

INDICE

RIASSUNTO.....	4
CAPITOLO 1: INTRODUZIONE	6
EPIDEMIOLOGIA	6
Incidenza.....	6
Prevalenza:	10
Mortalità:.....	11
Sopravvivenza.....	13
Andamenti temporali.....	13
ASPETTI CORRELATI ALLA PREVENZIONE	14
Fattori di protezione:	14
Dieta:	14
Attività fisica:.....	14
Fattori di rischio:.....	15
Fattori ambientali:	15
Fattori individuali.....	18
Prevenzione primaria:	20
Prevenzione secondaria:.....	20
INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO	22
Classificazione anatomico-patologica del tumore polmonare	22
Carcinoma squamocellulare	25
Adenocarcinoma.....	26
Carcinoma a grandi cellule	27
Carcinoma a piccole cellule	28
Tumori neuroendocrini.....	28
Carcinoma adeno-squamoso.....	28
Carcinoma sarcomatoide	28
Altri tumori	29
Caratteristiche genetico-molecolari	29
EGFR.....	30
EML4-ALK	31
ROS1	31
K-RAS.....	32
BRAF	33
MET	33
FGFR.....	33

VEGFR	34
DDR2.....	35
RET	35
PD-L1	35
Diagnosi.....	37
Presentazione clinica.....	37
Markers tumorali.....	39
Imaging.....	41
Indagini diagnostiche invasive	44
Biopsia liquida	46
Stadiazione TNM.....	47
Stadiazione del parametro T.....	47
Stadiazione del parametro N	48
Stadiazione del parametro M.....	49
TERAPIA DEL NSCLC	52
Strategia generale.....	52
Trattamento della malattia iniziale.....	54
Terapia chirurgica.....	54
Opzioni chirurgiche.....	56
Wedge resection.....	57
Segmentectomy.....	58
Lobectomy	58
Sleeve resection	58
Pneumonectomy.....	58
Pazienti non operabili	59
Trattamento adiuvante.....	59
Trattamento neoadiuvante.....	61
Follow-up dopo terapia primaria	62
Trattamento della malattia localmente avanzata	64
Malattia localmente avanzata potenzialmente resecabile.....	64
Malattia localmente avanzata non resecabile	67
Trattamento della malattia avanzata	68
Malattia oncogene-addicted.....	69
Trattamento della malattia EGFR-mutata	69
Trattamento della malattia con traslocazione di ALK.....	72

Trattamento della malattia ROS1-riarrangiata	75
Malattia non oncogene-addicted.....	76
Trattamento di prima linea	76
Bevacizumab nei pazienti non oncogene-addicted	78
Pazienti anziani e Performance status 2.....	79
Terapia di mantenimento	80
Linee successive di trattamento	80
FATTORI PROGNOSTICI E PREDITTIVI	83
Fattori tumore-correlati	84
Fattori paziente-correlati	85
Fattori ambientali	86
IMMUNOTERAPIA E FATTORI PREDITTIVI	87
Immunoterapia nel tumore polmonare	87
Storia e razionale dell'immunoterapia nel tumore polmonare.....	87
La risposta immunitaria al tumore	89
Evasione del cancro al controllo immunitario	90
Fenotipi immunitari.....	92
Meccanismi dei farmaci immunoterapici.....	93
Fattori prognostici e predittivi dell'immunoterapia.....	95
Effetti collaterali dell'immunoterapia	102
RUOLO DEGLI OPPIOIDI NEL PAZIENTE CON NSCLC	107
Tipi di farmaci antidolorifici	108
Strategia terapeutica	109
Oppioidi e immunomodulazione	110
CAPITOLO 2: STUDIO	114
OBIETTIVI DELLO STUDIO	114
PAZIENTI E METODI	114
Criteri di eleggibilità	115
Criteri di esclusione	115
Dati raccolti	115
iRECIST: criteri di valutazione della risposta all'immunoterapia.....	116
ANALISI STATISTICA	120
CAPITOLO 3: RISULTATI	121
CAPITOLO 4: DISCUSSIONE.....	131
CAPITOLO 5: CONCLUSIONE.....	136
CAPITOLO 6: BIBLIOGRAFIA.....	137

RIASSUNTO

Fino a pochi anni fa, le uniche armi terapeutiche per i tumori polmonari erano la chirurgia, la radioterapia e la chemioterapia. In seguito, l'identificazione delle mutazioni attivanti di EGFR, ALK, ROS1 BRAF nelle cellule tumorali nel carcinoma polmonare, ha portato allo sviluppo di specifiche terapie target, che hanno nettamente migliorato la prognosi di questi pazienti con un incremento in termini di sopravvivenza libera da progressione (PFS) e di sopravvivenza globale (OS). Negli ultimi anni l'immunoterapia è entrata tra le nuove strategie terapeutiche nella lotta al cancro rivoluzionando completamente lo scenario clinico: netto miglioramento della prognosi di pazienti con basso profilo di tossicità e l'avvento di un sottogruppo di popolazione lungo-sopravvivente. Se fino a pochi anni fa l'immunoterapia veniva utilizzata in seconda linea dopo la chemioterapia nella cura del tumore al polmone, ad oggi nella maggior parte dei casi il trattamento immunoterapico viene anticipato in prima linea in associazione o meno alla chemioterapia. Tuttavia, accanto a pazienti che beneficiano di questo trattamento per un periodo più o meno lungo, c'è un gruppo di pazienti che non ne beneficia affatto e dovrebbe ricevere chemioterapia o terapia di supporto (best supportive care). Tuttavia un fattore predittivo di risposta, che aiuti a selezionare il paziente da sottoporre a immunoterapia, non esiste ancora. Per questo è importante indagare i fattori prognostici e predittivi dell'immunoterapia ad oggi sconosciuti così da migliorare l'approccio terapeutico dei pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule (non-small cell lung cancer, NSCLC).

È anche noto che il paziente oncologico nella maggior parte dei casi segue una polifarmacoterapia, in particolare di tipo analgesico. Il dolore infatti è uno dei sintomi più diffusi nei pazienti con diagnosi di carcinoma polmonare e può derivare dall'invasione locale delle strutture toraciche o da metastasi ma può anche essere una conseguenza degli approcci terapeutici. La gestione medica convenzionale del dolore oncologico comprende la prescrizione di oppioidi e coadiuvanti a dosi sufficienti per controllare i sintomi senza causare gravi effetti farmacologici. In particolare gli oppioidi rappresentano la terapia fondamentale per il trattamento del dolore correlato al cancro. Tuttavia, studi preclinici suggeriscono che gli oppioidi possono causare immunosoppressione, in contrasto con i principi su cui si basa l'immunoterapia. Questo studio monocentrico e retrospettivo ha previsto la raccolta di dati riguardanti i pazienti con diagnosi citologica e/o istologica di carcinoma polmonare non a piccole cellule, con il principale obiettivo di valutare il ruolo prognostico e predittivo degli oppiacei in pazienti affetti da NSCLC e trattati con immunoterapia, al fine di identificare ulteriori fattori che aiutino il clinico a migliorare la

selezione del paziente da sottoporre all'immunoterapia. Per completare lo studio è stato valutato anche il ruolo prognostico e predittivo di ulteriori fattori clinici e laboratoristici.

Lo studio ha rivelato sia il ruolo prognostico negativo sia il ruolo predittivo negativo degli oppioidi nei pazienti trattati con immunoterapia, confermando inoltre importanti fattori prognostici e predittivi di risposta al trattamento immunoterapico come l'ECOG, i parametri di laboratorio e la presenza di metastasi ossee. I dati emersi da questo studio possono avere un importante risvolto nella pratica clinica e aiutare il clinico nella selezione del paziente da sottoporre a trattamento immunoterapico.

CAPITOLO 1: INTRODUZIONE

EPIDEMIOLOGIA

A livello globale il cancro al polmone continua ad essere la principale causa di decessi correlati a neoplasia negli uomini e nelle donne. Suddividendo la popolazione sulla base dello sviluppo economico non esistono notevoli differenze nelle morti per cancro negli uomini; è però presente un più alto tasso di morti per cancro ai polmoni nelle donne nei paesi industrializzati rispetto alle nazioni in via di sviluppo [1].

Incidenza

Il tumore al polmone ad oggi rappresenta la prima patologia neoplastica per frequenza nella popolazione globale. Secondo i dati Globocan aggiornati al 2018, la WHO ha stimato un totale di 2 milioni di nuovi casi, circa l'11% di tutte le nuove diagnosi di tumore (*figura 1*).

Estimated number of new cases in 2018, worldwide, all cancers, both sexes, all ages

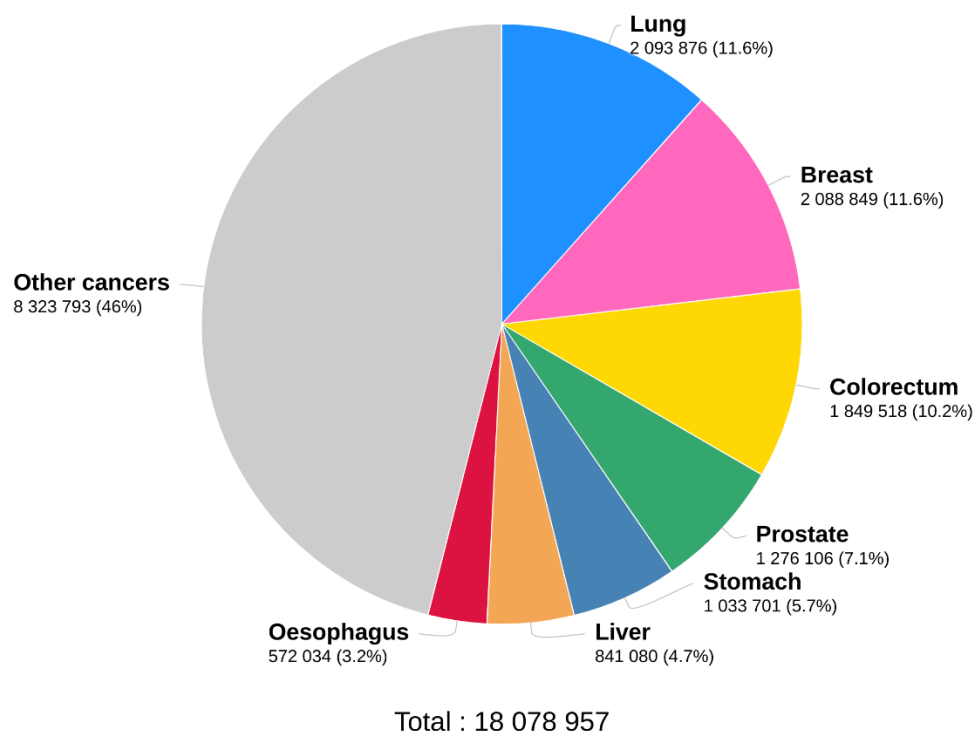


Figura 1 - Incidenza delle patologie neoplastiche nel mondo per entrambi i sessi, dati Globocan 2018

L'incidenza legata al sesso è invece variabile in quanto i tumori polmonari, analizzando la popolazione mondiale, sono la prima patologia neoplastica negli uomini (1,3 milioni, il 14% del totale, *figura 2*) e la terza nelle donne (700 mila circa, l'8% del totale, *figura 3*) dopo i tumori della mammella e del colon-retto [2].

Estimated number of new cases in 2018, worldwide, all cancers, males, all ages

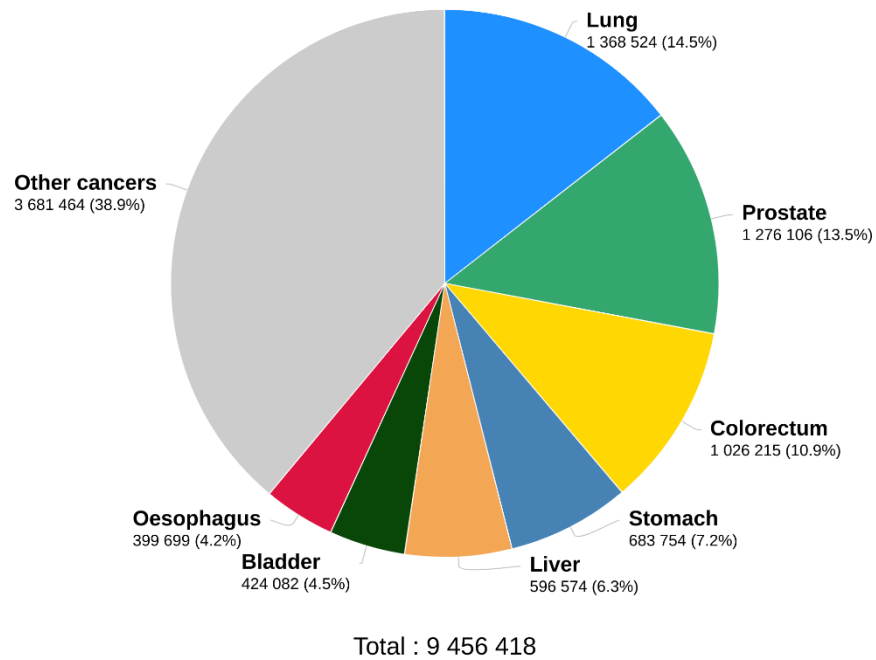


Figura 2 - Incidenza delle patologie neoplastiche nel mondo nel sesso maschile, dati Globocan 2018

Estimated number of new cases in 2018, worldwide, all cancers, females, all ages

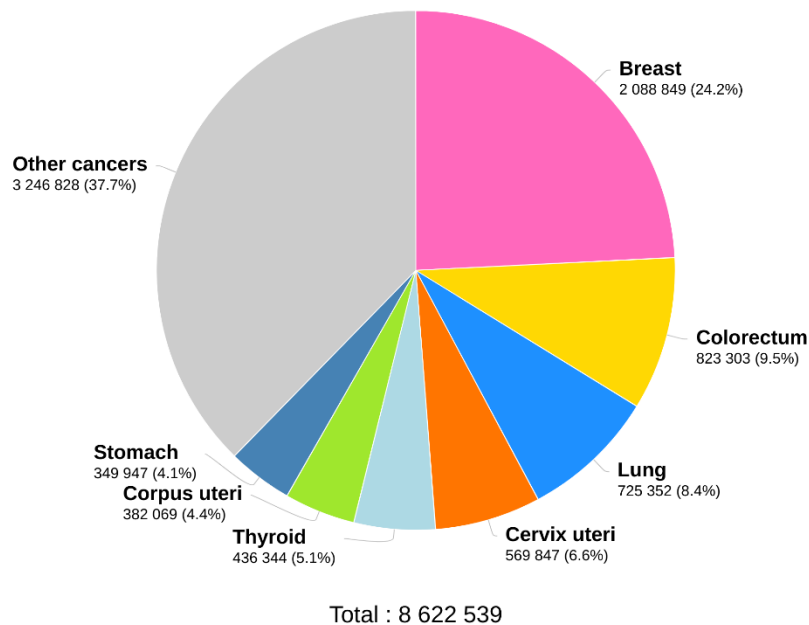


Figura 3 - Incidenza delle patologie neoplastiche nel mondo nel sesso femminile, dati Globocan 2018

Per quanto riguarda la distribuzione geografica dei tassi d'incidenza del tumore al polmone riscontriamo delle differenze tra sesso maschile e femminile: negli uomini si riscontrano i più elevati tassi di incidenza in Europa centrale e in Asia, in particolare in Cina (47,8 per 100000, *figura 4*). I tassi d'incidenza invece sono più bassi negli stati africani e in alcuni dell'America del sud.

Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, lung, males, all ages

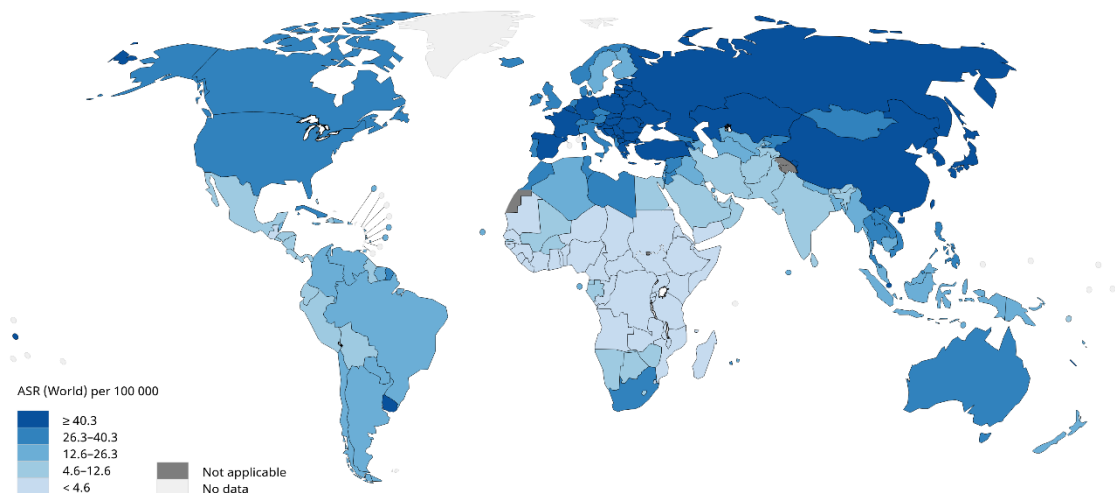


Figura 4 - Incidenza neoplasie polmonari nella popolazione mondiale maschile, Globocan 2018

Nelle donne invece l'incidenza di tumore del polmone è maggiore in Europa settentrionale (29,2 per 100000), in nord America (30,8 per 100000) e si riconferma elevato anche in Cina (22,8 per 100000, *figura 5*). Come nella popolazione maschile l'incidenza minore è tipica degli stati africani, dell'America centrale e in India [3].

Estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, lung, females, all ages

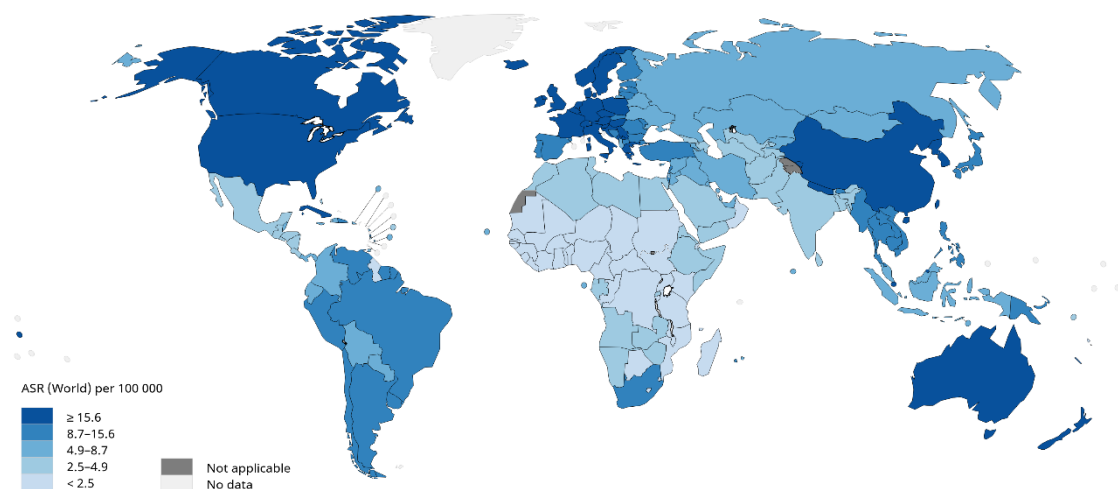


Figura 5 - Incidenza neoplasie polmonari nella popolazione mondiale femminile, Globocan 2018

L'elevata incidenza in Cina è spiegata dalla presenza di diversi fattori di rischio per il tumore al polmone quali l'uso del tabacco, l'inquinamento ambientale, il cibo, la genetica e le patologie polmonari ostruttive croniche (COPD). La produzione e il consumo di tabacco in Cina rappresenta circa il 30% del totale mondiale. Un altro problema è rappresentato dall'incremento dei giovani fumatori, la cui età media di approccio al tabacco è di circa 19 anni. I tassi di incidenza nelle donne cinesi sono inoltre più alti rispetto ai tassi nelle donne di altri stati europei, nonostante la bassa prevalenza di fumatrici: a questo proposito è stato evidenziato che un fattore di rischio è l'inquinamento ambientale da stufe a carbone e fumi di cottura. Nella popolazione cinese sono state inoltre individuate mutazioni genetiche correlate alla suscettibilità di sviluppo del tumore al polmone. Infine è stato evidenziato che le patologie polmonari croniche sono un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di tumore al polmone e l'elevata incidenza di quest'ultimo nella popolazione è stato associato a storia di bronchiti croniche, specialmente nei pazienti con carcinoma squamocellulare [4].

I dati del SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) dal 2004 al 2008 hanno riportato che l'età media alla diagnosi di tumore polmonare è di 71 anni (figura 6). Non sono stati diagnosticati casi di cancro al polmone in pazienti con meno di 20 anni. Approssimativamente lo 0,2% delle diagnosi di tumore polmonare provengono da pazienti con età compresa tra 20 e 34 anni; l'1% tra 35 e 44 anni; l'8,8% tra 45 e 54 anni; il 20,9% tra 55 e 64 anni; il 31,1% tra 65 e 74 anni a dimostrazione che l'incidenza dei tumori polmonari cresce in entrambi i sessi con l'aumentare dell'età. Il 29% delle nuove diagnosi proviene invece da pazienti con età tra 75 e 84 anni mentre l'8,3% da pazienti con più di 85 anni: l'incidenza cala dai 75 anni in poi.

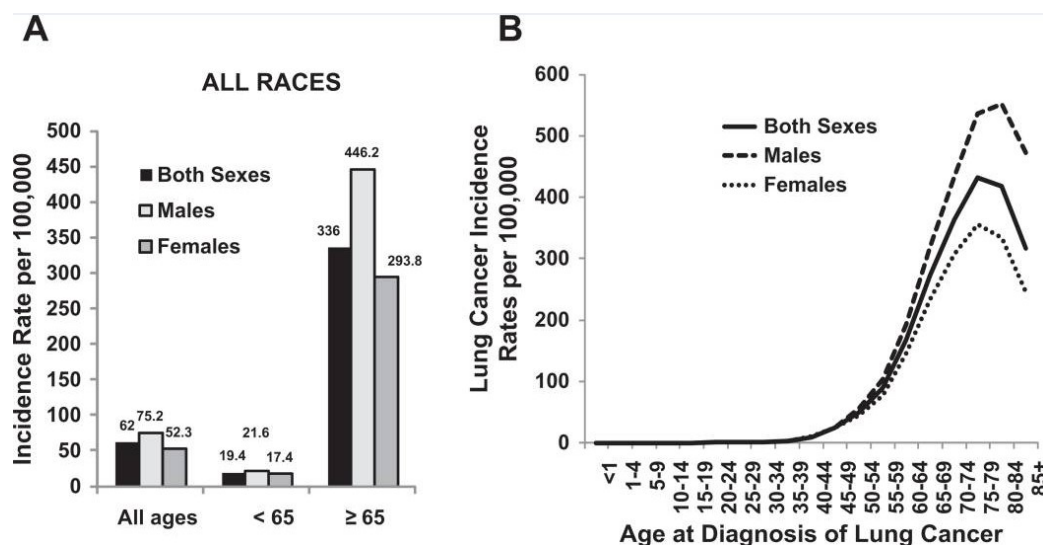


Figura 6 - Tassi d'incidenza per fasce d'età in entrambi i sessi

L'incidenza del tumore polmonare nel sesso maschile negli stati uniti ha subito una riduzione fin dai primi anni '80. L'incidenza nel sesso femminile invece si è ridotta negli ultimi decenni dal 5,6% tra il 1975 e il 1982 al 3,4% tra il 1982 e il 1990, fino allo 0,4% tra il 1991 e il 2006. Più recentemente l'incidenza è scesa al 2,3% tra il 2006 e il 2008 nelle donne. Il ritardo nella riduzione dei tassi di tumore polmonare nelle donne rispetto a quelli negli uomini è attribuito al fatto che l'abitudine tabagica nelle prime ha raggiunto il picco due decenni dopo rispetto ai secondi. Per quanto riguarda l'istotipo del cancro al polmone, l'adenocarcinoma da solo conta il 38,5% di tutti i casi di tumore polmonare, il carcinoma squamocellulare rappresenta il 20% dei casi mentre il carcinoma a grandi cellule è caratterizzato da percentuali più basse (2,9%). Negli ultimi decenni infatti l'incidenza dell'adenocarcinoma è aumentata in maniera notevole, rimpiazzando il carcinoma squamocellulare e diventando il tipo di NSCLC prevalente [5].

Nel 2019 in Italia sono stati stimati 42.500 nuovi casi di tumore del polmone (29.500 negli uomini e 13.000 nelle donne). Esso rappresenta la seconda neoplasia per frequenza negli uomini (15%) dopo il tumore alla prostata con percentuali pari al 14% nella fascia d'età 50-69 anni e al 17% dopo i 70 anni; non compare invece tra le prime 5 neoplasie più frequenti prima dei 50 anni. È invece la terza neoplasia per frequenza (12%) nelle donne con più di 70 anni mentre è al quarto posto nelle donne tra 50 e 69 anni (7%). Gli uomini presentano valori più elevati nelle regioni del nord (107 casi per 100000 abitanti); al centro i casi sono 100 per 100000 abitanti e al sud 103 per 100000 abitanti. Rispetto alle regioni del nord, gli uomini presentano valori di incidenza più bassi al centro e al sud. Nelle donne i tassi sono di 35, 30 e 22 per 100000 abitanti nelle regioni del nord, centro e sud rispettivamente. Anche in questo caso, rispetto alle regioni del nord, al centro e al sud si registrano valori di incidenza più bassi. I casi con conferma citoistologica costituiscono circa i tre quarti della casistica (dal 2010 al 2014): di questi il 40% è rappresentato da adenocarcinomi (34% negli uomini e 50% nelle donne), il 21% da carcinomi squamosi (25% negli uomini e 12% nelle donne), il 12% da tumori a piccole cellule, il 2% da tumori a grandi cellule, la quota restante da altre e non specificate morfologie [6].

