților CHC, va avea ca bază prevenția bolii prin identificarea factorilor de risc menținerea acestora sub control. Mai multe date, din diferite centre de la nivel mondial sunt necesare pentru o centralizare și o corelație eficientă a factorilor de risc cu CHC-ul dezvoltat pe ficat non-cirotic;

Bibliografie Selectivă

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90
2. Poon RT, Ng IO, Fan ST, Lai EC, Lo CM, Liu CL, Wong J. Clinicopathologic features of long-term survivors and disease-free survivors after resection of hepatocellular carcinoma: a study of a prospective cohort. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3037-3044
3. El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2012; 142: 1264–73.
4. Forner A, Llovet JM, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012; 379: 1245–55.
5. Larsson SC, Wolk A. Overweight, obesity and risk of liver cancer: a meta-analysis of cohort studies. *Br J Cancer* 2007; 97: 1005-08.
6. Schlesinger S, Alecksandrova K, Pischon T, Ferdiko V, Jenab M, Trepo C, Boffetta P, et al. Abdominal obesity, weight gain during adulthood and risk of liver and biliary tract cancer in a European cohort. *Int J Cancer* 2013; 132: 645-57.
7. Nobili V, Alisi A, Grimaldi C, Liccardo D, Francalanci P, Monti L, Castellano A, et al. Fatty liver disease and hepatocellular carcinoma in a 7-year-old obese boy: Coincidence or co-morbidity? *Pediatr Obes* 2013; epub ahead of print.
8. Welzel TM, Graubard BI, Zeuzem S, Davila A, McGlynn KA, El-Serag HB. Metabolic syndrome increases the risk of primary liver cancer in the United States: a study in the SEER-Medicare data base. *Hepatology* 2011; 54: 463-71.
9. Ertle J, Dechene A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, et al. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-43.
10. Siddeque A, Kowdley KV. Insulin resistance and other metabolic risk factors in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Clin Liv Dis* 2011; 15: 286-96.