Prevalenza

Secondo i dati Globocan, la WHO ha stimato che la prevalenza (calcolata in 5 anni) dei tumori polmonari nel mondo fosse più di 2 milioni di casi: la distribuzione nelle diverse aree geografiche del mondo evidenzia una prevalenza maggiore in Asia con più di 1 milione di casi e, a seguire, in Europa con quasi 500000 casi (figura 7) [7].

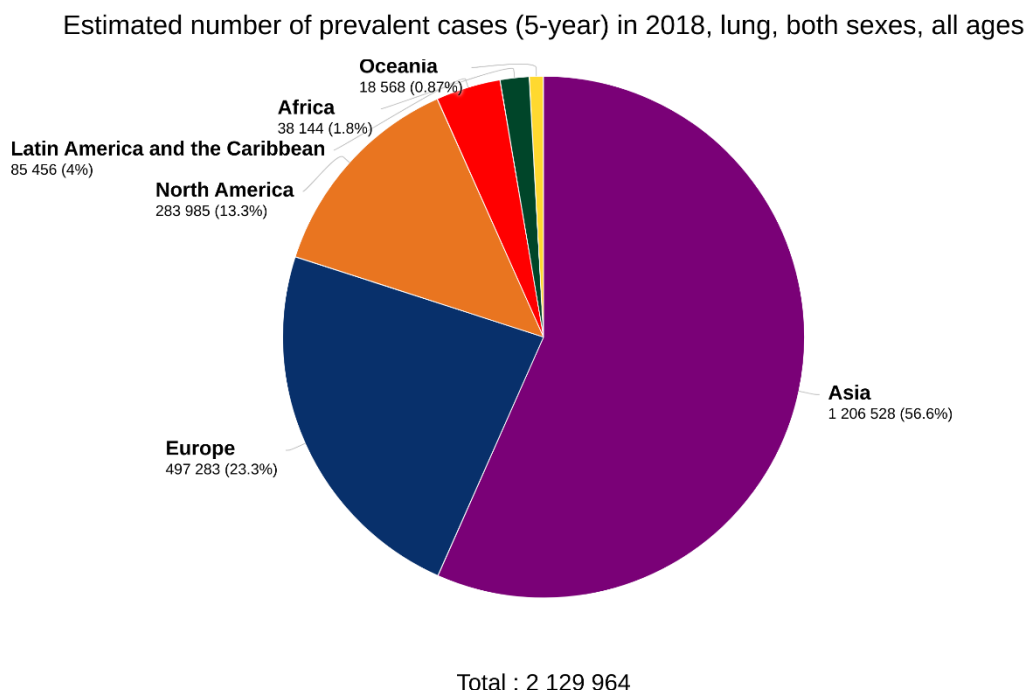


Figura 7 - Prevalenza del tumore polmonare nella popolazione mondiale. Globocan 2018.

Nel 2019 in Italia sono state stimate oltre 107000 persone vive con pregressa diagnosi di tumore del polmone, circa 70000 negli uomini e 37000 nelle donne. Il 38% di questi ha sviluppato la neoplasia da meno di 2 anni, il 37% da 2-10 anni mentre solo il 24% dei pazienti vivi è malato da oltre 10 anni [6].

Mortalità

Più di 100 anni fa il tumore al polmone era estremamente raro, i tumori polmonari maligni rappresentavano solo l'1% dei tumori ritrovati all'autopsia. Il carcinoma polmonare è stato il tumore più comunemente diagnosticato nel 2008 e, nello stesso anno, anche la causa principale di morte per cancro negli uomini; nelle donne il tumore polmonare è stato il quarto tumore più diagnosticato e la seconda causa di morte per cancro. L'incidenza e la mortalità nel tumore polmonare sono le più alte negli Stati Uniti e nei paesi sviluppati, per entrambi i sessi. Per contro i tassi di tumore polmonare sono più bassi nelle aree geografiche sottosviluppate, incluse America Centrale e gran parte dell'Africa, ma stanno aumentando lentamente. La WHO ha stimato che le morti per tumore polmonare nel mondo continueranno ad aumentare, come risultato di un aumento dell'utilizzo di tabacco, soprattutto in Asia [5].

Dalla statistica sappiamo inoltre che più di 158.000 americani sono morti nel 2016 per cancro al polmone, circa il 27% di tutte le morti per cancro. Oggi possiamo quindi considerare il tumore al polmone la prima causa di morte sia negli uomini che nelle donne

nel mondo [8]. Infatti secondo i dati Globocan del 2018 sono stati stimati nel mondo circa 1.761.000 decessi per tumore polmonare, un numero notevole se paragonato ai decessi causati da altri tipi di tumore, come il cancro del colon retto che conta circa 800.000 morti, sempre nel 2018 (figura 8) [7].

Estimated number of deaths in 2018, worldwide, all cancers, both sexes, all ages

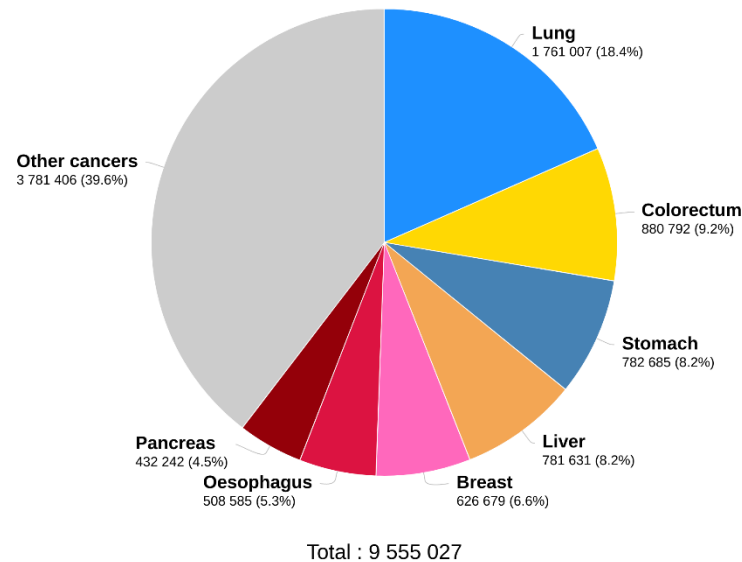


Figura 8 - numero stimato di decessi per tumore nel mondo. Globocan 2018.

In aggiunta, secondo i dati Globocan del 2018, è l'Asia il paese con il più alto tasso di decessi per tumore polmonare con più di 1 milione di casi, seguita dall'Europa e il Nord America (figura 9) [7].

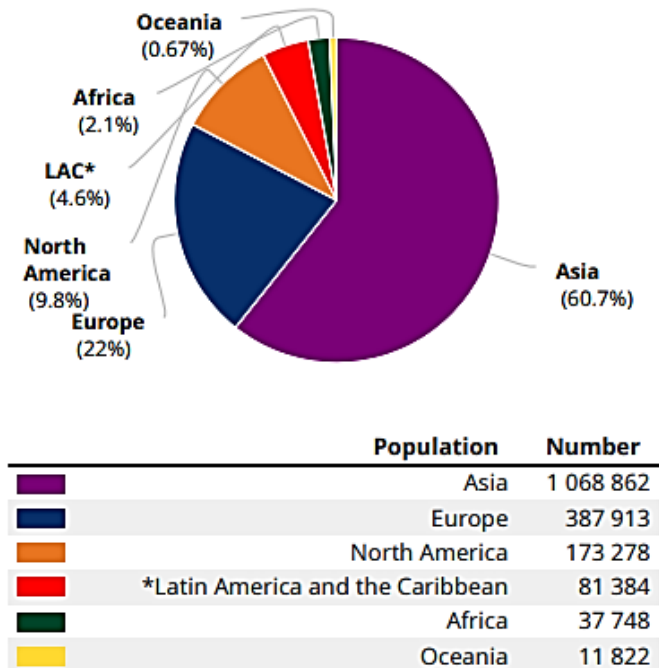


Figura 9 - mortalità per tumore polmonare in entrambi i sessi, per area geografica. Globocan 2018.

Nel 2016 sono state registrate in Italia oltre 33.800 decessi per tumore del polmone, 24.000 negli uomini e quasi 10.000 nelle donne. Il tumore del polmone rappresenta la prima causa di morte negli uomini (27%) e la terza nelle donne (11%). Per quanto riguarda l'età la mortalità per cancro polmonare rappresenta la prima causa in tutte le fasce d'età negli uomini con una percentuale maggiore negli anziani. Nelle donne rappresenta la seconda causa di morte dopo il cancro alla mammella fino a 69 anni mentre nelle donne anziane è la terza causa dopo mammella e colon-retto. Negli uomini la mortalità è minore al centro rispetto alle regioni del nord e maggiore (+1%) rispetto al sud. Nelle donne invece è minore sia al centro che al sud [6].

Sopravvivenza

La sopravvivenza totale a 5 anni per il tumore polmonare negli Stati Uniti dal 2001 al 2007 è stata del 15,6%. I pazienti con tumore localizzato alla diagnosi hanno un tasso di sopravvivenza a 5 anni del 52%; più del 52% dei pazienti con metastasi a distanza alla diagnosi invece ha un tasso di sopravvivenza infausto, di 3,6%, il quale sottolinea la necessità di migliori metodiche di screening per individuare il tumore negli stadi precoci (figura 10) [5].

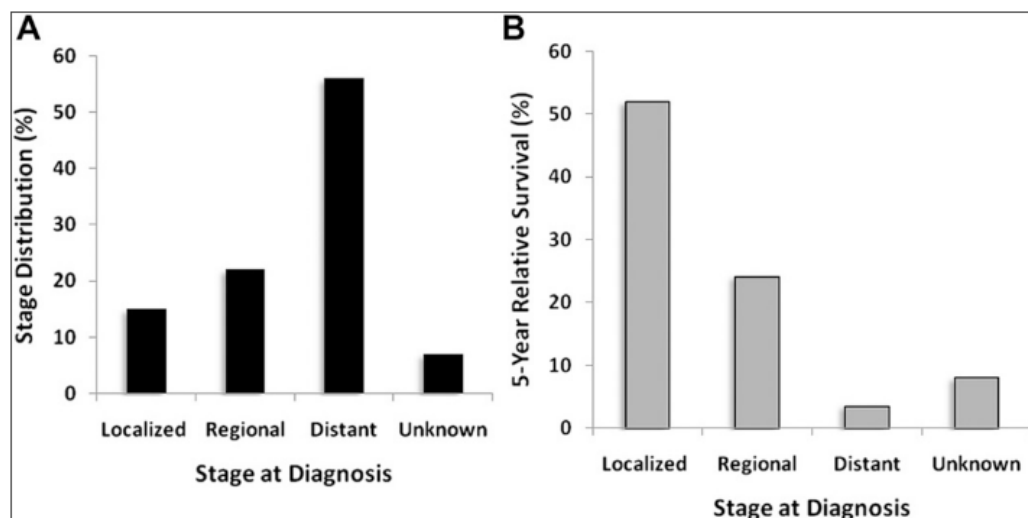


Figura 10 – distribuzione per stadio e relativa sopravvivenza a 5 anni sulla base dello stadio alla diagnosi, dal 2001 al 2007. (A) Distribuzione per stadio e (B) sopravvivenza a 5 anni basata sullo stadio alla diagnosi di tumore polmonare.

Andamenti temporali

In Italia il tumore del polmone mostra un trend in calo negli uomini, più evidente nella fascia 70+ ed in aumento nelle donne, soprattutto nelle adulte e nelle anziane. Negli uomini il calo più evidente si osserva nelle regioni del Nord-ovest, del Nord-est e nelle regioni del Centro; anche al Sud i valori sono in diminuzione, eccetto che in Calabria. Nelle donne il tumore del

polmone mostra un trend in crescita pressoché in tutte le regioni italiane. Gli andamenti temporali per morfologia riflettono gli andamenti del principale fattore di rischio, il fumo di sigaretta, in funzione di determinanti sociali e di genere. Negli uomini sono in aumento gli adenocarcinomi mentre sono in calo le forme squamose. Nelle donne aumentano gli adenocarcinomi e sono costanti invece i tumori squamocellulari [6].

ASPETTI CORRELATI ALLA PREVENZIONE

Fattori di protezione

Dieta:

È stato evidenziato che la dieta è responsabile approssimativamente del 30% di tutti i tumori. Molte relazioni suggeriscono anche che i fattori dietetici contribuiscono all'aumentato rischio di sviluppo di tumore polmonare. Per esempio basse concentrazioni sieriche di antiossidanti come vitamina A, C ed E sono stati associati allo sviluppo di tumore al polmone. I fattori dietetici maggiormente esaminati sono gli stessi che sembrano avere maggiori implicazioni dal punto di vista della prevenzione: frutta, verdura e loro specifici macronutrienti antiossidanti. Secondo una review sistematica del WCRF un elevato consumo di frutta è inversamente correlato al rischio di sviluppo di carcinoma polmonare. La stessa cosa vale per la verdura, ma i risultati sono stati più deboli e meno consistenti rispetto alla frutta. Frutta e verdura sono la maggior risorsa alimentare di macronutrienti antiossidanti, come i carotenoidi. Per esempio, sia l'introito dietetico che la concentrazione ematica totale di carotenoidi è stata associata con un rischio più basso (20-30%) di tumore polmonare nelle categorie più esposte rispetto a quelle meno esposte. Sulla base di questi dati, il WCRF definisce come fattori probabilmente protettivi nei confronti del carcinoma del polmone i cibi contenenti carotenoidi [9]. Per contro un elevato consumo di carne, in particolare carni rosse o fritte possono aumentare il rischio di carcinoma polmonare e questo può essere correlato alla formazione di nitrosamine durante la cottura [10].

Attività fisica:

Una meta analisi sull'attività nel tempo libero ha osservato che sia livelli moderati che elevati di attività fisica sono associati con una riduzione del 13-30% del rischio di sviluppo di carcinoma polmonare. Sulla base degli studi eseguiti il WCRF ha definito l'attività fisica come un fattore inversamente associato con il rischio di tumore al polmone. Comunque il meccanismo biologico specifico con il quale l'attività fisica può ridurre questo rischio resta sconosciuto [9].

Fattori di rischio

L'eziologia del tumore al polmone può essere spiegata come la conseguenza della relazione tra esposizione a fattori ambientali e la suscettibilità individuale a questi agenti [9].

Fattori ambientali

Fumo di sigaretta:

Il fumo di sigaretta è la causa principale di tumore al polmone. [9] L'effetto cancerogeno del tabacco sul polmone è stato dimostrato negli studi epidemiologici condotti dai primi anni '50 ed è stato riconosciuto tale dalla metà degli anni '60. Sebbene le sigarette sono il principale prodotto fumato a base di tabacco nei paesi occidentali, è stata mostrata anche una relazione tra rischio di tumore polmonare e l'utilizzo di sigari e pipe, a dimostrazione che anche questi prodotti hanno effetti cancerogeni [10]. Il tumore al polmone viene classificato in quattro tipi principali sulla base dell'aspetto microscopico: adenocarcinoma, carcinoma squamocellulare, carcinoma a grandi cellule e carcinoma a piccole cellule. Tutti e quattro i tipi sono causati dal fumo di sigaretta [9].

Il fumo contiene molti potenziali cancerogeni, inclusi gli idrocarburi policiclici aromatici (PAHs), amine aromatiche, N-nitrosamine e altre componenti organiche e inorganiche come benzene, cloruro di vinile, arsenico e cromo. I PAHs e le N-nitrosamine richiedono l'attivazione metabolica per diventare cancerogeni. È possibile anche l'eliminazione di questi metaboliti e l'equilibrio tra attivazione e detossificazione di questi condiziona il rischio individuale. Anche materiali radioattivi come il Radon e i suoi prodotti di decadimento, il bismuto e il polonio sono presenti nel tabacco [5].

Il rischio relativo di sviluppare un tumore polmonare è in stretta relazione con alcuni fattori fra cui: il numero di sigarette fumate al giorno, la durata (in anni) dell'abitudine tabagica e il contenuto di catrame delle sigarette [6]. Il dosaggio dei costituenti del fumo ricevuti dal paziente dipende quindi non solo dalle sigarette stesse ma anche dalla durata e dall'intensità dell'inalazione, dalla presenza di filtro e dal tempo di raffreddamento del fumo prima dell'inalazione. Il primo fattore che determina l'intensità di utilizzo delle sigarette è la dipendenza del fumatore dalla nicotina e, sebbene le sigarette oggi contengano meno nicotina e catrame rispetto al passato, i fumatori tendono a fumare più intensamente e con inalazioni più profonde per soddisfare il loro bisogno di nicotina [5].

I fumatori possono beneficiare della cessazione dell'abitudine tabagica a qualsiasi età. La probabilità di sviluppare il cancro del polmone si riduce tra quelli che smettono di fumare a confronto con quelli che continuano a fumare. Più aumenta il periodo d'astinenza dal fumo, più si abbassa il rischio di sviluppo del tumore polmonare. Comunque nonostante periodi di

astinenza di circa 40 anni, è stato visto che il rischio di sviluppo tumorale tra gli ex fumatori resta elevato se confrontato con chi non ha mai fumato. I benefici che derivano dall'interruzione dell'abitudine tabagica dipendono anche dalla durata dell'abitudine stessa: per un determinato periodo di astinenza, il rischio di sviluppo del tumore polmonare è minore se il periodo di tempo in cui il paziente è stato fumatore è breve [9].

In Italia il rischio relativo dei fumatori (considerati in toto) rispetto ai non fumatori è pari a 14, mentre quello dei forti fumatori (oltre le 20 sigarette al giorno) è pari a 20. Per coloro che smettono di fumare il rischio si riduce progressivamente nel corso dei 10-15 anni successivi, con un vantaggio significativo in termini di anni di vita guadagnati per chi smette di fumare prima dei 40 anni. Studi collaborativi Europei e metanalisi evidenziano per i fumatori passivi un aumento del rischio di sviluppare un tumore polmonare compreso tra il 20% e il 50% rispetto ai non fumatori [6].

Amianto:

L'asbesto è un noto cancerogeno occupazionale. L'associazione tra l'esposizione lavorativa all'asbesto e lo sviluppo di tumore polmonare è molto forte, spesso il rischio è fino a cinque volte maggiore. È stato evidenziato che il rischio di sviluppo di cancro al polmone aumenta con la maggior esposizione all'asbesto e sembra essere inoltre associato alle principali forme commerciali di questo minerale. L'amianto e il fumo di sigaretta sono entrambe cause indipendenti del tumore polmonare, ma in combinazione possono agire sinergicamente e aumentare in maniera marcata il rischio di tumore al polmone [9].

Esposizione lavorativa:

Il tumore polmonare è il più comunemente associato all'esposizione lavorativa tra i vari tipi di tumore [9]. Due studi hanno riportato una stima dei casi di tumore polmonare attribuibili ad agenti occupazionali, del valore di 14,5% complessivamente nel Regno Unito e di 12,5% negli uomini in Francia. Gli agenti cancerogeni per il polmone più importanti sono amianto, silice, radon, metalli pesanti e idrocarburi policiclici aromatici [10].

Anche l'esposizione lavorativa ad un certo numero di metalli, incluso arsenico, cromo e nickel è considerata una causa di sviluppo di tumore polmonare. Questi agenti cancerogeni possono aumentare ulteriormente il rischio quando la via di esposizione ad essi è l'ingestione piuttosto che l'inalazione [9].

È stato stimato che nel 2000 il 10% delle morti per tumore al polmone tra gli uomini (88.000) e il 5% tra le donne (14300) nel mondo può essere attribuita all'esposizione ad 8 agenti cancerogeni per il polmone che sono asbesto, arsenico, berillio, cadmio, cromo, nickel, silice e i fumi del diesel [5].

Radiazioni:

Studi sulla popolazione esposta a elevate dosi di radiazioni hanno trovato che il tumore del polmone è uno dei cancro causati dall'esposizione alle radiazioni ionizzanti. Ci sono due tipi di radiazioni ionizzanti rilevanti per il carcinoma del polmone, classificate sulla base del tasso di energia trasferita ai tessuti: radiazioni a basso trasferimento lineare di energia (low-LET) (ad esempio i raggi X e raggi gamma) e radiazioni high-LET (ad esempio neutroni e radon). A dosi equivalenti sono prodotti più danni biologici dalle radiazioni high-LET che dalle radiazioni low-LET. Per entrambe le tipologie di radiazioni, le evidenze epidemiologiche provengono da coorti esposte a livelli sostanzialmente più alti rispetto a quelle a cui è sottoposta la popolazione generale. Il Radon è classificato tra le radiazioni High-LET e per questo elemento, gli studi caso-controllo hanno stimato direttamente il rischio associato con le concentrazioni nelle abitazioni. Il Radon è un gas inerte prodotto naturalmente dal decadimento dell'uranio. Due dei prodotti del decadimento del Radon emettono particelle α che in virtù della loro massa ed energia possono danneggiare il DNA delle cellule dell'epitelio respiratorio. Il fumo di sigaretta e i prodotti di decadimento del Radon influenzano sinergicamente il rischio di tumore polmonare. I raggi X e γ sono stati studiati in relazione al tumore polmonare nei sopravvissuti alla bomba atomica in Giappone, in pazienti con patologie come la spondilite anchilosante o la tubercolosi sottoposti a multipli trattamenti radianti e in gruppi di lavoratori esposti professionalmente alle radiazioni. In generale una porzione consistente della popolazione degli Stati Uniti è esposta a radiazioni ionizzanti, in particolare quelli provenienti dalle TC. Questo è rilevante per le politiche di sviluppo di uno screening per il carcinoma polmonare utilizzando la TC spirale a basse dosi [9].

Inquinamento atmosferico:

L'inquinamento atmosferico è diventato un problema mondiale dato l'attuale tasso impressionante di globalizzazione e industrializzazione. Gli effetti dell'esposizione a bassi livelli di inquinamento atmosferico per un lungo periodo di tempo sono difficili da misurare, specialmente a lungo termine e per quanto riguarda gli effetti cumulativi sul rischio di sviluppo di tumore polmonare. L'inquinamento atmosferico sta peggiorando nei paesi sviluppati; le concentrazioni più alte di particolato, diossido di zolfo e fumo sono state registrate nelle grandi città di questi paesi. L'inquinamento atmosferico è stato considerato per molto tempo correlato all'incremento del rischio di tumore polmonare [5].

L'aria può contenere un gran numero di agenti pericolosi, molti dei quali sono generati dalla combustione di combustibili fossili. Questi ultimi sono: idrocarburi policiclici aromatici e metalli come arsenico, nichel e cromo. Il particolato nell'aria urbana, che ha molteplici fonti,

è stato studiato come una potenziale fattore di rischio per il cancro ai polmoni [9]. L'inquinamento domestico è considerato un importante fattore di rischio nelle donne non fumatrici in diverse regioni dell'Asia. Ciò include la combustione del carbone in case scarsamente ventilate, la combustione del legno e altri combustibili solidi, nonché i fumi della cottura ad alta temperatura utilizzando oli vegetali non raffinati come olio di colza. È stata anche riportata in Europa un'associazione positiva tra vari indicatori di inquinamento domestico e il rischio di tumore polmonare [10].

Virus:

Le infezioni come fattore causale nel carcinoma polmonare sono state prese in considerazione ma questa ipotesi rimane discutibile. Per esempio i virus oncogeni sono stati proposti come causa del tumore al polmone. Primi studi sull'adenomatosi polmonare nelle pecore, causata dal retrovirus Jaagsiekte, hanno mostrato una somiglianza con il carcinoma bronchioloalveolare umano; tuttavia non ci sono prove sufficienti per mettere in relazione queste due patologie e provare il coinvolgimento dei virus nello sviluppo del carcinoma bronchioloalveolare nell'uomo. Scoperte più recenti hanno suggerito un potenziale ruolo del papilloma virus umano (HPV), noto come causa di carcinomi in altri tessuti. Il possibile coinvolgimento dell'HPV nelle lesioni bronchiali squamose è stato suggerito per la prima volta da Syrjanen, che ha descritto i cambiamenti epiteliali nel carcinoma bronchiale molto simili a quelli presenti nelle lesioni condilomatose causate da HPV nel tratto genitale femminile. Il DNA di HPV è stato ritrovato all'interno del carcinoma polmonare a cellule squamose. C'è incoerenza, tuttavia, nella prevalenza di infezione da HPV segnalata nei pazienti con tumore polmonare in diversi paesi con variazioni di razza e posizione geografica. L'Epstein-Barr virus, associato con il linfoma di Burkitt e il carcinoma nasofaringeo, è stato fortemente correlato con il carcinoma linfoepitelioma-like nei pazienti asiatici, una forma rara di tumore polmonare; questa associazione non è stata ritrovata però nella popolazione occidentale. Altri virus sono stati suggeriti come agenti eziologici del carcinoma polmonare incluso il BK virus, JC virus e il CMV umano; tuttavia i risultati nei loro confronti sono rimasti inconcludenti [5].

Fattori individuali

In aggiunta ai fattori di rischio sociodemografici e ambientali per lo sviluppo di tumore polmonare, anche i fattori di rischio individuali possono influenzare la suscettibilità nello sviluppo del cancro al polmone [9].

Familiarità e predisposizione genetica:

È stato evidenziato da diversi studi che una storia familiare positiva per tumore polmonare è un fattore di rischio, in particolare per tumori polmonari a precoce insorgenza. Il rischio relativo risulta essere aumentato anche dopo un'attenta correzione dell'abitudine tabagica. È stata identificata una maggiore suscettibilità legata ai loci cromosomici 6q23-25. Il rischio di tumore polmonare risulta aumentato anche nella Sindrome di Li Fraumeni, caratterizzata dalla mutazione germinale del gene oncosoppressore p53 [10].

Un recente studio ha stimato l'ereditabilità del carcinoma polmonare al 18%, ma molti dei componenti genetici rimangono non identificati. Gli studi GWAS hanno identificato loci di suscettibilità al cancro del polmone tra cui CHRNA3, CHRNA5, TERT, BRCA2, CHECK2 e la regione dell'antigene leucocitario umano (HLA). Un altro studio caso-controllo ha riscontrato che 18 loci di suscettibilità erano significativi, tra cui 10 precedentemente sconosciuti. È interessante notare che, mentre quattro di questi ultimi erano associati al rischio complessivo di cancro ai polmoni, sei erano associati solo all'adenocarcinoma polmonare [11].

Patologie polmonari non tumorali:

Alcune patologie non neoplastiche sono state associate con l'aumentato rischio di sviluppo di tumore al polmone, l'associazione più forte è con la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). Il fumo di sigaretta è la causa principale sia della BPCO che del tumore polmonare. Uno studio su alcune donne con tumore polmonare e che non avevano mai fumato ha mostrato un'associazione statisticamente significativa tra la presenza di ostruzione delle vie aeree e lo sviluppo di tumore al polmone. La conclusione è che l'ostruzione delle vie aeree è un rischio per lo sviluppo di carcinoma polmonare e questa evidenza è supportata dal "Lung Health Study" in cui sono stati monitorati 5887 donne e uomini fumatori con evidenza alla spirometria di BPCO da moderata a severa: il monitoraggio è durato 5 anni e i pazienti potevano o meno assumere una terapia con broncodilatatori oppure essere sottoposti a un counseling per smettere di fumare. Il tumore al polmone è stata la più comune causa di morte con una percentuale del 38% rispetto al totale dei decessi, superando anche le morti per patologia cardiovascolare. Studi più recenti in coorti più estese hanno mostrato che la BPCO è associata in maniera significativa con l'aumento del rischio di sviluppo di carcinoma polmonare, soprattutto nel sesso maschile. La BPCO è caratterizzata da infiammazione cronica che risponde ai corticosteroidi e, l'infiammazione cronica stessa sembra essere associata con l'insorgenza di tumore polmonare. La stessa evidenza sembra caratterizzare anche la presenza di fibrosi interstiziale [5]. È stato evidenziato che i pazienti con tubercolosi polmonare hanno un aumentato rischio di sviluppo di carcinoma polmonare.

Nella maggior parte degli studi, con coinvolgimento di una larga coorte di pazienti con tubercolosi da Shanghai (Cina), il rischio relativo di sviluppo di tumore polmonare nei soggetti con storia di tubercolosi è stato di 1,5 e a 20 anni dalla diagnosi è salito a 2; è stata anche individuata una correlazione con la localizzazione delle lesioni tubercolari. Non è chiaro se l'aumento del rischio è provocato dallo stato infiammatorio cronico del parenchima polmonare o se dall'azione specifica del Micobatterio. Altri studi sul rischio di sviluppo del carcinoma polmonare hanno anche trovato un'associazione positiva tra tumore e infezione da *Chlamydia pneumoniae* [10].

Prevenzione primaria

L'incidenza del tumore al polmone e di conseguenza la correlata mortalità possono essere ridotte dalla diagnosi precoce, dal trattamento della patologia, dalla chemioprevenzione e evitando o interrompendo l'abitudine tabagica. Tra questi, solo programmi volti alla prevenzione dall'abitudine tabagica e all'interruzione della stessa hanno mostrato un'efficace riduzione del rischio di tumore polmonare. La prevenzione nei confronti del fumo di sigaretta previene anche tutta la sequenza di eventi che porta al cancro [5].

L'Italia è stato uno dei primi paesi in Europa ad adottare nel 2005 le nuove misure di prevenzione "MPOWER" previste dal programma di controllo sul fumo, promosso dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Tali provvedimenti, come per esempio il divieto di fumo nei luoghi pubblici, hanno immediatamente prodotto un drastico calo della percentuale di fumatori nel nostro paese. Nel 2013 poi il divieto è stato esteso anche alle scuole, alle spiagge e ai parchi pubblici. Nel 2016 il governo italiano ha emanato una nuova legge che imponeva che almeno il 65% dei pacchetti di sigarette venduti fossero ricoperti di immagini shock, che mostrassero gli effetti dannosi del fumo sulla salute [12].

Prevenzione secondaria

Nonostante i progressi fatti nel trattamento del tumore polmonare negli ultimi decenni, la sopravvivenza globale rimane ancora bassa, principalmente a causa del ritardo nella diagnosi di questa neoplasia, che avviene spesso in stadio avanzato. Il National Lung Screening Trial (NLST) è stato il primo studio a dimostrare come la diagnosi precoce di tumore polmonare con TC torace a bassa dose (LDCT) annuale in soggetti ad alto rischio (55-74 anni, fumatori o ex fumatori entro 15 anni dall'arruolamento), determini una riduzione del 20% della mortalità associata a tale neoplasia, rispetto alla radiografia standard del torace. Questo studio ha favorito l'introduzione di raccomandazioni per l'implementazione dello screening annuale con TC torace a bassa dose da parte della Task Force di prevenzione negli Stati Uniti e del National Comprehensive Cancer Network (NCCN).

In Europa sono stati completati, e sono tutt'ora in corso, numerosi studi dedicati allo screening del tumore polmonare. Il particolare lo studio MILD ha recentemente dimostrato come l'esecuzione di una LDCT del torace, con frequenza annuale o biennale, per un periodo totale di 10 anni, si associ a una riduzione della mortalità correlata al tumore polmonare a 0 anni pari al 39% rispetto alla sola osservazione.

Per contro, una metanalisi pubblicata nel 2016 ha sottolineato i dati relativi al rischio di effetti collaterali correlati allo screening in termini di overdiagnosi e di complicanze associate agli esami di approfondimento dovuti a riscontro incidentale di nodulo polmonare, mentre in riferimento a qualità di vita e livelli di ansia non sono state evidenziate differenze significative. Il quesito GRADE relativo allo screening per tumore polmonare mediante l'impiego di TC torace spirale a bassa dose annuale nei pazienti fumatori o ex-fumatori è attualmente in corso di definizione e sarà pubblicato in occasione del prossimo aggiornamento online delle Linee Guida 2019 [12].

INQUADRAMENTO DIAGNOSTICO

Classificazione anatomo-patologica del tumore polmonare

Il tumore polmonare racchiude un gruppo eterogeneo di tumori che consiste in più di 50 sottotipi istomorfologici. Negli ultimi decenni il tumore polmonare non a piccole cellule (non-small cell lung cancer, NSCLC) e quello a piccole cellule (small-cell lung cancer, SCLC) sono stati i termini più frequentemente usati per il cancro al polmone, principalmente a causa delle opzioni di trattamento limitate, e di solito non richiedevano un'ulteriore sotto-classificazione morfologica. NSCLC comprende approssimativamente l'80-85% di tutti i tumori polmonari, con l'adenocarcinoma (ADC, che rappresenta circa il 40-50% dei casi) e il carcinoma squamocellulare (CS, circa il 20-30% dei casi), sottotipi istologici predominanti. Clinicamente solo in una piccola porzione di pazienti con NSCLC il tumore viene diagnosticato in uno stadio precoce (stadio I o II), quando il tumore può essere trattato con la resezione chirurgica. Più del 60% dei pazienti alla diagnosi di tumore polmonare presenta una malattia localmente avanzata o metastatica (stadio III e IV) localmente avanzato o metastatico, per le quali la resezione chirurgica potrebbe non essere tra le scelte terapeutiche [12]. Ad oggi la classificazione istopatologica raccomandata per il tumore polmonare è quella della World Health Organization (WHO) (*tabella 1*). Più del 95% dei carcinomi polmonari è riconducibile a quattro istotipi principali: carcinoma squamoso (CS), adenocarcinoma (ADC), carcinoma a grandi cellule (CGC) e carcinoma a piccole cellule o microcitoma [13, 14]. Negli ultimi anni, la precisa definizione istologica dei carcinomi del polmone non-a piccole cellule è divenuta critica per lo sviluppo di nuove terapie correlate con l'istotipo [15, 16]

Tabella 1 - Classificazione WHO dei tumori polmonari

CLASSIFICAZIONE WHO DEI TUMORI POLMONARI
Carcinoma squamocellulare , 3 varianti: • Cheratinizzante • Non-cheratinizzante • Forma basaliode
Adenocarcinoma <i>Forme preinvasive:</i> • Iperplasia adenomatosa atipica • ADC in situ mucinoso e non mucinoso • ADC minimamente invasivo

Forme invasive:

- Pattern lepidico (grado 1)
- Pattern acinare e papillare (grado 2)
- Pattern micropapillare e solido (grado 3).
- Misto
- Mucinoso (ex BAC mucinoso)
- Colloide
- Enterico
- Fetale

Carcinoma a grandi cellule

Carcinoma a piccole cellule o microcitoma

Tumori neuroendocrini

- Carcinoide tipico (basso grado)
- Carcinoide atipico (grado intermedio)
- Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule (alto grado)
- Carcinoma a piccole cellule o microcitoma (alto grado)

Carcinoma adeno-squamoso

Carcinomi sarcomatoidi, 5 varianti:

- Carcinoma pleomorfo
- Carcinoma a cellule fusate
- Carcinoma a cellule giganti
- Carcino-sarcoma
- Blastoma polmonare

Carcinomi di derivazione dalle ghiandole salivari

- Carcinoma mucoepidermoide
- Carcinoma adenoido-cistico
- Carcinoma epiteliale-mioepiteliale
- Forme benigne (adenoma pleomorfo)

Altri tumori

- Tumori benigni (papillomi, adenomi)
- Tumori mesenchimali (amartoma, condroma, PEComa...)
- Linfomi
- Tumori di origine ectopica
- Metastasi

La diagnosi può essere eseguita sulla base di un'attenta valutazione dei criteri morfologici convenzionali su ematossilina-eosina o colorazioni specifiche (es. May Grunwald Giemsa) per preparati citologici, ma la colorazione immunoistochimica (IHC) risulta fondamentale per la definizione del NSCLC scarsamente differenziato o non-altimenti specificato (N.A.S.) [16, 17]. L'istotipo adenocarcinoma è solitamente positivo per TTF-1 (Thyroid Transcription Factor-1), citocheratina 7 (CK7) e napsina; il carcinoma squamocellulare esprime p63, p40, citocheratine ad alto peso molecolare (ad es. CK5/6) e desmocollina-3; cromogranina, sinaptofisina, CD56 sono i migliori marcatori per le neoplasie a differenziazione neuroendocrina del polmone come il microcitoma [18-21].

Nella diagnosi differenziale tra adenocarcinoma e carcinoma squamocellulare, l'utilizzo della sola "coppia anticorpale" TTF-1 e p40 è attualmente il migliore approccio sia in senso di specificità/sensibilità diagnostica, sia in termini di ottimizzazione del materiale tumorale, che deve essere risparmiato per poter consentire di valutare tutti i biomarcatori predittivi necessari per la prima linea di terapia.

Particolare attenzione è da riservare alla questione relativa all'introduzione dell'entità carcinoma neuroendocrino a grandi cellule ("large cell neuroendocrine carcinoma", LCNEC) nella più recente classificazione dell'OMS [16, 21, 22, 23].

Le indagini di IHC, per la definizione dell'istotipo, possono essere applicate sia su campioni biotici fissati in formalina, che su preparati citologici. Di grande utilità pratica è l'allestimento di cito-inclusi (cell-block) partendo da materiale citologico prelevato attraverso procedure di agoaspirazione semplice/guidata (trans-bronchiale, trans-toracica, trans-esofagea) o dai versamenti (pleurici o extra-pleurici), soprattutto in considerazione della possibilità di analizzare tramite IHC alcuni dei biomarcatori predittivi di risposta alla terapia medica, come ad esempio il Programmed death-ligand 1 (PD – L1). L'allestimento del citoincluso, accanto a preparati citologici convenzionali strisciati, permette infatti di poter eseguire, con maggiore facilità ed attendibilità, le indagini molecolari in situ (immunoistochimica e di ibridazione in situ) a scopo diagnostico (es. TTF-1 e p40) e predittivo (es. ALK, ROS1, PD-L1) [24-30].

La grande variabilità delle diagnosi istopatologiche riflette l'eterogeneità dei tumori, la quale può essere spiegata dall'origine cellulare differente o dal diverso pathway di differenziazione. Questa eterogeneità è presente anche nei carcinomi come lo squamocellulare o l'adenocarcinoma, che infatti hanno differenti caratteristiche diagnostiche, prognostiche, terapeutiche e demografiche. Per questo, sebbene simili nella differenziazione, rappresentano tumori diversi [31].

Carcinoma squamoso o squamocellulare: il carcinoma polmonare squamocellulare (SC) è un sottotipo istologico distinto di NSCLC, che conta approssimativamente tra il 25 e il 30% dei casi. Il CS è difficile da trattare a causa delle caratteristiche specifiche del paziente e della malattia, tra cui l'età avanzata, la malattia avanzata alla diagnosi e una maggiore incidenza di comorbidità come la broncopneumopatia cronica ostruttiva e le malattie cardiache rispetto al NSCLC non squamoso [32].

La stragrande maggioranza dei pazienti con CS sono fumatori o ex fumatori, a differenza dell'adenocarcinoma, dove una percentuale crescente è costituita da non fumatori o ex fumatori. CS è fortemente associato al fumo di sigaretta, non sorprende quindi che i recenti sforzi per caratterizzare genomicamente il carcinoma polmonare, come quelli di "The Cancer Genome Atlas" (TCGA) e altri, abbiano dimostrato che, in generale, SC riflette la complessità genomica e l'elevato carico mutazionale complessivo atteso dalla carcinogenesi provocata tabacco [33].

CS è generalmente situato in posizione centrale, in genere a partire dalle cellule piatte che rivestono l'interno delle vie respiratorie polmonari e si presenta nei bronchi prossimali. Al contrario, l'adenocarcinoma si trova di solito in posizione periferica e correlato all'epitelio alveolare superficiale o alle ghiandole della mucosa bronchiale. Come conseguenza della sua posizione centrale, CS ha maggiori probabilità di invadere i vasi sanguigni più grandi e strutture vitali nel mediastino ed è più probabile che causi ostruzione bronchiale. Inoltre, i casi di CS localizzato perifericamente di solito si presentano una volta che il tumore è diventato più grande e ha invaso la parete toracica. Inoltre, il sottotipo istologico squamoso è associato alla cavitazione tumorale, con oltre l'80% dei tumori cavitanti identificati come CS. È anche interessante notare che, in media, i tumori squamocellulari crescono più rapidamente rispetto all'adenocarcinoma. Queste caratteristiche cliniche, in particolare la cavitazione, possono spiegare perché i pazienti con CS sono ad aumentato rischio di emorragia polmonare potenzialmente fatale rispetto ai pazienti con adenocarcinoma.

Le caratteristiche microscopiche del carcinoma squamoso possono aiutare a distinguerlo dall'adenocarcinoma. Il carcinoma a cellule squamose è caratterizzato istologicamente da aree di cheratinizzazione e dalla presenza di ponti intercellulari, mentre l'adenocarcinoma mostra tipicamente la formazione di ghiandole e strutture papillari all'esame istologico.

Lo studio di "The Cancer Genome Atlas" ha identificato due campioni con una mutazione EGFR. Il 9% dei campioni presentava un'alterazione dell'EGFR e il numero di copie del gene EGFR e la sovraespressione proteica sono stati osservati più frequentemente nella malattia squamosa rispetto all'adenocarcinoma (82% contro 44%). È stata inoltre osservata un'associazione tra aumento del numero di copie geniche e scarsa prognosi. Nel 7% dei campioni sono state osservate alterazioni nel gene del recettore del fattore di crescita dei

fibroblasti (FGFR1); alterazioni nel percorso PI3K sono comuni nel carcinoma squamocellulare, con alterazioni in uno dei tre componenti principali del percorso (PIK3CA, PTEN o AKT3). Le frequenti alterazioni genetiche nei tumori squamocellulari suggeriscono una disfunzione comune nel controllo del ciclo cellulare, risposta allo stress ossidativo, segnalazione apoptotica e/o differenziazione cellulare squamosa. L'attenzione continua su quest'area sarà vitale per facilitare in definitiva un approccio terapeutico personalizzato per il carcinoma squamoso, alla pari con quello dell'adenocarcinoma [34].

L'accertamento clinico per questo tumore è per lo più broncoscopico-biottico, accompagnato da citologia da esfoliazione spontanea (espettorato) pre- e post-broncoscopia o per abrasione (spazzolato bronchiale). Il CS prevede 3 varianti: il tipo cheratinizzante, il tipo non-cheratinizzante e la forma basaliode [13, 14].

Adenocarcinoma: è un tumore maligno con frequente coinvolgimento pleurico e versamento neoplastico consensuale. In questo istotipo sono frequenti la diffusione linfonodale loco-regionale, quella intra-parenchimale ematica ed aerogena, nonché la precoce metastatizzazione a distanza [13, 14]. I pazienti presentano spesso una malattia metastatica prima dello sviluppo dei sintomi. La maggior parte di questi tumori sono periferici e sono correlati all'epitelio alveolare superficiale o alle ghiandole della mucosa bronchiale. L'esame istologico rivela la formazione di ghiandole, strutture papillari o crescita solida con produzione di mucina. L'adenocarcinoma è associato al fumo, anche se sempre più adenocarcinomi si verificano nei "non fumatori" (generalmente nelle giovani donne).

L'adenocarcinoma comprende un gruppo morfologicamente eterogeneo di tumori. Un sottotipo di adenocarcinoma, il carcinoma bronchioloalveolare (BAC), è un tumore a crescita più lenta con una diversa presentazione clinica e una prognosi migliore rispetto ad altri adenocarcinomi. La definizione istopatologica di BAC ha subito importanti cambiamenti negli ultimi anni ma se i rigidi criteri diagnostici attualmente proposti non sono applicati correttamente viene a crearsi una certa confusione riguardo alla sua diagnosi tra diversi centri [35].

Di recente è stata proposta dalle maggiori società scientifiche internazionali (IASLC/ATS/ERS) una nuova classificazione di ADC, che considera, oltre all'ADC invasivo, anche lesioni preinvasive, come l'iperplasia adenomatosa atipica, l'ADC in situ mucinoso e non mucinoso, in parte corrispondenti al carcinoma bronchiolo-alveolare (BAC) della precedente classificazione, e l'ADC minimamente invasivo (minimally invasive adenocarcinoma), caratterizzato da dimensioni ≤ 3 cm, crescita prevalentemente lepidica, ma con infiltrazione stromale < 5 mm. L'ADC invasivo comprende vari patterns appartenenti a 3 gruppi prognostici, quali pattern lepidico, di grado 1, pattern acinare e papillare, di grado

2, pattern micropapillare e solido, di grado 3. Negli ADC sono frequenti le varianti istologiche miste, per cui la diagnosi patologica viene formulata riportando le percentuali delle singole componenti. Il BAC è stato eliminato come istotipo. Esistono alcune varianti più rare di ADC invasivo: mucinoso (ex BAC mucinoso), colloide, enterico, fetale. Alcune di queste varianti possono perdere il TTF-1 e la napsina, acquisendo un fenotipo di tipo intestinale (ADC enterico e colloide sono frequentemente positivi per CDX2 e CK20, mentre l'ADC mucinoso è spesso positivo solo per CK7) [13, 14, 36].

Negli ultimi decenni le nuove strategie, basate sulle caratteristiche genomiche recentemente identificate di questi tumori, ci hanno fornito raffinate valutazioni del rischio, metodi di diagnosi precoce e interventi terapeutici per il cancro del polmone. Tuttavia, l'impatto di queste strategie è limitato da una conoscenza inadeguata delle caratteristiche biologiche del carcinoma polmonare, in particolare i processi di tumorigenesi e la progressione del tumore nelle fasi iniziali. Studi recenti hanno aumentato la nostra comprensione delle caratteristiche genomiche dell'adenocarcinoma polmonare in termini di inizio e progressione. Si ritiene che il sottoinsieme più diffuso di adenocarcinoma si sviluppi progressivamente dall'iperplasia adenomatosa atipica (AAH) all'adenocarcinoma in situ (AIS), fino all'adenocarcinoma minimamente invasivo (MIA) e infine all'adenocarcinoma invasivo con un modello lepidico. Nella classificazione dell'Organizzazione mondiale della sanità 2015, AAH e AIS sono entrambi definiti come lesioni preinvasive, mentre la MIA è identificata come un adenocarcinoma invasivo precoce che non dovrebbe ripresentarsi se rimosso completamente. Studi recenti hanno esaminato le caratteristiche molecolari della tumorigenesi e della progressione dell'adenocarcinoma polmonare: l'ADC che presenta la mutazione di EGFR si sviluppa spesso attraverso la progressione a più fasi. La senescenza indotta dall'oncogene sembra ridurre la frequenza della progressione multistep nell'adenocarcinoma con KRAS o BRAF mutato, la cui evoluzione tumorale può essere associata ad alterazioni epigenetiche e mutazioni inattivanti chinasi [37].

Carcinoma a grandi cellule (CGC): la definizione di CGC è in genere una diagnosi di esclusione e rappresenta il sinonimo di NSCLC N.A.S. su campione operatorio. Nella classificazione WHO la definizione di CGC indifferenziato viene mantenuta solamente quando la tipizzazione immunoistochimica non sia riuscita a evidenziare una chiara differenziazione cellulare. Tra i carcinomi inclassificati sono stati inseriti il carcinoma simil-linfoepiteliale ed è stato introdotto il carcinoma con traslocazione NUT. Il termine CGC non va mai applicato quando la diagnosi viene posta su piccole biopsie o su esami citologici, essendo una diagnosi da porre solo su campione operatorio.

Carcinoma a piccole cellule o microcitoma: tumore a prevalente localizzazione centrale, costituisce circa il 10-15% dei tumori polmonari e presenta caratteristiche neuroendocrine ed epiteliali. La diagnosi si basa soprattutto sulle caratteristiche nucleari (cromatina finemente dispersa, nucleolo assente, mitosi frequenti con detriti apoptotici) ed è molto più facile su campione citologico ben allestito piuttosto che su biopsia, per la frequente presenza di artefatti da trauma biotico. Il microcitoma è raramente operabile, mentre diffusione mediastinica ed ematica a distanza sono presenti già alla diagnosi. La diagnosi differenziale va posta soprattutto nei confronti di tumori carcinoidi e linfomi, per le importanti ricadute terapeutiche. Il carcinoma a piccole cellule si caratterizza per positività puntiforme per citocheratine (CAM5.2), cromogranina, TTF-1 e CD56 (80% dei casi), negatività per LCA, p63 e napsina, con elevato indice citoproliferativo con Ki67/MIB-1 (>70%) [13, 14].

Tumori neuroendocrini: i tumori neuroendocrini prevedono il carcinoidi tipico (basso grado), il carcinoidi atipico (grado intermedio) ed il carcinoma neuroendocrino a grandi cellule ed il carcinoma a piccole cellule o microcitoma, questi ultimi due come forme di alto grado. La diagnosi va posta su criteri morfologici: numero di mitosi x 2 mm³ o 10 campi a forte ingrandimento, presenza di necrosi e caratteristiche citologiche. Pur non essendo previsti valori soglia per la frazione citoproliferativa con Ki67/MIB-1, l'utilizzo di questo marcatore può essere utile su piccole biopsie e citologici nella diagnosi differenziale tra i carcinoidi ed i carcinomi neuroendocrini di alto grado. La diagnosi di carcinoma NE di alto grado andrebbe posta solo su campioni operatori, anche se è permessa una diagnosi di "possibilità" quando la neoplasia su piccola biopsia presenti una differenziazione immunoistochimica accanto ad una morfologia coerente con un tumore NE [13,14].

Carcinoma adeno-squamoso: la diagnosi è da porre solo in caso di campione operatorio e quando siano presenti 2 componenti riconoscibili morfologicamente di adenocarcinoma e carcinoma squamocellulare rappresentate per almeno il 10% dell'intera neoplasia [13,14].

Carcinomi sarcomatoidi: esistono 5 varianti di carcinoma sarcomatoide: il carcinoma pleomorfo (presenza di una componente convenzionale accanto ad una componente a cellule fusate e/o giganti), il carcinoma a cellule fusate, il carcinoma a cellule giganti, il carcino-sarcoma (presenza di una componente convenzionale accanto ad una popolazione neoplastica di sarcoma con aree eterologhe di osteosarcoma e/o condrosarcoma e/o rhabdomiosarcoma e/o leiomiomasarcoma) ed il blastoma polmonare. La diagnosi andrebbe posta solo su campione operatorio, anche se una diagnosi di "possibilità" è permessa quando la biopsia sia sufficientemente grande da permettere di apprezzare una componente sarcomatoide [13, 14].

Tumori di derivazione dalle ghiandole salivari: carcinoma mucoepidermoide, carcinoma adenoido- cistico, carcinoma epiteliale-mioepiteliale, e forme benigne (adenoma pleomorfo) [13, 14].

Altri tumori: tumori benigni (papillomi, adenomi), tumori mesenchimali (amartoma, condroma, PEComa, tumore miofibroblastico infiammatorio, linfangioleiomiomatosi, emangioendotelioma epitelioide ed angiosarcoma, blastoma pleuropolmonare, sarcoma sinoviale, tumore fibroso solitario, sarcoma dell'arteria e della vena polmonare, sarcoma mixoide con traslocazione EWSR1-CREB1, tumori mioepiteliali), linfomi, tumori di origine ectopica (tumori germinali, timoma intrapolmonare, melanoma, meningioma), metastasi [13, 14].

Caratteristiche genetico-molecolari

Il fumo, rischio ambientale più consolidato del carcinoma polmonare, è responsabile dell'80% della quota mondiale di pazienti con tumore polmonare nei maschi e almeno del 50% nelle femmine. Studi recenti hanno dimostrato che il fumo potrebbe interagire con le variazioni genetiche per influenzare lo sviluppo del cancro del polmone, inclusi l'inizio e la progressione del tumore polmonare. La metilazione del DNA è stata recentemente suggerita come uno dei potenziali meccanismi di tale interazione, con esiti sulla salute correlati al fumo [38].

Sono state identificate diverse alterazioni genetiche nel carcinoma polmonare, tra cui:

1. Mutazioni attivanti in un certo numero di proto-oncogeni tra cui KRAS, EGFR, BRAF, PI3K, MEK e HER2. Degno di nota, l'EGFR (recettore del fattore di crescita epidermico) svolge un ruolo critico nella regolazione della normale proliferazione cellulare, apoptosi e altre funzioni cellulari.
2. Riarrangiamenti strutturali in ALK, ROS1 e possibilmente RET.
3. Amplificazione di proto-oncogeni come MET negli adenocarcinomi, FGFR1 e DDR2 nei carcinomi polmonari a cellule squamose.
4. Sovraespressione di oncogeni da microRNA (miRNA).
5. Inattivazione dei geni soppressori del tumore (TSG), inclusi TP53, RB1, CDKN2A, FHIT, RASSF1A e PTEN.
6. Miglioramento dell'attività della telomerasi, che contribuisce all'immortalità cellulare mantenendo la lunghezza dei telomeri attraverso la sintesi de novo dei telomeri stessi e l'allungamento di quelli esistenti [39].

La caratterizzazione molecolare dei tumori del polmone è un elemento fondamentale del percorso di diagnosi e cura del paziente, alla luce della possibilità di prescrivere trattamenti a bersaglio molecolare in popolazioni selezionate per la presenza o l'espressione di un determinato marcatore [40-42].

EGFR

Il recettore per il fattore di crescita epiteliale EGFR è uno dei recettori tirosin chinasi della famiglia ERBB, composta da quattro membri: EGFR (noto anche come ERBB1 / HER1), ERBB2 / HER2 / NEU, ERBB3 / HER3 e ERBB4 / HER4. Ligandi specifici si legano al dominio extracellulare di EGFR, che porta alla formazione di omodimeri ed eterodimeri. La dimerizzazione stimola l'attività intrinseca della tirosin chinasi recettoriale e innesca l'autofosforilazione di specifici residui di tirosina [43].

Nel NSCLC (in particolare nel 10-15% degli ADC dei pazienti caucasici) sono state identificate mutazioni attivanti a carico degli esoni 18, 19, 20 e 21 di EGFR, che predicono una sensibilità, variabile in relazione al tipo di mutazione, alle terapie a bersaglio molecolare, rappresentate dagli inibitori tirosino – chinasi dell'EGFR, di prima (gefitinib ed erlotinib), seconda (afatinib, dacomitinib) e terza generazione (osimertinib) [44-49].

La mutazione dell'EGFR, che si verifica preferibilmente nell'adenocarcinoma nelle donne e nei non fumatori, è più frequente negli asiatici che negli individui statunitensi / europei [50]. Possono essere sottoposti ad analisi mutazionale di EGFR i pazienti con NSCLC ad istotipo ADC, CGC, NSCLC misto con ADC e NSCLC N.A.S., i quali presentano la più alta probabilità di riscontro di mutazioni; nei casi di carcinoma squamoso "puro" (p40 +/TTF1-), il paziente può non essere testato in quanto quasi sicuramente EGFR non è mutato, con l'eccezione dei rari casi di carcinoma squamoso in pazienti giovani o non fumatori, in cui il test va comunque eseguito. La determinazione delle mutazioni di EGFR può essere eseguita su pezzo operatorio oppure su prelievo bioptico o citologico del tumore primitivo e/o della metastasi [44, 51-53].

Nei pazienti non fumatori, deboli fumatori (<15 pacchetti/anno o ≤5 sigarette al giorno) ed ex-fumatori (da ≥15 anni) con gli istotipi suddetti, in cui la biopsia polmonare standard non riesca a fornire una quantità/qualità di materiale tissutale/citologico adeguato all'analisi molecolare è indicata l'analisi delle alterazioni a carico degli esoni 18, 19, 20 e 21 di EGFR su DNA tumorale circolante (ctDNA) estratto da sangue periferico (plasma) [54].

La valutazione dello stato mutazionale del gene EGFR su biopsia liquida è attualmente raccomandata come possibile alternativa all'analisi su tessuto tumorale nei pazienti con nuova diagnosi di NSCLC avanzato in cui la quantità e/o qualità del tessuto disponibile non siano sufficienti per effettuare le analisi molecolari previste [54, 55].

Sfortunatamente, i pazienti con carcinoma polmonare mutato per EGFR sviluppano una progressione della malattia dopo una mediana da 10 a 14 mesi con l'utilizzo degli inibitori delle tirosin chinasi (EGFR TKI). Sono stati segnalati diversi meccanismi di resistenza acquisita a EGFR TKI di prima e seconda generazione. Il trattamento ottimale per i vari meccanismi di resistenza acquisita non è ancora chiaramente definito, ad eccezione della mutazione T790M. La biopsia tissutale ripetuta è importante per esplorare i meccanismi di resistenza, ma presenta limiti e rischi. La biopsia liquida invece è una valida alternativa alla re-biopsia tissutale. Osimertinib è stato approvato per i pazienti con NSCLC positivo a T790M con resistenza acquisita a EGFR TKI. Per altri meccanismi resistenti alla TKI, può essere presa in considerazione la terapia di combinazione [56].

EML4-ALK

Il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) positivo per la chinasi del linfoma anaplastico (ALK) rappresenta circa dal 3% al 7% di tutte le diagnosi di NSCLC.

In genere, i pazienti con una variante ALK di NSCLC sono giovani non fumatori che presentano un adenocarcinoma polmonare. La scoperta dei riarrangiamenti cromosomici di ALK in NSCLC nel 2007 ha rivoluzionato il trattamento di NSCLC positivo per ALK.

La chiave del riarrangiamento di ALK risiede nella dimerizzazione ligando dipendente del dominio chinasi di ALK. Questo risultato è ottenuto dal riarrangiamento, sul cromosoma 2p, di ALK e di EML4. Il riarrangiamento produce una specifica proteina ad attività tirosin-chinasica coinvolta nei processi di proliferazione e sopravvivenza cellulare [57].

L'analisi di ALK trova indicazione nei pazienti con NSCLC con istotipo ADC, CGC, NSCLC misto con ADC e NSCLC N.A.S., che presentano la più alta probabilità di riscontro di riarrangiamenti del gene. La determinazione delle alterazioni di ALK può essere eseguita su pezzo operatorio, oppure su prelievo biotico o citologico del tumore primitivo e/o della metastasi. Nei pazienti a più alta probabilità in assoluto di alterazioni di ALK, ovvero non fumatori, deboli fumatori (<15 pacchetti/anno o ≤5 sigarette al giorno) ed ex-fumatori (da ≥15 anni) con gli istotipi suddetti, per i quali non sia disponibile un adeguato materiale, può essere indicato un ulteriore prelievo biotico per permettere la successiva determinazione molecolare qualora clinicamente indicato. I test utilizzabili per l'identificazione dei pazienti con riarrangiamento di ALK, eleggibili per il trattamento con crizotinib, sono sia l'IHC che la FISH [44, 51, 58, 59].

ROS1

I riarrangiamenti del gene ROS1 si verificano nell'1-2% dei tumori polmonari non a piccole cellule. Crizotinib, un inibitore altamente efficace dell'attività della chinasi ROS1, è ora approvato dalla FDA per il trattamento di pazienti con NSCLC ROS1-positivo avanzato.

ROS1 appartiene alla famiglia del recettore tirosin chinasi umano (RTK), è evolutivamente vicino alla famiglia di ALK e fa parte delle basi scientifiche per l'utilizzo degli inibitori di ALK come inibitori del ROS1 [60].

L'analisi dei riarrangimenti di ROS1 trova indicazione nei pazienti con NSCLC con istotipo ADC, CGC, NSCLC misto con ADC e NSCLC N.A.S., che presentano la più alta probabilità di riscontro di riarrangimenti del gene.

La determinazione dei riarrangimenti di ROS1 può essere eseguita su pezzo operatorio, oppure su prelievo biotico o citologico del tumore primitivo e/o della metastasi.

Nei pazienti a più alta probabilità dei riarrangimenti di ROS1, ovvero non fumatori, deboli fumatori (<15 pacchetti/anno o ≤5 sigarette al giorno) ed ex-fumatori (da ≥15 anni) con gli istotipi suddetti, per i quali non sia disponibile un adeguato materiale, può essere indicato un ulteriore prelievo biotico per permettere la successiva determinazione molecolare qualora clinicamente indicato [44, 51, 61, 62]

K-RAS

Nei pazienti con NSCLC, la più frequente mutazione driver nei paesi occidentali è quella dell'oncogene KRAS; il NSCLC mutato per KRAS è associato al fumo, in particolare ai forti fumatori. Le mutazioni di KRAS si trovano raramente nei tumori a cellule squamose e solo il 5-10% dei tumori polmonari con mutazione di KRAS insorge in pazienti non fumatori o leggeri fumatori.

KRAS, un membro della famiglia del gene RAS umano, codifica per una piccola GTPasi di membrana, che può esistere in due stati diversi: legata al GDP, che è inattivo, e legata al GTP, che è attivo e trasduce i segnali interagendo con diversi effettori.

Le oncoproteine RAS mutate differiscono funzionalmente dalle loro controparti normali in quanto le forme oncogenetiche impediscono a GAP di aumentare la quota catalitica intrinseca della GTPase, mantenendo così RAS nel suo stato costitutivamente attivo legato a GTP, che attiva le vie oncogeniche e cellulari di trasduzione del segnale.

Le proteine RAS hanno un ruolo centrale nella trasduzione dei segnali mitogeni, quindi i loro principali effettori a valle sono coinvolti nell'attivazione delle vie implicate nella tumorigenesi.

L'efficacia della chemioterapia nei pazienti con NSCLC KRAS mutato è generalmente scarsa e sono state sviluppate numerose nuove strategie terapeutiche. Questi approcci includono il targeting di KRAS di membrana, il targeting delle vie di segnalazione a valle, l'uso della letalità sintetica del KRAS, il targeting diretto del KRAS e l'immunoterapia. Di questi, l'immunoterapia può essere uno degli approcci terapeutici più promettenti per i pazienti con NSCLC KRAS mutato [63].

B-RAF

Uno dei nuovi obiettivi più promettenti nel NSCLC è il proto-oncogene B-Raf mutato, membro della via MAPK. Le mutazioni di BRAF (serina/treonina chinasi), la maggior parte delle quali si traducono nell'attivazione della via MAPK, si verificano nel 2%-4% dei pazienti con NSCLC, con conseguente sostituzione del glutammato con la valina al codone 600. Le mutazioni in BRAF generalmente portano ad attivazione costitutiva della proteina e, di conseguenza, all'attivazione della via di segnalazione della protein chinasi attivata dal mitogeno (MAPK).

Sebbene solo il 2%-4% dei pazienti con NSCLC presenti una mutazione BRAF, il vasto numero di pazienti che ogni anno ricevono una diagnosi di NSCLC suggerisce che il sottogruppo di BRAF mutati potrebbe rappresentare un numero sostanziale di pazienti per i quali potrebbero mancare opzioni terapeutiche efficaci. Le evidenze precliniche suggeriscono che l'inibizione del solo BRAF o MEK è sufficiente per indurre l'arresto del ciclo cellulare e l'apoptosi nelle linee cellulari di NSCLC mutate per BRAF V600E.

Inoltre, la combinazione di inibitori di BRAF e MEK ha dimostrato un potenziamento sinergico dell'apoptosi rispetto all'utilizzo dei singoli agenti [64].

MET

Le alterazioni dell'esone 14 di MET provocano un aumento dei livelli della proteina codificata da MET, un recettore transmembrana tirosin chinasi che funziona come recettore di HGF (fattore di crescita per gli epatociti) coinvolto nell'invasione, nella metastatizzazione e nella regolazione dell'angiogenesi tumorale.

Alterazioni dell'esone 14 di MET si riscontrano in una popolazione relativamente anziana di pazienti con NSCLC, con una prevalenza di circa il 3% nell'adenocarcinoma polmonare e leggermente superiore al 2% nel carcinoma a cellule squamose.

Gli inibitori di MET, inclusi TKI e anticorpi monoclonali (mAb) contro MET o il suo ligando, HGF, sono stati in fase di sviluppo clinico dai primi anni 2000. I TKI possono generalmente essere divisi in tre tipi (I, II e III). Almeno cinque TKI con MET come target, tra cui crizotinib, cabozantinib, capmatinib, tepotinib e glesatinib, sono stati studiati clinicamente per i pazienti con NSCLC con la mutazione dell'esone 14 di MET [65].

EGFR

Il pathway del recettore del fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR) svolge un ruolo chiave nella trasduzione del segnale nel carcinoma polmonare: controlla i processi cellulari come la progressione del ciclo cellulare, la migrazione, il metabolismo, la sopravvivenza, la

proliferazione e la differenziazione. Esso attiva anche molteplici percorsi di trasduzione del segnale, tra cui RAS e MAPK, che sono coinvolti nella neoangiogenesi. Pertanto, FGFR è fondamentale per l'angiogenesi, l'embriogenesi, l'infiammazione e la proliferazione delle cellule tumorali maligne. La famiglia di FGFR è costituita da quattro recettori tirosin chinasi, da FGFR1 a FGFR4, che mediano la cascata del segnale a seguito del legame con i loro ligandi ad alta affinità, i fattori di crescita dei fibroblasti (FGF). FGFR1 è codificato da un gene presente sul cromosoma 8p, mentre FGFR2, FGFR3 e FGFR4 sono codificati da geni presenti sul cromosoma 10q, sul cromosoma 4p e sul cromosoma 5q, rispettivamente.

Analisi complete dell'alterazione genomica nel carcinoma polmonare a cellule squamose hanno dimostrato che nel 3% dei casi sono presenti mutazioni di FGFR2. La prima classe di agenti studiati, in quanto inibitori di FGFR, sono dei farmaci antiangiogenetici inizialmente sviluppati per colpire il recettore del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGFR). Con l'emergere dell'FGFR come obiettivo importante per la terapia del cancro, tuttavia, questi agenti sono stati riposizionati come inibitori dell'FGFR e studiati per la loro attività inibitoria su tale recettore. Questi agenti includono brevanib, cediranib, dovitinib, lucitanib e nintedanib. Negli ultimi anni, tuttavia, sono stati introdotti in clinica numerosi, potenti e specifici inibitori di FGFR di seconda generazione [66].

VEGFR

L'angiogenesi svolge un ruolo fondamentale nello sviluppo del tumore e nella diffusione metastatica. È un meccanismo complesso indotto da fattori pro-angiogenici. Tali mediatori pro-angiogenici includono il fattore di crescita endoteliale vascolare A (VEGF-A), VEGF-C, VEGF-D, fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), fattore di crescita dei fibroblasti (FGF) e tanti altri. La famiglia VEGF è una delle famiglie di molecole angiogeniche maggiormente studiate. Il VEGF è sovraespresso in molti tumori solidi incluso il cancro al polmone [67].

Il recettore del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGFR), percorso critico nella progressione del tumore, rappresenta un obiettivo importante nel NSCLC. Esistono due principali categorie di agenti che prendono di mira la via VEGFR: gli anticorpi anti-VEGF e gli inibitori della tirosina chinasi di VEGFR (VEGFR-TKIs). Diversi VEGFR-TKI sono stati sviluppati per terapie mirate nel NSCLC, come sorafenib, sunitinib, cediranib e vandetanib; Gli anticorpi invece sono bevacizumab, aflibercept e ramucirumab [68].

DDR2

Il recettore DDR2 è una tirosin chinasi atipica che si lega al collagene della matrice extracellulare attivandosi. Recenti studi sul sequenziamento degli esoni hanno identificato la DDR2 mutata con un'incidenza del 3-4% nei tumori a cellule squamose del polmone.

Esistono diversi inibitori candidati al blocco selettivo di DDR2 come dasatinib, imatinib e nilotinib, i quali bloccano l'attività della chinasi DDR2 in maniera competitiva. Oltre agli inibitori mirati, è stato evidenziato che DDR2 è sensibile anche alla degradazione da parte degli inibitori dell'HSP90. La potenza di questa classe di inibitori verso specifiche mutazioni DDR2 non è stata ancora stabilita, ma precedenti lavori sulle mutazioni EGFR e sulla traslocazione EML4-ALK nell'adenocarcinoma polmonare suggerirebbero che gli inibitori dell'HSP90 potrebbero preferibilmente degradare i DDR2 mutati ed essere un potenziale terapeutico nel carcinoma squamocellulare [69].

RET

Il gene RET si associa al cromosoma 10q11.2 e codifica per un recettore tirosin chinasi costituito da tre domini:

1. Un dominio extracellulare (contenente quattro ripetizioni simili alla caderina, un sito di legame del calcio e una regione ricca di cisteina);
2. Un dominio transmembrana;
3. Un dominio della chinasi intracellulare, che condivide delle sequenze di ALK.

In NSCLC, ad oggi sono stati identificati almeno 12 geni di fusione RET. Modelli preclinici hanno mostrato che gli oncogeni di fusione RET (KIF5B-RET e CCDC6-RET) migliorano la proliferazione cellulare e la sopravvivenza attraverso la fosforilazione diretta del trasduttore di segnale e STAT3 o l'attivazione del pathway JAK / STAT3 e RAS / RAF / MEK / ERK. Sebbene gli inibitori selettivi di RET non siano ancora stati sviluppati, diversi agenti multi-target con attività anti-RET sono stati valutati in modelli preclinici e studi clinici in pazienti con NSCLC [70].

PD-L1

Nell'ambiente tumorale, il legame tra PD-1 e PD-L1 sopprime la proliferazione attiva delle cellule T, il rilascio di citochine e l'attività citolitica delle cellule T PD-1 positive, promuovendo così la fuga delle cellule tumorali dall'attacco immunitario dell'ospite (Figura 11). Pertanto, il targeting della segnalazione PD-1 / PD-L1 può migliorare la capacità delle cellule T attivate di riconoscere e uccidere le cellule tumorali e, successivamente,

ripristinare la funzione di sorveglianza immunitaria dell'ospite, mediante l'attivazione del pathway PI3K / Akt e Ras / MEK / Erk percorsi. Gli agenti che mirano alla segnalazione PD-1 / PD-L1 hanno mostrato una risposta promettente nel trattamento NSCLC. Due anticorpi (nivolumab e pembrolizumab) verso PD-1 e due anticorpi (atezolizumab e durvalumab) verso PD-L1 sono stati approvati dalla Food and Drug Administration (FDA) e / o European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di NSCLC. Sfortunatamente, solo circa il 20% dei pazienti con NSCLC ha una risposta positiva a questi farmaci in monoterapia. [71]

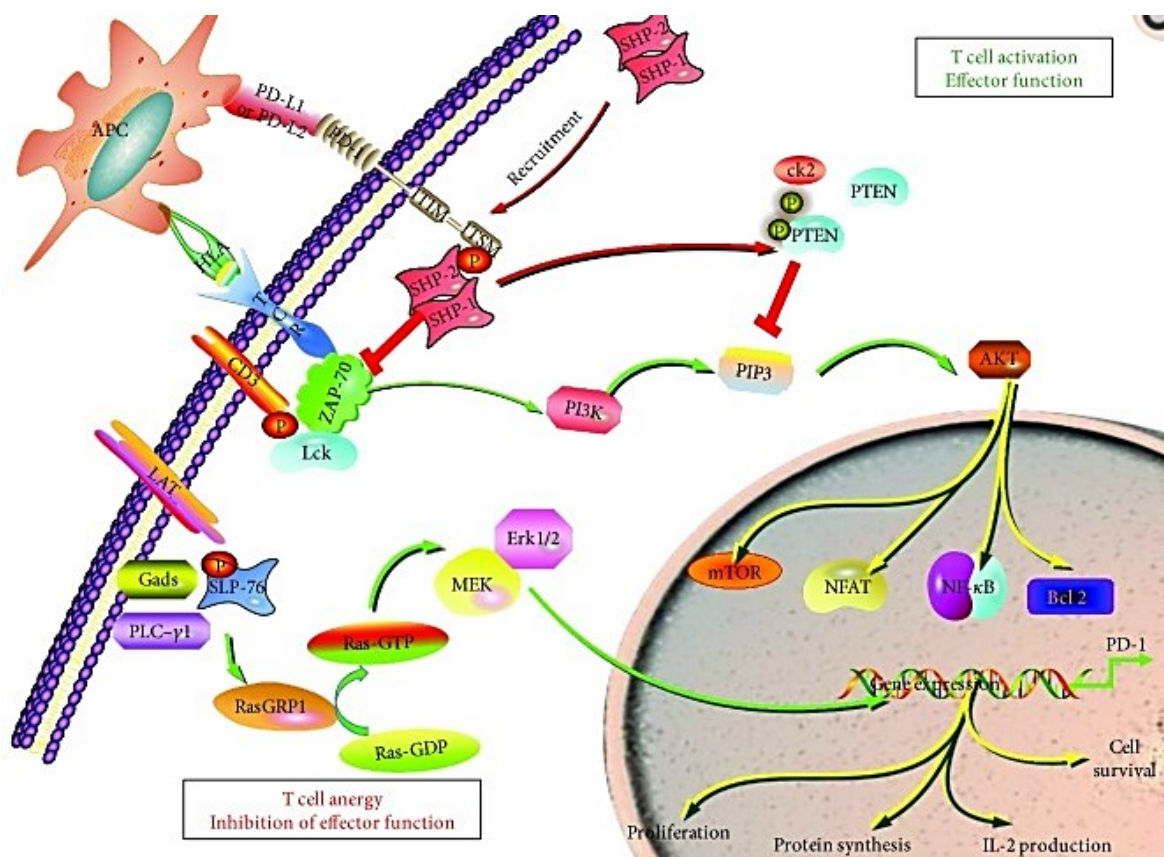


Figura 11 - Effetti del signalling PD-1/PD-L1 sui pathways principali e la riprogrammazione nelle cellule T.

Circa la valutazione dell'espressione di PD-L1 per la selezione dei pazienti al trattamento con pembrolizumab in prima o seconda linea di trattamento:

- La valutazione dell'espressione di PD-L1 trova indicazione nei pazienti con NSCLC con istotipo ADC, CS, CGC, NSCLC misto con ADC e NSCLC N.A.S.
- L'analisi dell'espressione di PD-L1 può essere eseguita su pezzo operatorio, oppure su prelievo biotico o citologico del tumore primitivo e/o della metastasi; il prelievo citologico deve essere fissato in formalina ed incluso in paraffina (cell – block).
- Nei pazienti che presentino negatività per le mutazioni di EGFR, riarrangiamenti di ALK e ROS1, per i quali non sia disponibile adeguato materiale, può essere indicato un ulteriore prelievo biotico per permettere la successiva valutazione.

È di fondamentale importanza riportare la positività rilevata in relazione ai cutoff clinicamente rilevanti ($\geq 50\%$ per la prima linea di trattamento e $\geq 1\%$ per la seconda linea di trattamento) [44, 51].

Considerando globalmente quanto sopra riportato, la valutazione delle alterazioni a carico degli esoni 18, 19, 20 e 21 di EGFR, dei riarrangiamenti di ALK e ROS1 e dell'espressione di PD-L1 è raccomandata in pratica clinica per la definizione della strategia terapeutica di I linea più efficace nei pazienti con NSCLC avanzato [44]. Inoltre si consiglia (seppur non possa questo rientrare in una raccomandazione formale), sempre sulla base di quanto sopra esposto, la valutazione delle mutazioni di BRAF ed HER2. Ove possibile, e senza compromettere la valutazione dei biomarcatori da testare in pratica clinica, si consiglia la valutazione dei riarrangiamenti dei geni RET ed NTRK 1-3, le mutazioni che causano una maturazione aberrante del trascritto (exon skipping) a livello dell'esone 14 di MET e le alterazioni del gene KRAS, con lo scopo di favorire l'accesso dei pazienti ai trattamenti a bersaglio molecolari disponibili nell'ambito di sperimentazioni cliniche disponibili anche in Italia [51]. Soltanto dopo aver valutato lo stato dei marcatori approvati in pratica clinica (EGFR, ALK, ROS1 e PD – L1) andrebbero potenzialmente valutati ulteriori biomarcatori, qualora si voglia considerare l'eleggibilità del paziente in studi clinici [44, 47].

Diagnosi

In seguito alla prima formulazione di un sospetto diagnostico di tumore polmonare è indispensabile ricostruire accuratamente la storia clinica (comprese abitudine tabagica, comorbidità, perdita di peso, performance status, familiarità per neoplasie) ed eseguire un esame fisico approfondito del paziente. La fase diagnostica e la successiva stadiazione clinica richiedono l'impiego razionale delle metodiche di imaging e delle tecniche di prelievo biotico attualmente disponibili [72, 73].

Presentazione clinica

Sintomi locali

Il tumore del polmone in molti casi resta asintomatico nelle sue fasi iniziali: succede a volte che la malattia venga diagnosticata nel corso di esami effettuati per altri motivi. Quando il tumore ai polmoni inizia ad accrescersi localmente e ad invadere l'organismo nascono segni obiettivamente evidenti e sintomi accusati dal paziente, differenti in base alla modalità di espansione della massa tumorale, che possono essere così elencati:

- Sintomi dovuti ad accrescimento centrale (endobronchiale):
 - Tosse da irritazione della mucosa delle vie aeree, continua che non passa o addirittura peggiora nel tempo;
 - Raucedine;
 - Emottisi (emissione di sangue con la tosse);
 - Affanno respiratorio e respiro corto;
 - Stridore respiratorio;
 - Dispnea da ostruzione bronchiale;
 - Polmonite ostruttiva (con febbre e tosse catarrale) e infezioni respiratorie frequenti o che ritornano dopo il trattamento.
- Sintomi dovuti ad accrescimento periferico:
 - Dolore da infiltrazione della pleura o della parete del torace, che aumenta nel caso di un colpo di tosse o un respiro profondo
 - Tosse da compressione delle vie aeree;
 - Dispnea restrittiva (causata da compressione del polmone e non da ostruzione bronchiale);
 - Ascesso polmonare.

Sintomi generali riferiti dal paziente e aspecifici sono:

- Inspiegabile calo ponderale;
- Anoressia;
- Astenia [74-76].

Sintomi associati a metastasi locoregionali e a distanza

Il tumore può diffondersi per contiguità alle strutture vicine quali il polmone stesso, la pleura che riveste i polmoni, la parete toracica e il diaframma; può diffondersi anche per via linfatica ai linfonodi o attraverso il flusso sanguigno dando metastasi a distanza, più comunemente a livello di fegato, cervello, ghiandole surrenali, midollo spinale o ossa.

I sintomi dovuti ad interessamento dei linfonodi regionali o a metastasi a distanza sono:

- Ostruzione tracheale da compressione da parte di linfonodi ingrossati;
- Disfagia da compressione sull'esofago;
- Disfonia da paralisi del nervo ricorrente;
- Dispnea e sollevamento del diaframma da paralisi del nervo frenico;
- Sindrome di Bernard-Horner da paralisi del simpatico (restringimento della rima palpebrale, enoftalmo, miosi);

- Sindrome di Pancoast nei tumori dell'apice polmonare (intenso dolore alla spalla e all'arto superiore, lungo il decorso del nervo ulnare) da infiltrazione dell'ottavo nervo cervicale e del primo nervo toracico;
- Sindrome della vena cava superiore da compressione vascolare (edema di volto, collo e palpebre, a volte a mantellina, circoli venosi collaterali a dorso, spalle e arti superiori);
- Aritmie e insufficienza cardiaca da invasione del cuore;
- Versamento pericardico e segni di tamponamento cardiaco;
- Versamento pleurico da ostruzione linfatica;
- Dolore alle ossa, fratture patologiche, ipercalcemia per le metastasi ossee;
- Ittero e alterazione degli indici di funzionalità epatica (LDH, GOT, GPT, ALP, GGT) per la diffusione epatica;
- Cefalea, vertigini, vomito a getto, confusione mentale, convulsioni alterazione della personalità, per le metastasi intracraniche [74-76].

Sindromi paraneoplastiche

Le sindromi paraneoplastiche sono una diretta conseguenza del carcinoma polmonare, ma compaiono in sede extrapolmonare, interessando le fibre nervose e i muscoli. Non sono correlate alla dimensione o alla sede del carcinoma polmonare e non indicano che il tumore si è diffuso esternamente al torace, sono piuttosto causate da sostanze secrete dal tumore (ormoni, citochine e altre proteine). Gli effetti paraneoplastici comuni includono:

- Ipercalcemia nei pazienti con carcinoma a cellule squamose
- Sindrome da inappropriata secrezione di ormone antidiuretico (SIADH).
- Ippocratismo digitale con o senza osteoartropatia polmonare ipertrofica (infiammazione di ossa e articolazioni)
- Ipercoagulabilità con trombosi venosa superficiale migrante (sindrome di Trousseau), che spesso causa coaguli di sangue nelle gambe
- Sintomi sono simili a quelli della miastenia grave (sindrome di Eaton-Lambert)
- Sindrome di Cushing
- Diversi altri tipi di disfunzione del sistema nervoso [77].

Markers tumorali

Un marcatore tumorale è una qualsiasi sostanza (proteine, ormoni, enzimi), misurabile quantitativamente nei tessuti e/o nei fluidi biologici, che può essere messa in relazione alla presenza o alla progressione di un tumore. In genere si usano metodi immunometrici, basati sull'elevata affinità della reazione antigene-anticorpo, che garantiscono elevata sensibilità

analitica. Si utilizzano anticorpi che riconoscono in modo specifico un dato analita (anticorpi monoclonali). La rivelazione varia a seconda del tracciante (radioattivo, luminescente, enzimatico, fluorescente, ecc). Per il tumore polmonare vengono dosati i markers CEA, CYFRA 21.1, NSE, TPA (tabella 2).

- CEA (Antigene Carcinoembrionale)
 - Glicoproteina appartenente alla famiglia delle immunoglobuline.
 - Molecola di adesione coinvolta nei meccanismi di riconoscimento intercellulare, fondamentali nei processi di regolazione della crescita e del differenziamento.
 - È utilizzato in caso di NSCLC e nel carcinoma del colonretto.
 - Impiego: non si può usare in fase diagnostica, in quanto negli stadi iniziali la concentrazione aumenta solo in pochi casi. Importante nel monitoraggio del decorso della malattia: un decremento dopo intervento chirurgico suggerisce la radicalità dell'intervento stesso, viceversa una mancata diminuzione o un aumento progressivo indicano la presenza di malattia occulta o la diffusione metastatica.
 - Valori plasmatici di riferimento: 0-5.0 ng/ml.
- CYFRA 21-1
 - Identifica il frammento solubile della citocheratina 19, espressa nelle cellule epiteliali
 - In combinazione con NSE è utile per differenziare il carcinoma a piccole cellule dagli altri isotipi tumorali.
 - Valori plasmatici di riferimento: 0-3.3 ng/ml.
- NSE (enolasi neurone-specifica)
 - Enzima glicolitico prodotto dalle cellule nervose e da quelle neuroendocrine.
 - Nei pazienti affetti da neuroblastoma sono frequenti concentrazioni ematiche di enzima superiori a 15 ng/ml, mentre in pazienti affetti da carcinoma a piccole cellule sono frequenti concentrazioni ematiche di enzima superiori a 12 ng/ml.
 - Livelli superiori a 100 ng/ml si associano ad una sopravvivenza più breve, a parità di stadio della malattia e di trattamento.
 - Impiego: stadiazione, individuazione di recidive, monitoraggio delle terapie.
 - Valori plasmatici di riferimento: 0-18.30 ng/ml.

- TPA (Antigene Polipeptidico Tissutale)
 - Proteina appartenente alla famiglia delle citocheratine. Marcatore di proliferazione liberato nel plasma dalle cellule epiteliali in duplicazione. È correlabile non tanto all'estensione della massa neoplastica, quanto alla sua attività proliferativa.
 - Aumenta nei tumori aggressivi del tratto gastroenterico, genitourinario, mammario, tiroideo e polmonare. È dosabile nel siero ma anche nelle urine.
 - Impiego: valutazione dell'attività proliferativa di una neoplasia accertata. Monitoraggio della malattia in corso di terapia in associazione con altri marcatori organo-specifici.
 - Valori plasmatici di riferimento: 0-85 U/ml. Cut-off: > 90 U/ml [78].

Marcatori	Abitudini voluttuarie	Condizioni fisiologiche	Patologie non neoplastiche	Manovre diagnostiche
CEA	Fumo Alcool	Gravidanza	Nefropatia cronica, epatite cronica, sierositi a varia eziologia, polmonite/enfisema.	Immunoscintigrafia
CYFRA 21.1	Fumo		BPCO, infezioni acute, pneumopatie	
NSE	Fumo		BPCO, infezioni acute, pneumopatie	
TPA	Fumo Alcool	Gravidanza	Ittero, nefropatia cronica, epatite cronica, sierositi a varia eziologia, polmonite/enfisema	Gastroscopia

Tabella 2 - Principali condizioni NON NEOPLASTICHE correlate all'aumento dei marcatori tumorali

Studi hanno dimostrato che i livelli sierici di CEA e CYFRA 21.1 sono predittivi di risposta alla terapia nei pazienti con NSCLC non precedentemente trattati ma, soprattutto il cambiamento dei loro livelli sierici durante la terapia è indicativo di risposta al trattamento [79].

Imaging

L'indagine di prima linea nel sospetto di tumore polmonare rimane l'RX torace in quanto ha i vantaggi di essere economico e accessibile, con bassa dose di radiazioni.

Le raccomandazioni del National Institute for Health and Care Excellence (NICE) attestano che i medici di medicina generale nel sospetto di tumore polmonare, debbano indirizzare i pazienti di età pari o superiore a 40 anni con emottisi inspiegata all'esecuzione di una radiografia del torace urgente (eseguita entro 2 settimane), se questi hanno 2 o più dei seguenti sintomi, o se hanno mai fumato e hanno 1 o più dei seguenti sintomi:

- Tosse
- Affaticamento
- Mancanza di respiro
- Dolore al petto
- Perdita di peso
- Perdita dell'appetito

Inoltre secondo le raccomandazioni NICE va considerata una radiografia del torace urgente (eseguita entro 2 settimane) per valutare il sospetto tumore polmonare nelle persone di età pari o superiore a 40 anni con una qualsiasi delle patologie seguenti:

- Infezione toracica persistente o ricorrente
- Ippocratismo digitale
- Linfadenopatia sopraclaveare o persistente linfadenopatia cervicale
- Segni toracici coerenti con il cancro ai polmoni
- Trombocitosi

Se il sospetto di neoplasia è stato posto sulla base di una radiografia del torace, l'approfondimento successivo con metodiche di imaging deve prevedere l'esecuzione di una TC torace e addome superiore con mezzo di contrasto. Questo è l'esame di scelta per la stadiazione, poiché rispetto ad altri esami radiologici è in grado di fornire informazioni adeguate per la definizione iniziale dei parametri T, N e, per alcune sedi, M (con eventuali esami complementari). La TC con m.d.c permette di verificare nella stessa seduta l'eventuale interessamento di altri organi, quali fegato e surreni.

La maggior parte degli studi considerano un diametro linfonodale superiore a 1 cm nell'asse minore quale criterio per definire la positività del reperto radiologico. I falsi negativi alla valutazione TC sono solitamente correlati alla presenza di micrometastasi in linfonodi di dimensioni normali, mentre i falsi positivi sono spesso causati da processi broncopneumonici in corso o comunque recenti e/o da patologie linfonodali non neoplastiche (es. reazioni granulomatose simil-sarcoidee) [80, 81].

In aggiunta alla TC torace e addome con m.d.c, un processo di stadiazione adeguato dovrebbe prevedere sempre una TC o RM dell'encefalo, per escludere la presenza di localizzazioni di malattia in sede extratoracica. Più discussa è l'opportunità di includere fin dall'inizio dell'iter diagnostico l'esame TC dell'encefalo nei pazienti clinicamente asintomatici. Poiché i pazienti vivono più a lungo e dal momento che i trattamenti per le metastasi cerebrali sono diventati meno invasivi, l'utilità di identificare le metastasi cerebrali

in fase asintomatica è diventata sempre più importante e una risonanza magnetica (preferibilmente) o TC cerebrale con il contrasto endovenoso sono raccomandate per tutti i pazienti con tumore polmonare avanzato, anche in assenza di sintomi (secondo la pratica corrente nel nostro paese, l'esame è consigliato nelle istologie non-squamose, e/o nei casi in cui la stadiazione non evidenzia una malattia al primo stadio) [80, 81].

Nei casi in cui la TC non evidenzia la presenza di metastasi a distanza, la stadiazione con metodiche di imaging deve essere completata con un esame PET-TC. La tomografia ad emissione di positroni con 18-fluoro-desossiglucosio (18FDG) associata alla TC (PET-TC), ha assunto un ruolo significativo sia nell'iter diagnostico del nodulo polmonare solitario, che nella stadiazione pre-operatoria e post-trattamento del carcinoma polmonare. La PET-TC si è dimostrata utile nella caratterizzazione del nodulo polmonare solitario, in particolare per il suo elevato valore predittivo negativo, con l'eccezione di noduli di piccole dimensioni (< 1 cm) e con aspetto a "vetro smerigliato" [82-84]. La PET-TC rende inoltre possibile la localizzazione della captazione del glucosio radiomarcato, evidenziando eventuali disomogeneità nel contesto delle masse polmonari. Quest'aspetto consente di indirizzare la biopsia su aree sospette a livello del tessuto con elevato metabolismo glucidico, con una maggiore probabilità di pervenire ad un risultato diagnostico. La PET-TC con 18FDG permette poi una stadiazione più accurata del tumore polmonare rispetto alla TC, grazie soprattutto alla sua sensibilità decisamente maggiore nella identificazione di metastasi extratoraciche ed ossee [85-88]. La PET-TC è sicuramente utile nella stadiazione linfonodale mediastinica (parametro N), ma con alcune cautele [89].

Collateralmente, occorre verificare l'operabilità del paziente in rapporto alle sue condizioni mediche, in particolare alla funzionalità respiratoria, cardiovascolare e metabolica [72, 73]. Nel paziente in cui la presenza di adenopatie mediastiniche PET-TC positive non-bulky rappresenti l'unico ostacolo ad un trattamento chirurgico radicale "up-front", il coinvolgimento metastatico deve essere confermato con metodiche invasive (ecoendoscopia) in quanto la percentuale di falsi positivi non è trascurabile (fino al 20% dei casi) [89].

Le variabili da valutare nel sospetto di neoplasia includono: dimensioni della lesione, forma, densità e accrescimento nel tempo. Le dimensioni della neoformazione sono strettamente correlate al rischio di malignità, così come pure l'irregolarità del profilo. La densità della massa può essere omogenea o disomogenea e varia da lesioni solide a neoformazioni a

“vetro smerigliato”. L'accrescimento nel tempo, qualora dimostrato, si associa ad un alto rischio di neoplasia [89].

Tutti i pazienti con diagnosi patologica di NSCLC richiedono inoltre una serie di studi di imaging di base per determinare la fase clinica, così come emocromo e sostanze chimiche, inclusi calcio, funzionalità renale e funzionalità epatica su test [80, 81].

Indagini diagnostiche invasive

La scelta della procedura invasiva più appropriata per la tipizzazione istologica della malattia dipende da:

- Sede (centrale o periferica) del tumore primitivo.
- Pattern di crescita rispetto alle vie aeree (endobronchiale versus peribronchiale).
- Eventuale presenza di metastasi linfonodali mediastiniche e/o a distanza [90].

I tumori “centrali”, visibili endoscopicamente o localizzati nel 1/3 interno del polmone, vengono tipizzati nella maggioranza dei casi per **via broncoscopica**, con un rendimento diagnostico complessivo pari al 90% circa [90, 91]:

- Se la lesione ha estensione endotracheale/bronchiale, essa viene biopsiata mediante pinze flessibili standard o, in caso di superficie con aspetto estesamente necrotico, con aghi transbronchiali (**TBNA**), che consentano di prelevare materiale in profondità dalla lesione.
- Tumori “centrali” che non abbiano una estensione all'interno della via aerea (pattern peribronchiale/esofageo), ma che siano localizzati in prossimità di una via aerea di calibro medio-grande o dell'esofago, possono essere biopsiate in real-time per via ecoendoscopica transbronchiale (**EBUS**, endobronchial ultrasound) o trans-esofagea (**EUS**, endoscopic ultrasound) [92-94].

La gestione diagnostica delle lesioni periferiche, non visibili endoscopicamente per definizione, è sicuramente più complessa e variabile, nonostante la disponibilità attuale di metodiche molto sofisticate di guida al prelievo broncoscopico:

- La presenza del segno radiologico noto come “bronchus sign” (espressione di un bronco/bronchiolo, che termina all'interno della lesione periferica), le dimensioni > 2 cm, il pattern solido, sono tra i più importanti fattori predittivi positivi del successo dell'**approccio broncoscopico**; inoltre con un singolo esame è possibile ottenere anche informazioni stadiali, quali l'esclusione di lesioni centrali sincrone e la stadiazione linfonodale mediastinica, particolarmente importanti nel paziente potenzialmente operabile.

- L'approccio transtoracico percutaneo TC-guidato (**TTNA**), è sicuramente molto più efficace di quello endoscopico, a fronte di un rischio di pneumotorace più elevato, specie nelle lesioni molto periferiche, nelle lesioni < 2 cm, e nelle lesioni prevalentemente o esclusivamente a vetro smerigliato [91, 95, 96].
- Oltre alle informazioni stadiative nel paziente potenzialmente operabile, l'approccio **ecoendoscopico** è più vantaggioso nel paziente con malattia avanzata con lesione primitiva periferica, quindi meno facilmente raggiungibile in broncoscopia, e con un rischio di pneumotorace non trascurabile, quando biopsiata per via percutanea.

La presenza di adenopatie mediastiniche potenzialmente patologiche (dimensioni > 1 cm alla TC o PET-TC positive) offre un target molto vantaggioso per la tipizzazione di malattia in virtù dell'elevato successo diagnostico (> 90%) e del basso tasso di complicanze dell'ecoendoscopia (**EBUS** e/o **EUS**) in questo setting [89, 97].

Nel paziente con malattia avanzata, infine, l'esame TC e/o PET-TC consente di identificare talora sospette metastasi "superficiali" (es. lesioni di parete, linfonodi sovraclaveari, versamento pleurico), che possono essere campionate in modo efficace e sicuro in controllo ecografico esterno, oltre che in modo più semplice e meno invasivo per il paziente [98-100].

Videobroncoscopia flessibile

L'utilizzo di biopsie istologiche è preferito rispetto al brushing e al broncolavaggio. Per ottimizzare la resa diagnostica e consentire la tipizzazione istopatologica e genetica del tumore si dovrebbero ottenere almeno cinque biopsie endobronchiali/transbronchiali con la pinza. In alternativa, possono essere prese due criobiopsie durante broncoscopia flessibile. L'ecografia endobronchiale (EBUS) con aspirazione transbronchiale prevede l'utilizzo di un ago da 21–22 G. L'ecografia esofagea è in grado di raggiungere le stazioni linfonodali 8 e 9 e può anche accedere alla ghiandola surrenale sinistra, al lobo epatico sinistro e linfonodi del tronco celiaco. Si consigliano almeno quattro prelievi con ago aspirato a livello della lesione target, in modo da fornire sufficiente tessuto per la genotipizzazione [101].

Biopsia percutanea guidata dalla radiologia

La biopsia TC guidata è preferita rispetto all'aspirazione citologica quando possibile, in quanto consentendo di ottenere campioni multipli e più grandi con una singola puntura. Si raccomandano almeno due biopsie, usando un ago da 18–20 G. Per massimizzare il volume di tessuto per la tipizzazione istologica e genetica, potrebbero essere considerate 3-6 biopsie, purché si garantisca la sicurezza della procedura. La biopsia

percutanea può essere eseguita sul tumore primario o nel sito metastatico (pleurico, epatico, osseo, ghiandola surrenale, metastasi nodali periferiche, ecc.). Le complicanze più frequenti sono pneumotorace ed emorragia, sebbene questi di solito sono di scarsa preoccupazione. Embolia e disseminazione tumorale invece sono eventi estremamente rari [101].

Mediastinoscopia, mediastinotomia e chirurgia toracica video-assistita (VATS)

Nei pazienti in cui il sospetto clinico di coinvolgimento dei linfonodi mediastinici rimane elevato nonostante un risultato negativo con ago aspirato (FNA), si consiglia la stadiazione chirurgica con **mediastinoscopia, mediastinotomia** o chirurgia toracica video-assistita (**VATS**). Per i pazienti che presentano un tumore del lobo superiore sinistro in cui è indicata la stadiazione mediastinica invasiva, possono essere prese in considerazione la valutazione invasiva dei nodi della finestra aorto-polmonare tramite toracosopia video-assistita, una mediastinoscopia cervicale estesa o una procedura di Chamberlain (se altre stazioni linfonodali mediastiniche non sembrano essere coinvolte) [102].

Biopsia liquida

La biopsia liquida, una procedura minimamente invasiva che mira ad analizzare principalmente le cellule tumorali circolanti (CTC) e / o il DNA tumorale circolante (ctDNA) per diagnosticare e delineare il profilo tumorale, ha suscitato interesse tra oncologi e ricercatori di base. Sono stati sviluppati numerosi risultati nel campo della biopsia liquida, motivo per cui viene applicata maggiormente nella pratica clinica. Ancora più importante, oltre alla diagnosi di carcinoma polmonare, la biopsia liquida viene utilizzata per prevedere la prognosi in base alle alterazioni genetiche e monitorare la malattia sulla base di marcatori molecolari distintivi. Le cellule tumorali circolanti (CTC), il DNA tumorale circolante (ctDNA), gli esosomi e le piastrine che contengono RNA tumorale (TEP) possono essere rilevati dal sangue e utilizzati per la diagnosi, la previsione della prognosi e il monitoraggio della malattia dei pazienti con carcinoma polmonare.

È stata studiata l'associazione tra i livelli di CTC e la recidiva tumorale nei pazienti con carcinoma polmonare non trattati, tra cui adenocarcinoma, carcinoma a cellule squamose e SCLC: i pazienti con recidiva hanno mostrato livelli più elevati di CTC alla diagnosi. La ricomparsa in circolo di mutazioni specifiche del tumore, inclusi KRAS e P53, indica la recidiva del tumore nei pazienti con carcinoma polmonare. Questi dati evidenziano l'importanza dei valori di CTC per la previsione di recidiva. ctDNA può anche essere utilizzato per determinare le mutazioni nei pazienti con carcinoma polmonare. La mutazione T790M nel recettore di membrana EGFR indica resistenza terapeutica a gefitinib ed

erlotinib in circa il 50% dei pazienti con carcinoma polmonare. Ancora più importante, la mutazione T790M può essere osservata nel plasma di pazienti con recidiva, indicando la validità del monitoraggio mediante biopsia liquida delle resistenze alla terapia. La rilevazione di questa mutazione ha un significato clinico poiché i nuovi inibitori funzionano efficacemente quando la mutazione T790M è evidente. Ciò fa luce sul fatto che è possibile utilizzare la biopsia liquida per selezionare un regime di trattamento nei pazienti con carcinoma polmonare con determinate mutazioni [103].

Inoltre la valutazione dello stato mutazionale del gene EGFR su biopsia liquida è attualmente raccomandata come possibile alternativa all'analisi su tessuto tumorale nei pazienti con nuova diagnosi di NSCLC avanzato in cui la quantità e/o qualità del tessuto disponibile non siano sufficienti per effettuare le analisi molecolari previste. In caso di risultato negativo (assenza di mutazioni a carico degli esoni analizzati di EGFR), è indicato un ulteriore prelievo biotico per permettere la determinazione molecolare qualora clinicamente indicato [54, 55].

Stadiazione TNM

La stadiazione del carcinoma polmonare secondo il sistema TNM è un mezzo universalmente accettato per definire l'estensione anatomica della malattia neoplastica, ricorrendo alla valutazione di tre parametri quali l'estensione del tumore primario (fattore T), il coinvolgimento linfonodale (fattore N) e la presenza di eventuali metastasi a distanza (fattore M). Tale sistema classificativo è routinariamente applicato nella pratica clinica per stimare la prognosi e per definire la strategia di trattamento più adeguata nel singolo paziente, ed è stato aggiornato alla VIII edizione nel 2017 (Tabella 3) [13]. La combinazione dei punteggi T, N e M viene quindi utilizzata per posizionare una data lesione in una delle quattro stadi della malattia (I-IV), stratificando gli individui secondo la prognosi e le prospettive terapeutiche. Un'adeguata differenziazione tra i pazienti con malattia potenzialmente curabile e coloro che riceveranno terapie palliative è quindi della massima importanza [104].

Stadiazione del parametro T

La TC rimane la migliore tecnica nella misurazione clinica delle dimensioni del tumore. La dimensione del tumore è uno dei fattori prognostici più importanti nel carcinoma polmonare. Nell'ottava edizione della classificazione TNM, si è rivelato più rilevante rispetto alle precedenti edizioni, poiché può separare tumori con sopravvivenza significativamente diversa a intervalli di 1 cm, da meno di 1 cm a 5 cm nella dimensione maggiore. Nella

stadiazione clinica, la dimensione del tumore deve essere misurata con TC inspiratoria utilizzando la finestra polmonare e deve essere riportato il diametro più lungo in qualsiasi proiezione. In caso di noduli polmonari parzialmente solidi con opacità a vetro smerigliato, la dimensione della componente solida è quella da utilizzare per assegnare una categoria T clinica in base alla dimensione. Si raccomanda inoltre di registrare le dimensioni totali (componenti solida e a vetro smerigliato) per valutarne le implicazioni prognostiche, poiché la presenza di un componente a vetro smerigliato ha una prognosi favorevole.

In generale, la TC descrive l'invasione dei grandi vasi o delle strutture mediastiniche, ma solo utili altre tecniche in questi contesti specifici. L'ecografia transtoracica e la risonanza magnetica offrono risultati migliori rispetto alla TC nella valutazione dell'invasione pleurica parietale e della parete toracica. Per la stadiazione preoperatoria del tumore di Pancoast, la risonanza magnetica ha mostrato risultati migliori rispetto alla TC. L'ecografia transtoracica, la risonanza magnetica e la PET-CT potrebbero essere di valore aggiunto nella differenziazione tra carcinoma polmonare e atelettasia ostruttiva [105].

Stadiazione del parametro N

La presenza di coinvolgimento linfonodale nel cancro ai polmoni è di grande importanza, in particolare in pazienti con malattia mediastinica ma non ovvia malattia extratoracica, per i quali lo stadio N ha fondamentali implicazioni terapeutiche e prognostiche [104].

Negli anni '80 è stato introdotto l'uso dell'agoaspirazione/agobiopsia transbronchiale (TBNA) quale metodica in grado di campionare materiale cito-istologico dai linfonodi ilo-mediastinici adesi alle vie aeree. Le stazioni linfonodali che possono essere approcciate con TBNA sono le paratracheali basse (4R, 4L), sottocarenali (7), le stazioni 10 (R e L) e 11 (R e L) (ilari). Tale tecnica si è dimostrata in grado di fornire un'elevatissima specificità ed una buona sensibilità. La sensibilità varia in rapporto a diversi fattori quali: le dimensioni del linfonodo (bassa per linfonodi ≤ 1 cm), la stazione linfonodale coinvolta (la sensibilità è maggiore per 4R e 7) e l'esperienza dell'operatore. L'ecoendoscopia bronchiale (Endo-Bronchial Ultra Sound, EBUS) permette di identificare il bersaglio e di osservare in tempo reale la penetrazione dell'ago, il che permette di raggiungere una sensibilità $>90\%$, anche per linfonodi di piccole dimensioni. L'EBUS-TBNA non è in grado di campionare linfonodi non adiacenti alle vie aeree (es. stazioni 8 e 9). L'approccio transesofageo (Endoscopic Ultra Sound, EUS) consente di campionare linfonodi delle stazioni mediastiniche sinistre (2L e 4L), sottocarenali (7), periesofagee e del legamento polmonare (8 e 9) [98, 99].

Secondo le attuali linee guida dell'ACCP, National Comprehensive Cancer Network, European Respiratory Society, ed European Society of Thoracic Surgeons, l'EBUS è indicata in tutti i tumori centrali, nei tumori periferici >3 cm, nei linfonodi >1 cm alla TC, nel

coinvolgimento N1 alla PET, e la positività PET (SUV >2) anche in linfonodi <1 cm. La mediastinoscopia consente invece di valutare il coinvolgimento linfonodale in sede paratracheale, pretracheale e precarenale. Prevede una anestesia generale ed una breve ospedalizzazione. Negli ultimi anni, il numero di mediastinoscopie stadiative è stato ridotto dall' avvento dell'EBUS-TBNA. La mediastinoscopia trova indicazione nei casi di sospetto coinvolgimento linfonodale N2-N3 dopo procedimento endoscopico transbronchiale o transesofageo non diagnostico [89, 106]. La videotoracosopia (VATS) diagnostica consente infine di eseguire biopsie in alcune stazioni linfonodali non accessibili e di effettuare biopsie pleuriche nel sospetto di lesioni metastatiche. Nella stadiazione dei linfonodi mediastinici para-aortici e prevascolari attualmente la VATS è preferibile alla mediastinotomia anteriore [100].

Stadiazione del parametro M

L'identificazione delle metastasi a distanza è importante in quanto ha implicazioni fondamentali per la gestione e la prognosi del carcinoma polmonare, in quanto alla diagnosi è presente una malattia metastatica circa nella metà dei casi. Inoltre circa il 20% dei pazienti che hanno ricevuto terapia radicale e presumibilmente curativa può manifestare recidive a causa di focolai di metastasi non rilevati alla stadiazione M [104].

Le metastasi del tumore polmonare possono essere intra o extra-toraciche e possono essere identificate alla TC. L'ottava edizione della classificazione TNM fornisce raccomandazioni su come differenziare i noduli tumorali singoli dagli adenocarcinomi multifocali nella stadiazione clinica e patologica. La TC può identificare le metastasi pleuriche come noduli pleurici e la PET-TC può mostrare un assorbimento pleurico di fluorodesossiglucosio (FDG) [105]. La TC con mezzo di contrasto è l'esame di scelta per la stadiazione, poiché rispetto ad altri esami radiologici è in grado di fornire informazioni adeguate per la definizione iniziale dei parametri T, N e, per alcune sedi, M (con eventuali esami complementari). Nei casi in cui la TC non evidenzia la presenza di metastasi a distanza, la stadiazione con metodiche di imaging deve essere completata con un esame PET-TC [72, 73]. Le metastasi extratoraciche possono essere rappresentate facilmente alla PET-TC. Uno dei contributi importanti di questa metodica per la stadiazione del carcinoma polmonare è la rilevazione di metastasi non riconosciute e la stadiazione dei tumori. Le metastasi surrenali per esempio possono essere rappresentate correttamente e non sono necessarie altre tecniche. In una revisione sistematica e una meta-analisi dei dati pubblicati, la sola PET ha mostrato una sensibilità di 0,97 e una specificità di 0,91, con un tasso di falsi positivi del 9,7%, a causa di alcune lesioni surrenali benigne che hanno mostrato un lieve assorbimento di FDG. Pertanto, le lesioni surrenaliche isolate positive devono essere

confermate al fine di evitare di dichiarare un paziente inoperabile su una base di falsi positivi. La stadiazione cerebrale è raccomandata in tutti i pazienti con opzioni terapeutiche curative. La risonanza magnetica mostra risultati migliori rispetto alla TC nella diagnosi delle metastasi cerebrali. DEUSCHL et al. hanno valutato l'utilizzo della PET-MRI nella stadiazione del carcinoma polmonare, concludendo che questa non mostra alcun miglioramento nella stadiazione cerebrale di questi pazienti, poiché la sola RM rimane il gold standard. Le metastasi ossee possono essere rilevate con PET-TC, PET-MRI e con la sequenza di diffusione in MRI. A livello globale, la PET-TC è lo strumento migliore nella stadiazione iniziale del carcinoma polmonare [105].

Tabella 3 - Classificazione TNM 8° edizione

TNM VIII Edizione (Classificazione clinica)	
T – tumore primitivo	
T	Tumore primitivo
TX	Il tumore primitivo non può essere definito, oppure ne è provata l'esistenza per la presenza di cellule tumorali nell'escreato o nel liquido di lavaggio bronchiale, ma non è visualizzato con le tecniche per immagini o con la broncoscopia
T0	Assenza di evidenza del tumore primitivo
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumore di 3 cm o meno nella sua dimensione massima, circondato da polmone o da pleura viscerale, e alla broncoscopia non si rilevano segni di invasione più prossimale del bronco lobare (bronco principale non interessato da malattia)
T1a(mi)	Adenocarcinoma minimamente invasivo
T1a	Tumore non superiore a 1 cm nella dimensione maggiore
T1b	Tumore superiore a 1 cm ma non superiore a 2 cm nella dimensione maggiore
T1c	Tumore superiore a 2 cm ma non superiore a 3 cm nella dimensione maggiore
T2	Tumore superiore a 3 centimetri ma non superiore a 5 cm, o tumore con una qualunque delle seguenti caratteristiche:
	• Interessamento del bronco principale indipendentemente dalla distanza dalla carena ma senza coinvolgimento della carena
	• Invasione della pleura viscerale
	• Associazione ad atelettasia o polmonite ostruttiva che si estende alla regione ilare, che coinvolge in parte o tutto il polmone
T2a	Tumore superiore a 3 cm ma non superiore a 4 cm nel diametro maggiore
T2b	Tumore superiore a 4 cm ma non superiore a 5 cm nel diametro maggiore
T3	Tumore superiore a 5 cm ma non superiore a 7 cm nel diametro maggiore o associato a nodule(i) neoplastici separati nello stesso lobo del tumore primitivo o che invade direttamente una delle seguenti strutture: parete toracica (inclusa la pleura parietale ed i tumori del solco superiore), nervo frenico, pericardio parietale
T4	Tumore superiore a 7 cm nel diametro maggiore o associato a nodule(i) separato(i) in un lobo ipsilaterale, ma differente rispetto al lobo del tumore primitivo o che invade direttamente una delle seguenti strutture: diaframma, mediastino, cuore, grandi vasi, trachea, nervo laringeo ricorrente, esofago, corpo vertebrale, carena

TNM VIII Edizione (Classificazione clinica)	
N – linfonodi loco-regionali	
NX	I linfonodi regionali non possono essere valutati
N0	Assenza di metastasi nei linfonodi regionali
N1	Metastasi nei linfonodi peribronchiali e/o ilari ipsilaterali e intrapolmonari, incluso il coinvolgimento per estensione diretta
N2	Metastasi nei linfonodi mediastinici e/o sottocarenali ipsilaterali
N3	Metastasi nei linfonodi mediastinici controlaterali, ilari controlaterali, scaleni ipsi- o contro-laterali, sovraclaveari
M – metastasi a distanza	
M0	Assenza di metastasi a distanza
M1a	Noduli tumorali in un lobo controlaterale rispetto al tumore primitivo; tumore con noduli pleurici o versamento neoplastico pleurico o pericardico
M1b	Singola metastasi extratoracica
M1c	Multiple metastasi extratoraciche in uno o più organi

Raggruppamento in stadi VIII Edizione			
Stadio	T	N	M
Stadio IA1	T1a(mi)	N0	M0
	T1a	N0	M0
Stadio IA2	T1b	N0	M0
Stadio IA3	T1c	N0	M0
Stadio IB			
Stadio IIA	T2b	N0	M0
Stadio IIB	T1a, b, c	N1	M0
	T2a, b	N1	M0
	T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadio IIIA	T1a, b, c	N2	M0
	T2a, b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N1	M0
Stadio IIIB	T1a, b, c	N3	M0
	T2a, b	N3	M0
	T3	N2	M0
	T4	N2	M0
Stadio IIIC	T3	N3	M0
	T4	N3	M0
Stadio IVA	Qualunque T	Qualunque N	M1a
	Qualunque T	Qualunque N	M1b
Stadio IVB	Qualunque T	Qualunque N	M1c

TERAPIA DEL NSCLC

Strategia generale

Il trattamento del cancro del polmone e la sua prognosi conseguente sono condizionati primariamente dal sottotipo istologico e dall'estensione della malattia. Fattori aggiuntivi che possono influenzare la strategia terapeutica includono età, comorbidità e condizioni generali del paziente (performance status).

Indipendentemente dall'istotipo, per i tumori polmonari che, dopo stadiazione accurata, risultano ancora localizzati al torace, con o senza metastasi ai linfonodi regionali (stadio I-II), una terapia locoregionale mediante chirurgia radicale rimane il trattamento di scelta essendo in grado di offrire la maggiore probabilità di guarigione. Attualmente il contributo della **chirurgia** al trattamento dei pazienti con tumore del polmone è molteplice: è ancora considerata l'opzione terapeutica più efficace per il controllo del tumore primitivo e svolge un ruolo fondamentale nella diagnosi e stadiazione della malattia.

- Nei pazienti con una scarsa riserva polmonare, viene occasionalmente proposta una resezione sublobare (wedge o segmentectomia), ma con i miglioramenti della radioterapia stereotassica e l'introduzione dell'ablazione a radiofrequenza ai pazienti può essere offerta una più ampia gamma di proposte terapeutiche.

In presenza di controindicazioni alla chirurgia e/o di istologia a piccole cellule, la **radioterapia conformazionale** può sostituire la chirurgia con risultati a lungo termine che si avvicinano a quelli della chirurgia nelle forme più localizzate. Il successo del trattamento radiante in generale è estremamente correlato alla dose erogata al volume bersaglio, dal momento che sono necessarie dosi superiori a 70 Gy (80-100 Gy in caso di tumori voluminosi) per ottenere la guarigione. L'aumento della dose erogata (dose escalation) da un lato incrementa la percentuale di controllo locoregionale, dall'altro aumenta la tossicità degli organi sani limitrofi (tessuto polmonare indenne, cuore, esofago e midollo spinale). Attualmente nell'irradiazione delle neoplasie polmonari la tecnica radiante standard è rappresentata dalla radioterapia 3D conformazionale. È una tecnica basata sulla definizione volumetrica, tridimensionale (immagini TC) del bersaglio tumorale e degli organi a rischio (OAR).

I tumori in stadio localizzato con metastasi ai linfonodi regionali (stadio II-III) presentano un rischio elevato di recidiva locale e di metastasi a distanza e richiedono, in aggiunta al trattamento locoregionale, un **trattamento sistemico chemioterapico** complementare, adiuvante o neoadiuvante, utile nel ridurre il tasso di recidive. Per i tumori avanzati con esteso interessamento del mediastino, è indicato un trattamento integrato

chemioradioterapico che, sebbene in una percentuale molto limitata di pazienti, ha ancora la potenzialità di determinare la guarigione della malattia. Il trattamento medico del NSCLC trova indicazione con intento adiuvante dopo la chirurgica, allo scopo di agire sulla malattia micrometastatica qualora sia presente; con lo stesso intento, ed eventualmente in alcuni casi anche con l'obiettivo di ridurre la neoplasia, può trovare spazio a intento neoadiuvante prima della chirurgia. La chemioterapia è associata alla radioterapia, in maniera concomitante o sequenziale, nel caso di malattia localmente avanzata non operabile. In presenza di malattia metastatica, la situazione più frequente con cui si presenta la malattia, invece, il tumore del polmone non ha prospettive di guarigione e costituisce un'indicazione a un trattamento esclusivamente di tipo sistemico. Fanno eccezione alcuni rari casi di metastasi sincrone o metacrone in sedi particolari, come l'encefalo, il surrene o il polmone controlaterale, ove l'exeresi chirurgica in aggiunta alla terapia sistemica è ancora compatibile, in un numero limitato di pazienti, con la possibilità di guarigione definitiva.

Per tutti gli altri casi di malattia metastatica, la terapia sistemica ha finalità solamente **palliativa** (miglioramento della qualità e della quantità della vita) e viene determinata in base all'istotipo e al profilo molecolare della neoplasia e a condizioni generali (PS), comorbidità ed età del paziente.

I farmaci possibili da utilizzare sono diversi:

- Chemioterapia: la doppietta a base di platino ha rappresentato il cardine della terapia del tumore polmonare, molti farmaci altri farmaci come i taxani, pemetrexed, gemcitabina e vinorelbina sono utilizzati nella pratica clinica anche in linee successive.
- Antiangiogenetici: Bevacizumab e nintedanib in combinazione alla chemioterapia trovano indicazione in casi selezionati di pazienti ad istologia non squamosa.
- TKI anti-EGFR: Gefitinib, Erlotinib, Afatinib, Osimertinib. Trovano indicazione in pazienti che presentano mutazione EGFR.
- Inibitori della EML4-ALK: crizotinib, alectinib, ceritinib, lorlatinib. Utilizzato nei pazienti portatori di riarrangiamento di ALK e traslocazione di ROS-1.
- Immunoterapia: nivolumab, pembrolizumab (attualmente nei pazienti PD-L1 positivi), atezolizumab attualmente trovano indicazione nella malattia avanzata in monoterapia. Il durvalumab a mantenimento dopo chemioradioterapia concomitante nei pazienti in stadio III che rispondono al trattamento [107].

Trattamento della malattia iniziale

Terapia chirurgica

La chirurgia con intento radicale è il trattamento di scelta in grado di ottenere una guarigione completa o di migliorare significativamente la prognosi dei pazienti con malattia in stadio precoce. Una resezione non radicale si associa ad una sopravvivenza sovrapponibile a quella dei pazienti non operati. La chirurgia non è proponibile a pazienti che, pur con una lesione polmonare limitata, presentino segni di malattia avanzata.

Tale approccio, al fine di garantire al paziente il migliore livello di cura, deve essere eseguito in centri di chirurgia toracica con elevata esperienza, ampio volume e varietà di casistica: secondo le linee guida europee l'attività di una chirurgia toracica dovrebbe comprendere un numero di procedure chirurgiche superiore a 150 ± 50 interventi/anno. Nel NSCLC in stadio I, II, ed in alcuni pazienti selezionati in stadio IIIA/IIIB (T1-T3, N2 singola stazione, non-bulky, valutati nell'ambito di gruppi multidisciplinari) la terapia chirurgica va proposta ed è da eseguirsi esclusivamente presso strutture con elevato volume di attività, da parte di personale specializzato con adeguata esperienza.

I criteri di operabilità comprendono:

- Operabilità biologica (prospettiva di radicalità in relazione allo stadio);
- Operabilità anatomica (il minor volume di resezione possibile, atto ad ottenere la radicalità);
- Operabilità funzionale (capacità respiratoria predetta dopo intervento radicale, che garantisca una sufficiente funzionalità respiratoria).

Viene pertanto definito:

- Operabile: un individuo affetto da una malattia resecabile e presumibilmente in grado di tollerare il trauma chirurgico necessario;
- Resecabile: una malattia che può essere completamente asportata mediante un intervento chirurgico;
- Curativo: un intervento potenzialmente in grado di guarire la malattia.

Andrebbero eseguiti solo gli interventi resettivi con intento curativo, ovvero caratterizzati da:

- Exeresi del tumore con margine di tessuto sano circostante, accertato istologicamente;
- Assenza di residui neoplastici sulla rima di sezione;
- Asportazione delle stazioni linfatiche loco-regionali.

Le più frequenti complicazioni perioperatorie sono: fibrillazione atriale e altre aritmie, atelettasia, infezioni polmonari, perdite aeree prolungate, ARDS, insufficienza respiratoria, fistola bronchiale, empiema, embolia polmonare. La mortalità post-operatoria per lobectomia si attesta fra il 2 e il 5%; il tasso di mortalità è maggiore per la pneumonectomia [108-111].

Operabilità funzionale

I candidati ad interventi di exeresi polmonare devono essere sempre valutati dal punto di vista cardiorespiratorio, per escludere coloro che presentino un rischio operatorio eccessivo, o che prevedibilmente non saranno autonomi dal punto di vista respiratorio nel periodo postoperatorio. Deve essere valutata la funzionalità respiratoria residua in relazione all'intervento con: spirometria; test di diffusione del CO; emogasanalisi; test ergometrici; scintigrafia polmonare di perfusione (figure 12 e 13) [112, 113].

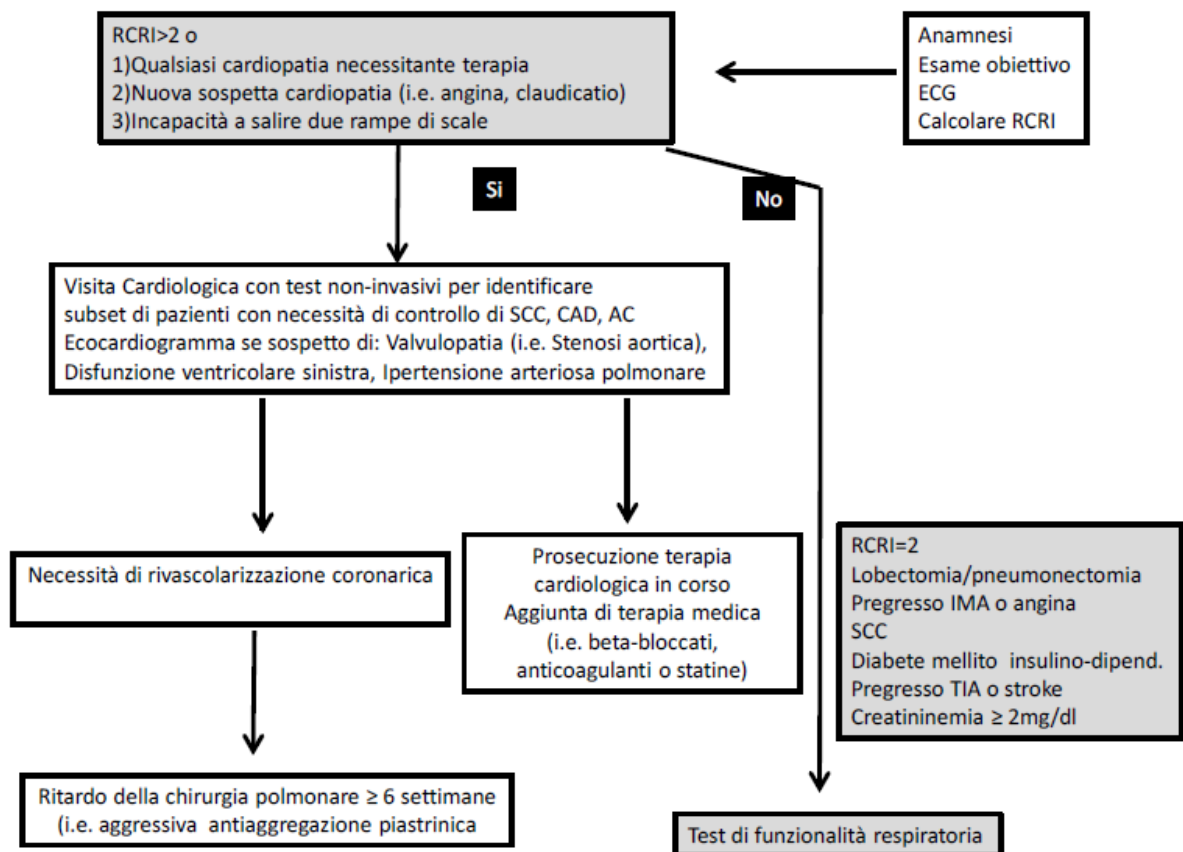


Figura 12 - Algoritmo per la valutazione cardiologica in pazienti candidati a resezione polmonare per tumore del polmone.

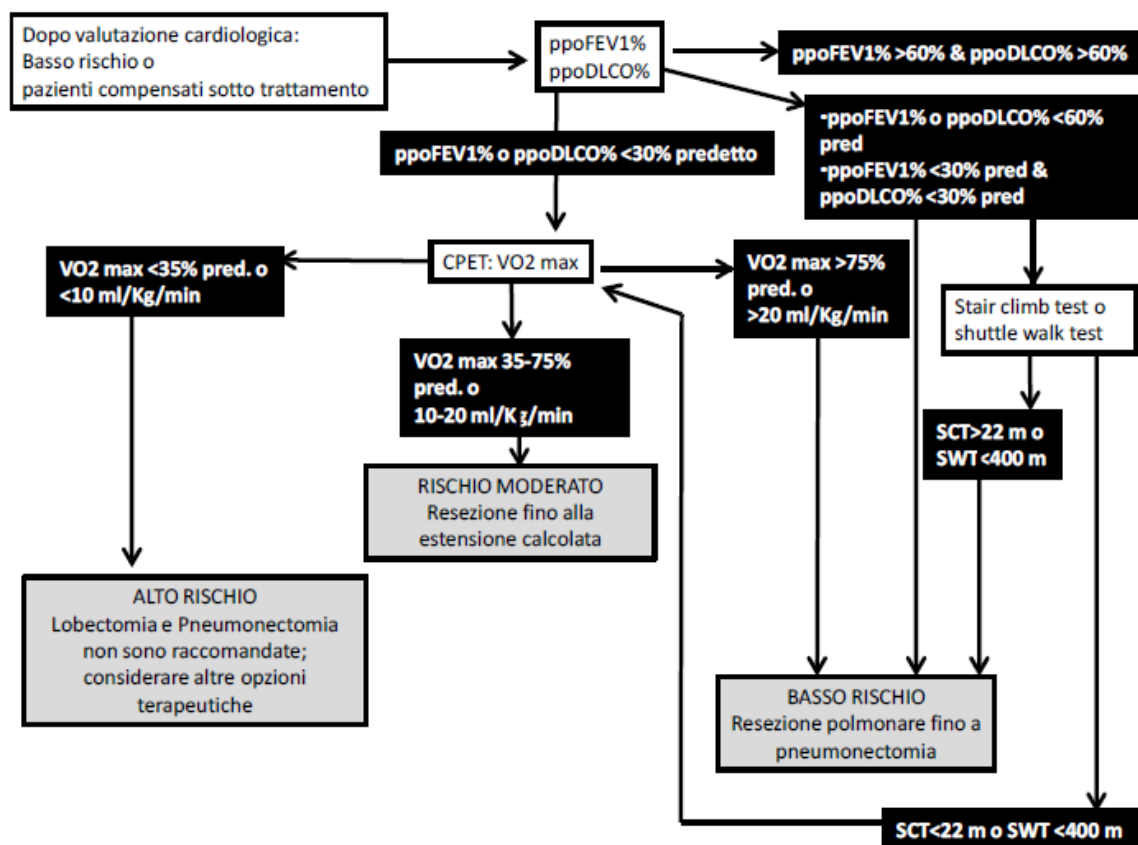


Figura 13 - Algoritmo per la valutazione della riserva cardiopolmonare in pazienti candidati a resezione polmonare per tumore del polmone.

Opzioni chirurgiche

Un'accurata valutazione multidisciplinare rappresenta il corretto iter per qualsiasi paziente affetto da NSCLC in stadio precoce. Negli stadi clinici I e II, la resezione chirurgica è il trattamento elettivo. Esistono diverse opzioni a disposizione tenendo presente che le resezioni anatomiche sono preferibili alle wedge resection; il tipo di exeresi dipende dalle localizzazioni e dalle caratteristiche del tumore primitivo:

- Lobectomia associata a linfadenectomia ilo-mediastinica: rappresenta l'approccio chirurgico standard nel tumore del polmone.
- Lobectomie con procedimenti ricostruttivi mediante broncoplastica (sleeve lobectomy) o plastica dell'arteria polmonare sono indicate in casi selezionati e possono evitare efficacemente la pneumonectomia.
- Segmentectomia anatomica è accettabile unicamente per pazienti con lesioni non solide a "vetro smerigliato" (Ground Glass Opacities: GGO) o per stadi molto precoci (Tis o T1a). Infatti, le lesioni che si presentano alla TAC come GGO spesso configurano la presenza di un adenocarcinoma in situ o minimamente invasivo.

- Nei casi in cui non sia possibile effettuare la lobectomia della lesione o in presenza di un significativo sconfinamento trans-scissurale, è indicata la pneumonectomia, sempre se fattibile da un punto di vista funzionale.
- Nei pazienti con importante deficit funzionale e lesione favorevole per dimensioni, stadio e topografia, è possibile eseguire una resezione sublobare anatomica (segmentectomia tipica) associata comunque a linfadenectomia ilo-mediastinica o almeno a sampling sistematico linfonodale [114, 115].

Dal punto di vista tecnico sono state sviluppate procedure e tecnologie che hanno reso la chirurgia mininvasiva (video-torascopica o robotica) applicabile alle resezioni polmonari maggiori [116, 117]. L'impiego della lobectomia in videotorascopia (VATS) è una valida alternativa al tradizionale approccio toracotomico. Fra i vantaggi dell'approccio robotico: la visualizzazione tridimensionale, gli strumenti articolabili e la facilità ergonomica ma soprattutto ottimi risultati sia per morbidità, che per mortalità postoperatoria. Svantaggi sono: tempi di preparazione più lunghi, maggiori costi, assenza di risposte tattili e necessità di attrezzature dedicate e formazione del personale. Nei pazienti con NSCLC in stadio clinico I un approccio minimamente invasivo, come la VATS o la chirurgia robotica, può essere preso in considerazione come approccio terapeutico di prima intenzione rispetto alla toracotomia per la lobectomia/segmentectomia [118].

Wedge resection: una resezione a cuneo è una procedura che prevede la rimozione chirurgica di un piccolo pezzo di tessuto polmonare a forma di cuneo per rimuovere un piccolo tumore o diagnosticare il cancro del polmone.

Una resezione a cuneo è anche preferita per i pazienti che non possono tollerare la rimozione di una sezione polmonare di grandi dimensioni quando si può verificare una riduzione significativa della funzionalità polmonare (figura 14) [119].

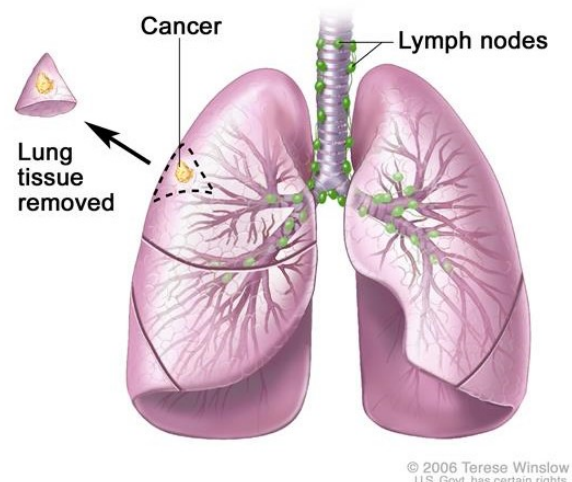


Figura 14 - Wedge resection

Segmentectomy

Nella chirurgia del cancro del polmone, la segmentectomia si riferisce alla rimozione di una sezione di un lobo del polmone. È chiamata anche resezione segmentaria [119].

Lobectomy

Intervento chirurgico per rimuovere un lobo intero del polmone (figura 15) [119].

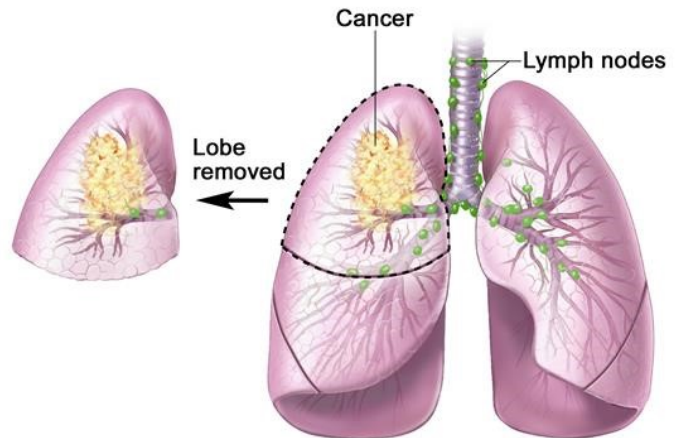


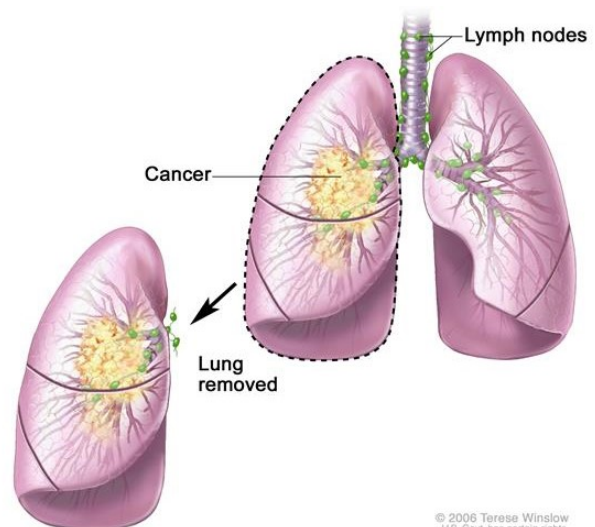
Figura 15 - Lobectomy

Sleeve resection

Intervento chirurgico per rimuovere un tumore polmonare in un lobo del polmone e una parte del bronco principale. Le estremità del bronco si ricongiungono e tutti i lobi rimanenti vengono riattaccati al bronco. Questo intervento viene eseguito per salvare parte del polmone [119].

Pneumectomy

Chirurgia per rimuovere tutto il polmone. In una pneumonectomia parziale, uno o più lobi di un polmone vengono rimossi (figura 16) [119].



© 2006 Terese Winslow
U.S. Govt. has certain rights

Figura 16 - Pneumectomy

Pazienti non operabili

Nei pazienti non operabili per la presenza di comorbidità clinicamente significative, controindicazioni mediche, o che rifiutano la chirurgia, e in particolare nei pazienti anziani, una valida alternativa alla chirurgia è rappresentata dalla radioterapia. In particolare, la radioterapia stereotassica (SBRT, Stereotactic Body Radiation Therapy, o SABR, Stereotactic Ablative Radiotherapy) consente di ottenere risultati migliori rispetto alla radioterapia convenzionale. La SBRT si caratterizza per la somministrazione di dosi biologicamente molto elevate in una o poche frazioni, mediante tecniche ad alto gradiente di dose ed è in grado di ottenere percentuali di controllo di malattia elevate, in assenza di tossicità importanti.

Già da oltre un decennio, l'introduzione di questa tecnica è stata associata alla riduzione della percentuale di pazienti, anziani in genere, non sottoposti a nessun trattamento oncologico attivo, perché non idonei dal punto di vista internistico. A questo dato si associano un aumento assoluto del 16% nell'uso della radioterapia ed il miglioramento della sopravvivenza correlato alla sempre maggior diffusione delle tecniche stereotassiche [119]. In merito al paziente operabile con malattia in stadio precoce e rischio chirurgico inferiore all'1.5%, il trattamento chirurgico resta lo standard terapeutico. In assenza di lavori che abbiano terminato l'arruolamento previsto, l'impiego della stereotassia non è raccomandabile al di fuori di uno studio clinico [120].

Trattamento adiuvante

La prognosi degli stadi iniziali del NSCLC, dopo resezione chirurgica radicale, è da correlarsi con la stadiazione patologica di malattia essendo le dimensioni del tumore ed il coinvolgimento dei linfonodi regionali ilari e mediastinici le variabili prognostiche più significative. Infatti, secondo l'ottava edizione del sistema di stadiazione TNM, la probabilità di sopravvivenza a 5 anni passa dal 90% circa per i pazienti in stadio patologico IA a circa il 60% per quelli in stadio II. La diffusione metastatica a distanza rappresenta la principale causa di morte in questi pazienti, mentre la probabilità di recidiva locale interessa circa 1/3 dei pazienti radicalmente operati [121].

Chemioterapia adiuvante

Nei pazienti affetti da NSCLC radicalmente operato allo stadio I la chemioterapia adiuvante non dovrebbe essere presa in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione. Secondo le principali linee guida internazionali una chemioterapia adiuvante con regimi a base di cisplatino dovrebbe essere presa in considerazione come opzione terapeutica di prima scelta nei pazienti affetti da NSCLC radicalmente operato in stadio II-

IIIA e ben selezionati (buon performance status, senza patologie concomitanti maggiori, con una buona e rapida ripresa post-operatoria). Come prima scelta inoltre potrebbe essere presa in considerazione una chemioterapia adiuvante con cisplatino e vinorelbina, tuttavia, se motivi correlati al paziente o alla struttura precludono l'uso di questa combinazione, qualsiasi regime a base di cisplatino con cui il medico abbia familiarità può essere utilizzabile [122, 123]. Inoltre in considerazione dei risultati di alcuni studi, le problematiche di conduzione degli stessi, nonché l'assenza di confronti diretti fra regimi di chemioterapia adiuvante a base di carboplatino versus cisplatino, ad oggi, l'impiego del carboplatino nell'ambito di regimi di chemioterapia adiuvante non è consigliato [124-127]. Per i pazienti il cui recupero dall'intervento sia particolarmente lento, è stato evidenziato che ritardare la somministrazione della chemioterapia adiuvante fino a 4 mesi dopo la chirurgia non ne inficia il potenziale vantaggio [128].

Il ruolo della chemioterapia adiuvante nei pazienti anziani resta da definirsi, anche se in casi ben selezionati tale approccio non dovrebbe essere precluso. I dati nella popolazione ≥ 75 anni sono decisamente esigui, essendo pochi i pazienti con età ≥ 70 anni inseriti negli studi clinici; per tale motivo la scelta di effettuare il trattamento in questa fascia di età deve sempre essere presa con estrema cautela [129, 130].

Diversi studi hanno valutato la possibilità di utilizzare farmaci biologici come terapia adiuvante. Complessivamente, i risultati di questi studi suggeriscono che, anche negli stadi precoci, il trattamento adiuvante con farmaci inibitori tirosino-chinasici di EGFR potrebbe essere efficace esclusivamente in quei pazienti il cui tumore esprime una mutazione attivante il gene EGFR. Tuttavia, in mancanza di dati di efficacia in termini di sopravvivenza globale, allo stato attuale, i farmaci a bersaglio molecolare non possono essere raccomandati nel trattamento adiuvante del NSCLC al di fuori degli studi clinici [131, 132].

Radioterapia adiuvante

I dati ad oggi disponibili per valutare il ruolo della radioterapia adiuvante negli stadi I-II radicalmente operati provengono da metanalisi costantemente aggiornate, di cui la prima veniva pubblicata nel 1998 e la più recente nel 2016. Gli studi eleggibili includevano pazienti radicalmente operati per NSCLC in stadio patologico I-III (compresi quindi pazienti pN2) sottoposti o meno a radioterapia adiuvante.

I risultati hanno confermato i dati delle metanalisi precedenti, riportando un peggioramento della sopravvivenza nei pazienti trattati con radioterapia adiuvante, con un HR di 1.18 (95% CI 1.07 to 1.31), ovvero un aumento del rischio di morte pari al 18%.

Il dato che sorprende maggiormente riguarda la sopravvivenza libera da recidiva loco-regionale. Come gli Autori stessi suggeriscono, il numero di recidive loco-regionali è minore

nei pazienti trattati con radioterapia post-operatoria (PORT). Tuttavia, essendo l'evento morte quello che maggiormente rappresenta gli eventi osservati, i risultati finali sono in gran parte attribuibili alla sopravvivenza. Ciò suggerisce che la radioterapia riduce gli eventi di recidiva e che l'aumento del rischio di morte potrebbe essere attribuibile ad altri meccanismi. Allo stato attuale delle conoscenze, il trattamento radioterapico adiuvante negli stadi I-II radicalmente operati non può essere raccomandato [134].

Trattamento neoadiuvante

Ad oggi la chemioterapia neoadiuvante nello stadio IIIA N0-1, pur riportando un vantaggio sovrapponibile a quello della chemioterapia adiuvante in termini di sopravvivenza globale e di sopravvivenza libera da recidiva, non è raccomandata nella pratica clinica, per cui la terapia di prima istanza è quella chirurgica seguita, in pazienti ben selezionati, da chemioterapia adiuvante con schemi a base di cisplatino.

La prognosi e l'approccio terapeutico dei pazienti affetti da NSCLC allo stadio IIIN2 varia significativamente a seconda dell'entità dell'interessamento linfonodale mediastinico. Questo sottolinea come l'approccio terapeutico di questo stadio di malattia debba essere condiviso nell'equipe multidisciplinare fra chirurgo, oncologo, radioterapista, nonché definito caso per caso. Van Meerbeeck et al. hanno pubblicato nel 2007 i risultati di uno studio di fase III in cui 332 pazienti in stadio IIIN2 non resecabile hanno ricevuto una chemioterapia neoadiuvante a base di platino e successivamente randomizzati a ricevere chirurgia o radioterapia. Non sono state osservate differenze significative in sopravvivenza tra i due bracci. Tuttavia, nel braccio della chirurgia è emerso che i pazienti sottoposti a pneumonectomia hanno avuto una sopravvivenza significativamente peggiore rispetto ai pazienti sottoposti a una chirurgia minore (lobectomia) [135].

Nei pazienti affetti da NSCLC allo stadio N2 per singola stazione mediastinica, un trattamento neoadiuvante con doppiette a base di platino seguito da chirurgia, nei pazienti in risposta, può essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione. Il trattamento chirurgico non dovrebbe includere la pneumonectomia ma una lobectomia. Se non fosse possibile una lobectomia, alla chemioterapia potrebbe essere opportuno far seguire una radioterapia a scopo curativo.

Nell'N2 potenzialmente resecabile con interessamento linfonodale di multipli livelli, un trattamento combinato di chemio-radioterapia a dosi radicali dovrebbe essere considerato come opzione terapeutica di prima intenzione. Un trattamento multimodale che preveda un ruolo per la chemioterapia neoadiuvante in questi casi deve essere sempre valutato all'interno di un team multidisciplinare esperto [136].

Follow-up dopo terapia primaria

La sopravvivenza globale a 5 anni dopo chirurgia radicale nello stadio I patologico è del 60-80%, nello stadio II del 40-60%, mentre nello stadio III è del 20-40% [137]. Il pattern di ricaduta si diversifica a seconda del tempo, con ricadute locali nei primi due anni e con un tasso di ricadute a distanza che aumenta dopo il terzo anno dalla fine del trattamento primario [138]. La maggior parte delle morti nei primi anni dopo il trattamento primario è dovuta a ripresa di malattia; successivamente diventano prevalenti, come causa di morte, la BPCO e le sue complicanze, le patologie cardiovascolari e i secondi tumori. Un tempestivo riconoscimento dei sintomi d'allarme è importante per l'avvio di un iter diagnostico e di un trattamento mirato alla preservazione o al miglioramento della qualità di vita. Il paziente dovrebbe essere istruito a rivolgersi al medico in caso di sintomi d'allarme. Nel paziente asintomatico si ritiene consigliabile una visita medica ogni 3-6 mesi nei primi due anni e in seguito ogni anno [139, 140].

La sorveglianza con TC del torace con mdc dopo trattamento curativo è utile solo se l'individuazione di una recidiva locale o metastatica o di un tumore primitivo metacrono sia suscettibile di trattamento attivo. In caso di controindicazioni o nei pazienti unfit/anziani o non suscettibili a successivi trattamenti attivi, tale esame può essere sostituito con una TC torace senza mdc o con una semplice radiografia del torace. La frequenza suggerita dell'imaging è semestrale nei primi due anni e annuale successivamente. Dopo i primi due anni la TC può essere eseguita senza mezzo di contrasto. Vi sono popolazioni di pazienti selezionate per le quali una sorveglianza broncoscopica potrebbe essere utile, sebbene non siano disponibili dati relativi al vantaggio in sopravvivenza: i pazienti con neoplasie centrali, visibili alla broncoscopia diagnostica, i pazienti con alto rischio di recidiva del moncone (margini chirurgici < 1 cm) e i pazienti con sedi bronchiali di displasia o carcinoma in situ [141-143].

Dopo il termine del trattamento primario, specie se questo include la radioterapia e/o la chemioterapia, si raccomanda uno stretto controllo clinico del paziente fino alla remissione delle tossicità acute. Alcune linee guida suggeriscono l'esecuzione di una spirometria completa con la valutazione della diffusione del CO a distanza di 4-8 settimane dal termine del trattamento primario. I pazienti trattati con radioterapia come parte della strategia terapeutica hanno una incidenza di tossicità tardive dell'ordine del 25-40%. Nella maggior parte dei casi, i reperti sono prevalentemente radiologici, in termini di vari quadri di pneumopatia post-attinica, senza una sintomatologia clinica significativa. Molto rare sono le complicanze tardive a livello esofageo. La TC, rappresenta l'indagine più adeguata per la valutazione iniziale delle problematiche respiratorie [144].

La misura preventiva più efficace per prevenire i secondi tumori polmonari e i tumori primitivi di altre sedi fumo-correlati è l'astensione dal fumo, motivo per cui è necessario incoraggiare la cessazione e suggerire gli strumenti più efficaci per l'interruzione del fumo. Vanno inoltre suggeriti l'adozione di stili di vita salutari (dieta equilibrata e attività fisica), la vaccinazione anti-influenzale annuale e anti-pneumococcica per prevenire del rischio di complicanze (tabella 4). La durata del periodo di follow-up specialistico può essere variabile a seconda delle condizioni del paziente e di specifici accordi tra specialisti e medici di assistenza primaria. Nella maggior parte delle situazioni si ritiene che possa essere limitato ai primi cinque anni successivi al trattamento primario. Qualora si decida di proseguire il follow-up con la TC, si consiglia l'utilizzo della TC a bassa dose senza mdc [145].

Tabella 4 - Esami raccomandati in corso di follow up

Procedura	Raccomandazione	Forza della Raccomandazione
Esame clinico	Dopo il termine del trattamento primario, specie se questo include la radioterapia e/o la chemioterapia si raccomanda uno stretto controllo clinico del paziente fino alla remissione delle tossicità acute, ogni 3-6 mesi nei primi due anni e ogni anno successivamente.	Positiva forte
TC torace con m.d.c.	Ogni 6 mesi nei primi due anni e annuale successivamente, fino al 5° anno. Dopo i primi due anni la TC può essere eseguita senza mdc. Nei pazienti <i>unfit</i> , anziani o comunque non suscettibili di successivi trattamenti attivi può essere sostituita con una TC torace senza mdc.	Positiva debole
Broncoscopia	Dopo chirurgia di una neoplasia centrale, visibile alla broncoscopia diagnostica, con alto rischio di recidiva del moncone (margini chirurgici < 1 cm) o presenza di displasia o carcinoma <i>in situ</i> : broncoscopia ad un anno dall'intervento.	Positiva debole
Spirometria completa con valutazione della DLCO	A 4-8 settimane dal termine del trattamento primario.	Positiva debole
Survivorship care	Mettere a disposizione strumenti per favorire l'astensione dal fumo e l'adozione di stili di vita salutari. Vaccinazione anti-influenzale annuale e vaccinazione anti-pneumococcica. L'esecuzione della TC dopo il 5° anno non è suggerita routinariamente. In ogni caso andrebbe eseguita una TC a basse dosi senza mdc.	Positiva forte
Procedure non raccomandate	In assenza di indicazioni cliniche i seguenti esami sono "sconsigliati": PET/TC con FDG, ecografia addominale, ecocardiografia, imaging del sistema nervoso centrale; CEA o altri marcatori	Positiva forte

Trattamento della malattia localmente avanzata

La complessità della gestione delle neoplasie localmente avanzate e l'esigenza di trattamenti multimodali richiede che questi casi siano gestiti in tutte le fasi decisionali terapeutiche da un gruppo multidisciplinare e, ove possibile, anche nell'ambito di sperimentazioni cliniche.

In un contesto di multidisciplinarietà è opportuno eseguire una valutazione di:

- Condizioni cliniche generali del paziente
- Estensione della malattia (IIIA versus IIIB o IIIC)
- Presenza di alterazioni molecolari target (stadio IIIB, N3 o IIIC)
- Funzionalità respiratoria
- Parametri dosimetrici radioterapici in termini di predizione di tossicità polmonare (V20, mean lung dose) ed esofagea.

Va inoltre fornita al paziente una esauriente informazione in merito ai benefici e al profilo di tollerabilità delle diverse opzioni terapeutiche. Le possibilità della terapia chirurgica nella malattia localmente avanzata dipendono dall'entità di estensione del tumore primario, dal livello di interessamento linfonodale e dal grado di risposta ad eventuali terapie di induzione.

Per questo motivo facciamo una distinzione in:

- Malattia localmente avanzata potenzialmente resecabile:
 - Tumori infiltranti la parete toracica
 - Tumore di Pancoast
 - Tumori infiltranti i bronchi principali e vasi polmonari
 - Tumore cN2 resecabile
- Malattia localmente avanzata non resecabile

Malattia localmente avanzata potenzialmente resecabile

Tumori infiltranti la parete toracica

Il coinvolgimento diretto della parete toracica da parte di un tumore polmonare si verifica in circa il 5% dei casi, con un'estensione variabile dalla pleura parietale alle coste e ai muscoli. In questi pazienti l'intervento chirurgico non può essere raccomandato in tutti i casi, ma deve essere valutato ad personam ed nell'ambito di un gruppo multidisciplinare. In casi selezionati, l'intervento da eseguire è la resezione polmonare anatomica associata a resezione in blocco della parete toracica (fino a raggiungere margini sicuramente sani) associata ad una linfadenectomia radicale sistematica.

Tumore di Pancoast

Vengono così indicati i tumori che interessano l'apice polmonare e le ultime radici del plesso brachiale. Clinicamente si manifestano con algie alla spalla e al braccio (lato ulnare), con parestesie e possibile sindrome di "Claude Bernard Horner". Sono caratterizzati da una tendenza precoce all'invasione locale e, solo tardivamente, alla diffusione linfatica ed ematica. Il trattamento di queste neoplasie deve essere preceduto da un'accurata stadiazione (TC, RM, PET), con eventuale ricorso a mediastinoscopia/tomia e/o eventuali approcci stadiativi mini-invasivi (EBUS; EUS). Nel caso di interessamento linfonodale assente o limitato (N0-N1) il trattamento indicato è quello combinato chemio-radio-chirurgico (essendo cisplatino ed etoposide lo schema chemioterapico maggiormente valutato in questo setting di pazienti). Il contributo della radioterapia è spesso comunque giustificato anche da esigenze cliniche di natura antalgica. La resezione del tumore dovrebbe consistere in una lobectomia superiore unitamente all'asportazione in blocco delle strutture della parete toracica interessate dal tumore.

Se il coinvolgimento linfonodale è maggiore (N2), si tende a limitare il trattamento all'associazione chemio- radioterapica [146, 147].

Tumori infiltranti i bronchi principali e i vasi polmonari

Si tratta di tumori che interessano il bronco principale a meno di due centimetri dalla carena e/o l'arteria polmonare. In casi selezionati, se le condizioni funzionali respiratorie lo consentono, l'intervento chirurgico, è praticabile a prezzo di una pneumonectomia allargata, che comporta complesse ricostruzioni della via aerea principale e/o dei vasi.

Tumore cN2 resecabile

Gli stadi IIIA-IIIB rappresentano un gruppo eterogeneo, poiché comprendono scenari clinici profondamente diversi tra loro sia in termini prognostici che terapeutici: IIIA (T3-T4, N1; T1-T2, N2); IIIB (T3-T4, N2; T1- T2, N3). Infatti, se il trattamento della maggioranza di pazienti con malattia N1 può essere assimilato a quello degli stadi precoci, e il trattamento della maggioranza dei pazienti con malattia N3 può essere assimilato a quello dello stadio IIIC, la gestione della malattia N2 risulta certamente più complessa e variegata. In questo caso infatti, la prognosi è diversa se la colonizzazione linfonodale interessa un solo linfonodo in una singola stazione "favorevole" (R 4,5), se sono interessate più stazioni o se la diffusione linfonodale è extranodale o "bulky". In particolare, i pazienti con malattia cN2 resecabile sono quelli con T1-T3 e un interessamento metastatico di una singola stazione mediastinica in sede favorevole, non "bulky". Per definire questa condizione è necessaria una conferma

patologica invasiva preoperatoria e uno staging patologico negativo sulle altre stazioni del mediastino. In queste condizioni sono ammesse diverse opzioni:

- Chirurgia seguita da chemioterapia adiuvante;
- Chemioterapia neoadiuvante seguita da chirurgia;
- Chemio-radioterapia neoadiuvante seguita da chirurgia.

Le diverse opzioni terapeutiche devono sempre essere valutate nell'ambito di un gruppo multidisciplinare esperto, con l'obiettivo di individuare la strategia più adeguata per ciascun paziente.

Nei pazienti con malattia cN2 non resecabile per interessamento di multiple stazioni linfonodali, è indicato in prima istanza un trattamento combinato di chemio-radioterapia a dosi radicali, condiviso in un ambito multidisciplinare. In casi molto selezionati, il downstaging clinico-radiologico ottenuto con le terapie di induzione (chemioterapia o chemio-radioterapia) e documentato con esame cito-istologico può consentire un'indicazione chirurgica, che tuttavia va sempre condivisa in ambito multidisciplinare. Sebbene non sembrano emergere differenze significative in termini di efficacia tra le diverse strategie di trattamento (chirurgia versus radioterapia), tuttavia la pneumonectomia, soprattutto destra, dopo terapia di induzione è comunque gravata da una rilevante morbidità e mortalità. Pertanto, nei casi in cui non fosse possibile effettuare una lobectomia, è consigliato fare seguire alla chemioterapia d'induzione una radioterapia a scopo curativo [148].

Chemioterapia neoadiuvante

Studi di metanalisi hanno confrontato il trattamento con chemioterapia neoadiuvante a base di platino versus osservazione clinica in pazienti con NSCLC in stadio I-IIIa candidati a resezione chirurgica. L'obiettivo primario era la sopravvivenza globale, per la quale veniva osservato un incremento statisticamente significativo in favore del trattamento chemioterapico neoadiuvante, con una riduzione del rischio di morte del 13%, che si traduce in un miglioramento della sopravvivenza a 5 anni del 5%. Il vantaggio per la chemioterapia neoadiuvante è stato riportato anche per la sopravvivenza libera da recidiva e per il tempo alla recidiva a distanza, mentre il vantaggio in termini di tempo alla recidiva loco-regionale non ha raggiunto la significatività statistica. Nonostante la chemioterapia neoadiuvante non rappresenti attualmente la strategia di prima scelta nei pazienti con NSCLC resecabile in stadio I-IIIa (N1), rimane invece un'opzione terapeutica valida nei pazienti con malattia in stadio IIIa-IIIb (cN2) [149].

Chemio-radioterapia neoadiuvante

L'approccio chemio-radioterapico neoadiuvante trova le sue ragioni in particolare nella ricerca del downstaging clinico pre-chirurgico e soprattutto con l'intento di incrementare la risposta patologica, intesa sia come clearance linfonodale, che come risposta patologica completa. Nei pazienti con malattia in stadio IIIA-IIIB (cN2), un trattamento combinato di chemio-radioterapia d'induzione a dosi radicali seguito da chirurgia rappresenta un'opzione terapeutica valida e deve essere sempre valutata nell'ambito di un gruppo multidisciplinare [150-157].

Radioterapia post-operatoria

Nei pazienti in cui la diagnosi del coinvolgimento neoplastico dei linfonodi mediastinici emerge in fase post-operatoria (pN2), è necessario procedere alla valutazione del trattamento radioterapico adiuvante.

I risultati prodotti da alcuni studi di metanalisi confermano il beneficio della radioterapia post-operatoria nello stadio III pN2, e suggeriscono che l'irradiazione post-operatoria nei pazienti pN2 multistazione deve essere accuratamente valutata nella pratica clinica. Il trattamento deve oggi prevedere la somministrazione di una dose totale compresa tra i 50-54 Gy, con frazionamento convenzionale (1.8-2 Gy/die), a un volume bersaglio rappresentato dalle stazioni linfonodali ilo-mediastiniche coinvolte dalla malattia, dalla trancia di sezione considerando sempre l'ilo e la stazione sottocarenale. L'impiego di tecniche radioterapiche sempre più conformate consente di minimizzare il rischio di complicanze acute e tardive, sia di tipo respiratorio, che a carico degli altri organi a rischio, come il cuore e l'esofago [158, 159].

Malattia localmente avanzata non resecabile

In tutti i pazienti con NSCLC in stadio IIIA/IIIB non resecabile o IIIC, è indicato un trattamento multimodale, sempre valutato e condiviso in ambito multidisciplinare. Nei pazienti con NSCLC in stadio IIIB (N3) o IIIC è raccomandato procedere in prima istanza con la caratterizzazione molecolare del tumore che prevede, analogamente allo stadio IV, la ricerca di mutazioni di EGFR, riarrangiamenti di ALK e ROS1, per valutare la possibilità di prescrivere trattamenti a bersaglio molecolare in popolazioni selezionate per la presenza o l'espressione di tali marcatori. Nei pazienti con NSCLC in stadio IIIA/IIIB non resecabile, o IIIC, in buone condizioni generali (ECOG PS 0-1) un trattamento concomitante di chemio-radioterapia a dosi radicali dovrebbe essere preso in considerazione come opzione

terapeutica di prima scelta [160-162]. L'identificazione del regime chemioterapico da associare al trattamento radioterapico nel NSCLC in stadio IIIA/IIIB non resecabile, o IIIC rimane ad oggi un quesito dibattuto nella ricerca della migliore strategia terapeutica. Da diversi studi è emerso che una chemioterapia a base di platino con un farmaco di terza generazione dovrebbe essere presa in considerazione come opzione terapeutica di prima scelta in associazione al trattamento radioterapico [163-167].

Lo studio di fase III "PACIFIC" ha valutato 713 pazienti con PS 0-1 affetti da NSCLC localmente avanzato randomizzandoli a ricevere un trattamento immunoterapico con durvalumab o placebo. Dopo un follow-up mediano di 25.2 mesi, la sopravvivenza globale nella popolazione generale è risultata a favore del braccio di immunoterapia con durvalumab. Sulla base di questi dati, in presenza di risposta o stabilità di malattia dopo trattamento chemio- radioterapico a dosi radicali, nei pazienti con espressione di PD-L1 sulle cellule tumorali superiore o uguale a 1%, dovrebbe essere presa in considerazione una terapia di consolidamento con **durvalumab** della durata di 12 mesi come opzione terapeutica di prima scelta [168-170].

Trattamento della malattia avanzata

Il NSCLC metastatico è normalmente considerato inoperabile. L'asportazione completa del/i tumore/i è molto improbabile e, pertanto, non può essere offerta una possibilità di cura. Tuttavia, gli interventi chirurgici possono alleviare i sintomi causati dalla diffusione della malattia ad altre parti del corpo. Analogamente, la radioterapia può aiutare a controllare i sintomi dovuti alla disseminazione della malattia in determinati organi, ivi compresi l'encefalo e le ossa. Attualmente la scelta del trattamento per i pazienti con NSCLC in stadio avanzato (stadio IIIB/IIIC non suscettibile di trattamenti loco regionali, e stadio IV) si basa sulla valutazione integrata dei seguenti parametri:

- Istologia (squamosa versus non-squamosa)
- Presenza di alterazioni molecolari driver (mutazioni sensibilizzanti di EGFR e riarrangiamenti di ALK o ROS1)
- Livello di espressione di PD-L1
- Caratteristiche cliniche del paziente: età, performance status (PS), comorbidità

La presenza o meno di alterazioni molecolari driver consente di distinguere la malattia in due tipologie che presentano approcci terapeutici differenti:

- Malattia oncogene-addicted
- Malattia non oncogene-addicted

Malattia oncogene-addicted

Sono ormai note numerose alterazioni molecolari del NSCLC che condizionano la biologia del tumore, alcune delle quali sono già un target terapeutico, mentre altre potrebbero rappresentarlo in futuro. Tra le alterazioni molecolari più frequenti vanno annoverate:

- Mutazioni del gene KRAS (20-30%)
- EGFR (10-15% dei pazienti caucasici e fino al 40% dei pazienti asiatici)
- Riarrangiamenti di ALK (3-7%), ROS1 (1-2%), RET (1-2%), NTRK (0.5-1%)
- Mutazioni del gene BRAF (2-4%), HER2 (1-2%)
- Amplificazioni o mutazioni del gene MET (2-4% complessivamente).

In Italia sono ad oggi approvati e rimborsati farmaci inibitori tirosino-chinasici di EGFR, ALK e ROS1. Tutti i pazienti con istologia non-squamosa o mista, ma anche i pazienti con istologia squamosa pura, soprattutto se giovani e/o non fumatori, o con diagnosi fatta su piccole biopsie, dovrebbero essere sottoposti ad analisi molecolare per i geni EGFR, ALK, ROS1 e BRAF. Laddove possibile, una caratterizzazione molecolare più estesa può essere utile nell'identificare altre alterazioni molecolari driver suscettibili di trattamento con farmaci a bersaglio molecolare nell'ambito di studi clinici o programmi di accesso allargato [171-180].

Trattamento della malattia EGFR-mutata

Gli inibitori tirosino-chinasici di EGFR rappresentano il trattamento di I linea raccomandato nei pazienti con NSCLC avanzato e mutazioni classiche [181-189]. Le più frequenti mutazioni sensibilizzanti di EGFR sono le delezioni dell'esone 19 (Ex19dels) e la mutazione puntiforme L858R dell'esone 21, che insieme rappresentano circa il 90% dei casi, definiti come mutazioni comuni o "classiche". Il restante 10% delle mutazioni di EGFR è rappresentato da un gruppo eterogeneo di alterazioni molecolari, definite come non comuni o rare.

Le mutazioni non comuni o rare includono mutazioni puntiformi (singole o complesse) a carico di svariati residui aminoacidici negli esoni 18, 19, 20 e 21, oppure inserzioni aminoacidiche a carico esclusivamente dell'esone 20 [190]. Il riscontro di alterazioni molecolari aggiuntive, rispetto a quelle precedentemente riportate, andrebbe discusso nell'ambito di gruppi multidisciplinari prima di procedere alla scelta della terapia di prima linea. La necessità di identificare tutte le mutazioni clinicamente rilevanti del gene EGFR, passibili di trattamento personalizzato con gli inibitori tirosino-chinasici impone l'impiego di tecnologie in grado di rilevare tutte le mutazioni di EGFR sopra citate, specificandolo nella refertazione con le adeguate nomenclature internazionali [191].

Trattamento di prima linea

Almeno 8 studi di fase 3 randomizzati hanno dimostrato, in pazienti affetti da NSCLC avanzato con mutazioni di EGFR, la superiorità di un trattamento orale con un inibitore tirosino-chinasico di EGFR come gefitinib (250 mg/die), erlotinib (150 mg/die) o afatinib (40 mg/die) nella prima linea di trattamento rispetto alla chemioterapia standard a base di platino, in termini sia di tasso di risposta (RR) che di sopravvivenza libera da progressione (PFS) [181-188]. La maggior parte dei pazienti inclusi in questi studi era caratterizzato da una mutazione classica (Ex19dels, L858R) di EGFR (Tabella 5).

Tabella 5 - Studi di prima linea nei pazienti EGFR mutati

Studio	(EGFR mut)N	EGFR-TKI	RR (%)	mPFS (mesi)	PFS (HR)
IPASS [261]	261	Gefitinib	71.2 vs 47.3	9.8 vs 6.4	0.48
First-SIGNAL[262]	42	Gefitinib	84.6 vs 37.5	8.4 vs 6.7	0.54
WJTOG 3405 [263]	177	Gefitinib	62.1 vs 32.2	9.2 vs 6.3	0.49
NEJGSG002 [264]	228	Gefitinib	73.7 vs 30.7	10.8 vs 5.4	0.30
OPTIMAL[265]	154	Erlotinib	83.0 vs 36.0	13.1 vs 4.6	0.16
EURTAC [266]	175	Erlotinib	54.5 vs 10.5	9.7 vs 5.2	0.37
LUX-Lung 3 [267]	345	Afatinib	56 vs 23	11.1 vs 6.9	0.58
LUX-Lung 6 [268]	364	Afatinib	66.9 vs 23	11.0 vs 5.6	0.28

In nessuno di questi studi viene osservato un vantaggio significativo in termini di sopravvivenza globale (OS), il che è verosimilmente da attribuirsi al fatto che molti pazienti trattati con chemioterapia ricevevano poi un inibitore tirosino-chinasico nelle linee successive di trattamento (effetto cross-over) e al non adeguato dimensionamento degli studi per osservare differenze in OS.

Sono stati condotti inoltre alcuni studi di confronto tra inibitori tirosino-chinasici di prima (gefitinib, erlotinib) e seconda (afatinib, dacomitinib) generazione nel trattamento dei pazienti con mutazione di EGFR e NSCLC in stadio avanzato [192-197]. Tra gli inibitori tirosino-chinasici di EGFR approvati e rimborsati ad oggi in Italia

per la prima linea, in base alle evidenze fin'ora disponibili, non è possibile stabilire la superiorità di un farmaco rispetto agli altri, per questo nei pazienti con NSCLC localmente avanzato o metastatico con mutazioni attivanti classiche di EGFR è raccomandato un trattamento di prima linea con un inibitore tirosin-chinasico di EGFR come gefitinib, erlotinib o afatinib. Lo studio di fase 3 FLAURA, randomizzato (1:1) in doppio-cieco, internazionale, multicentrico, ha confrontato l'inibitore di terza generazione osimertinib (80 mg/die) con gli inibitori di prima generazione (erlotinib 150 mg/die o gefitinib 250 mg/die) come trattamento di prima linea in 556 pazienti con NSCLC e mutazioni classiche di EGFR [198]. La PFS valutata dagli sperimentatori, che costituiva l'endpoint primario dello studio, è risultata superiore per i pazienti trattati con osimertinib rispetto al braccio di controllo. Il vantaggio in PFS è stato osservato in tutti i sottogruppi predefiniti, incluso quello dei pazienti con metastasi cerebrali. Al momento del data cut-off per l'analisi della PFS, i dati di OS non erano ancora maturi e la mediana non era stata raggiunta nei due bracci di trattamento. E' stato tuttavia osservato un incremento non significativo dell'OS in favore di osimertinib. Gli sperimentatori hanno recentemente riportato alcuni dati relativi ad endpoints esploratori, quali la "seconda" PFS (i.e. il tempo tra randomizzazione e progressione alla seconda linea di trattamento), che è risultata essere superiore nel braccio osimertinib rispetto al braccio di controllo. La revisione, indipendente dell'imaging cerebrale, ha evidenziato una PFS cerebrale superiore nel braccio osimertinib. I pazienti trattati con Osimertinib presentavano, inoltre, un migliore RR cerebrale. Osimertinib è risultato essere meglio tollerato rispetto a gefitinib ed erlotinib, con una minore incidenza di eventi avversi di grado 3-4. Ad oggi però osimertinib è approvato ma non ancora rimborsato (attualmente disponibile in classe CNN) in Italia per la prima linea di trattamento della malattia EGFR-mutata [199]. Per quanto riguarda specificatamente il riscontro di mutazione T790M al baseline, sebbene osimertinib come trattamento di prima linea non sia stato studiato prospetticamente in tale setting, il suo profilo farmacologico e l'attività nei pazienti pretrattati suggeriscono la potenziale efficacia di tale molecola. Per quanto riguarda invece l'attività di osimertinib nei confronti di inserzioni dell'esone 20, le evidenze a disposizione sono preliminari e non permettono di trarre conclusioni in merito. I pazienti con NSCLC e mutazione di EGFR trattati in prima linea con inibitore tirosino-chinasico di EGFR di prima o seconda generazione, dopo un periodo variabile (circa 9-13 mesi), sviluppano una progressione clinico-radiologica di malattia. In circa il 60% dei pazienti la progressione si associa all'emergenza della mutazione di resistenza T790M nell'esone 20 di EGFR [200].

Trattamento di seconda linea e linee successive

Benché la terapia con TKI di prima e seconda generazione abbia enormemente modificato la prognosi di questi pazienti, dopo una media di 10-12 pazienti la malattia diventa resistente. Numerosi sono i meccanismi di resistenza ma circa il 50% è imputabile alla comparsa di una mutazione puntiforme, la T790M, che conferisce resistenza ai TKI di prima e seconda generazione [201]. Attualmente è stato approvato in questo sottogruppo di pazienti osimertinib come terapia a seguito di fallimento da TKI di prima o seconda generazione nei pazienti con mutazione T790M.

Sulla scorta dello studio **AURA3**, infatti, si è evidenziato un importante vantaggio in termini di PFS nei pazienti con T790M trattati con osimertinib rispetto alla chemioterapia a base di platino (mPFS 10,1 mesi con TAGRISSO rispetto a 4,4 mesi con la chemioterapia con HR 0,30; IC al 95%: 0.23 to 0.41; P<0.001) con un profilo di tossicità nettamente inferiore a quello della chemioterapia. Risulta quindi fondamentale in questi pazienti la ricerca su biopsia liquida e/o biopsia tissutale della mutazione di resistenza T790M [202]. Nel restante 40% di pazienti l'opzione terapeutica di seconda linea rimane la chemioterapia a base di platino. Non esistono studi di immunoterapia condotti esclusivamente su pazienti mutati, tuttavia dalle analisi di sottogruppo dei principali studi registrativi, non emerge un vantaggio dell'immunoterapia nei confronti della chemioterapia, pertanto al momento l'immunoterapia può essere valutata all'interno di studi clinici o a fallimento dalla chemioterapia in pazienti selezionati.

Nella pratica clinica l'osimertinib potrebbe diventare la scelta terapeutica di prima linea, rivoluzionando il paradigma diagnostico-terapeutico di questi pazienti. Si stanno studiando i meccanismi di resistenza a osimertinib (sia in prima che in seconda linea), alcune delle quali sembrano essere mutazioni de novo dell'EGFR con la C797S che sembrerebbe in vitro essere sensibile a TKI di prima generazione come il gefinib, tuttavia al momento l'opzione terapeutica a progressione ad Osimertinib rimane la chemioterapia a base di platino [203].

Trattamento della malattia con traslocazione di ALK

I riarrangiamenti di ALK (presenti nel 3-7% delle neoplasie polmonari non a piccole cellule) si ritrovano maggiormente in adenocarcinomi che insorgano in soggetti giovani, con assente o ridotta abitudine tabagica [204]. La terapia di scelta nel trattamento di I linea di questi pazienti è un inibitore tirosino-chinasico di ALK.

Trattamento di prima linea

È ormai chiaro da alcuni anni che i pazienti con traslocazione di ALK beneficiano di un trattamento con TKI, rispetto alla chemioterapia. Il primo studio a rivoluzionare le opzioni terapeutiche di questi pazienti fu lo studio PROFILE-1014, studio di fase 3 randomizzato, condotto su 343 pazienti naive affetti da NSCLC avanzato ad istologia non-squamosa, positivo per il riarrangiamento di ALK. Lo studio prevedeva la randomizzazione (1:1) a ricevere crizotinib o chemioterapia con platino in associazione a pemetrexed. Il trattamento con crizotinib si è dimostrato superiore alla chemioterapia in termini di RR (74% vs 45%, $P < 0.001$) e di PFS (mediana: 10.9 vs 7.0 mesi; HR: 0.45; IC 95% 0.35-0.60; $P < 0.001$) a discapito una maggiore tollerabilità del farmaco rispetto alla chemioterapia. Non è stata osservata una differenza significativa in termini di OS probabilmente per l'elevato crossover (il 70% dei pazienti trattati con chemioterapia ha ricevuto successivamente crizotinib) [205]. Questo studio ha portato all'approvazione del farmaco da parte di AIFA per il trattamento in prima linea nei pazienti con riarrangiamento di ALK.

Studio gemello, lo studio ASCEND-4 confrontava nella stessa popolazione di pazienti Ceritinib vs chemioterapia a base platino più pemetrexed. Lo studio ha dimostrato la superiorità di ceritinib rispetto alla chemioterapia in termini di PFS (mediana: 16.6 vs 8.1 mesi, HR 0.55, IC95% 0.42-0.73, $P < 0.00001$) [206]. Al momento ceritinib non è approvato per il trattamento di prima linea. Non ci sono studi di confronto diretto tra crizotinib e ceritinib.

Crizotinib è stato successivamente confrontato con l'inibitore di ALK di seconda generazione alectinib in due diversi studi randomizzati, J-ALEX, condotto su pazienti asiatici e ALEX condotto su una popolazione caucasica [207, 208]. In entrambi gli studi i pazienti venivano randomizzati a ricevere crizotinib o alectinib. Entrambi gli studi hanno raggiunto l'end point primario dimostrando la superiorità di alectinib rispetto a crizotinib con un profilo di tossicità nettamente inferiore. Nello studio ALEX in particolare, alectinib ha determinato un RR più elevato (82.9% vs 75.5%) ed una PFS migliore (tasso di sopravvivenza libera da eventi a 12 mesi: 68.4% vs 48.7%, HR 0.47, IC 95% 0.34-0.65, $P < 0.001$). Recentemente sono stati pubblicati i dati di PFS che hanno mostrato una sopravvivenza libera da progressione triplicata nel braccio con alectinib (34.8 (95% CI: 22.4-NE) versus 14.7 mesi (HR=0.47, 95% CI: 0.32-0.71)) e tale vantaggio si mantiene anche nella popolazione con metastasi cerebrali. Alectinib ha inoltre mostrato di ritardare la comparsa di metastasi cerebrale. Inoltre la comunità scientifica si è espressa a favore di Alectinib come nuovo standard terapeutico per i pazienti naive con riarrangiamento di ALK.

Trattamento di seconda linea e linee successive

Gli studi condotti evidenziano come la maggior parte dei pazienti trattati con crizotinib presenti una progressione di malattia entro 12 mesi dall'inizio del trattamento, dovuta allo sviluppo dei meccanismi di resistenza acquisita al farmaco, i quali possono essere distinti in: meccanismi molecolari ALK-dipendenti (principalmente mutazioni puntiformi nel dominio tirosino-chinasico di ALK) e meccanismi ALK- indipendenti (up-regolazione di altri oncogeni o attivazione di altre vie di trasduzione del segnale intracellulare) [209]. A questi si aggiunge la frequente progressione a carico del sistema nervoso centrale, dovuta sia al tropismo encefalico della malattia ALK-riarrangiata, che alla sub-ottimale diffusione di crizotinib attraverso la barriera emato-encefalica [210].

Lo studio "ASCEND-5" ha confrontato la terapia con ceritinib e la chemioterapia in pazienti affetti da NSCLC in stadio IIIB/IV con performance status di 0-2 e con riarrangiamento di ALK, che erano stati precedentemente trattati con crizotinib [211]. In questo studio ceritinib si è dimostrato superiore alla chemioterapia in termini di PFS, RR intracranico ma non ha mostrato differenze in termini di OS.

Lo studio "ALUR" ha invece confrontato la terapia con alectinib e la chemioterapia in pazienti con NSCLC avanzato o metastatico con riarrangiamento di ALK e con performance status di 0-2, in progressione al crizotinib [212]. La PFS è risultata significativamente superiore per alectinib rispetto alla chemioterapia, come anche il RR intracranico per i pazienti con metastasi cerebrali e il RR intracranico per i pazienti con metastasi cerebrali misurabili. L'incidenza di eventi avversi è risultata sostanzialmente sovrapponibile tra alectinib e chemioterapia. Si raccomanda quindi un trattamento con ceritinib o alectinib come opzione terapeutica di prima scelta rispetto alla chemioterapia nei pazienti con NSCLC localmente avanzato o metastatico con riarrangiamenti di ALK, in progressione a una terapia con crizotinib. Come detto per crizotinib, anche per quanto concerne gli inibitori di seconda generazione di ALK, siano essi somministrati nel setting post-crizotinib o in prima linea, la resistenza acquisita si manifesta in termini di progressione clinico-radiologica di malattia. I meccanismi molecolari alla base delle resistenza ricalcano quelli riportati con crizotinib, con un arricchimento nel numero di casi che sviluppano mutazioni di ALK [213].

Dati recenti, emergenti da un studio prospettico di fase 1/2, supportano l'utilizzo di lorlatinib (inibitore di terza generazione) dopo progressione a inibitori di seconda generazione, alla luce dello spettro d'azione contro tutte le mutazioni singole di resistenza emergenti in ALK e della sua spiccata attività cerebrale [214].

In considerazione dell'attuale mancanza di approvazione e rimborso in Italia, la somministrazione di lorlatinib è consentita esclusivamente all'interno di protocolli di studio o di programmi ad utilizzo nominale del farmaco.

Come visto per la malattia EGFR-mutata, il mantenimento e l'avvicinarsi di terapie a bersaglio molecolare capaci di mantenere un controllo di malattia il più a lungo possibile sono elementi chiave per garantire i migliori outcomes di sopravvivenza anche nei pazienti ALK-positivi. Per quei pazienti che sviluppano una progressione sistemica e per i quali risulta indicata una successiva linea di trattamento, la chemioterapia a base di platino rimane l'opzione raccomandata, con particolare riferimento alle combinazioni con pemetrexed, stante la peculiare attività di tale farmaco nella malattia ALK-riarrangiata.

Trattamento della malattia ROS1-riarrangiata: prima linea e linee successive

Sebbene sia un recettore tirosino-chinasico distinto da ALK, ROS1 e ALK hanno una struttura molto simile, condividono una maggiore incidenza in soggetti giovani, con assente o scarsa abitudine tabagica, e nell'istotipo adenocarcinoma [215]. ROS1 è l'oncogene driver in 1-2% dei NSCLC; l'unico farmaco attualmente approvato e rimborsato in Italia per il trattamento del NSCLC avanzato con riarrangiamento di ROS1 è crizotinib. Nei pazienti con NSCLC localmente avanzato o metastatico con riarrangiamenti di ROS1, un trattamento di prima linea con crizotinib dovrebbe essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima scelta rispetto alla chemioterapia [216-221].

Al momento della progressione clinico-radiologica a crizotinib, i pazienti ROS1-positivi possono beneficiare di ulteriori terapie a bersaglio molecolare all'interno di studi clinici o programmi di accesso allargato. Analogamente a quanto riportato per la malattia EGFR-mutata e ALK-riarrangiata, le strategie di trattamento "beyond progression" e della malattia oligoprogressiva possono rappresentare opzioni valide anche nei pazienti con riarrangiamento di ROS1, pur in assenza di evidenze dedicate [222]. Altri inibitori di ROS1, oggetto di studio, ma non ancora approvati includono: ceritinib, entrectinib, lorlatinib, repotrectinib. Tra questi, vanno sicuramente sottolineati lorlatinib e repotrectinib, alla luce della loro attività sistemica e cerebrale dopo progressione a crizotinib. 34 pazienti ROS1-positivi trattati con lorlatinib nello studio di fase 1/2 avevano precedentemente ricevuto crizotinib. In questo gruppo, si sono registrate una RR del 26% e stabilità di malattia nel 47% dei casi (quasi sempre accompagnantesi a una riduzione dimensionale delle lesioni tumorali), con una PFS mediana di 8.5 mesi. Nello stesso setting, più del 50% dei pazienti con metastasi cerebrali misurabili hanno ottenuto una risposta di malattia con lorlatinib [223, 224].

Trattamento delle malattie con altri driver molecolari

Sebbene non siano al momento approvati in Italia farmaci a bersaglio molecolare diversi dagli inibitori tirosin-chinasici di EGFR, ALK e ROS1, dati preliminari che emergono da recenti studi di fase 1-2, evidenziano profili di attività e tollerabilità promettenti in favore di alcune molecole di nuova generazione rivolte verso alterazioni molecolari “rare”. Un esempio è la combinazione di dabrafenib (inibitore di BRAF) e trametinib (inibitore di MEK), ad oggi disponibile anche in Italia, per i pazienti con NSCLC avanzato e mutazione V600E del gene BRAF.

Malattia non oncogene-addicted

Nei pazienti con NSCLC avanzato senza alterazioni molecolari driver suscettibili di terapie a bersaglio molecolare, attualmente la scelta del trattamento si basa principalmente sull'istologia, sulle condizioni generali del paziente e sue comorbidità, e sul livello di espressione di PD-L1.

Le agenzie di regolamentazione hanno introdotto una soglia di espressione di PD-L1 per la prescrizione del pembrolizumab in monoterapia, definita “tumour proportion score (TPS)”, del valore del 50% nella prima linea di trattamento e dell'1% nella seconda linea di trattamento, in accordo con gli studi randomizzati [225, 226].

Al contrario il TPS per il PD-L1 non è richiesto per il trattamento di seconda linea con Nivolumab e Atezolizumab [227, 228, 229].

La rilevazione dell'espressione di PD-L1 può essere eseguita su campioni fissati in formalina e inclusi in paraffina e si sconsiglia l'impiego di differenti anticorpi anti PD-L1 simultaneamente per l'analisi del medesimo preparato al fine di salvaguardare il materiale biologico del paziente ed evitare di ricorrere al prelievo di un nuovo campione per completare l'esame. Inoltre è di fondamentale importanza, per l'istotipo adenocarcinoma, ottenere in modo sincrono alla valutazione dell'espressione di PD-L1 anche la valutazione dello stato mutazionale di EGFR, ALK e, possibilmente, anche di ROS-1.

Trattamento di prima linea

Trattamento di prima linea in pazienti PD-L1 $\geq$ 50%

Nei pazienti con buon performance status (0-1) e con livello di espressione di PD-L1 $\geq$ 50%, indipendentemente dall'istotipo, il trattamento di scelta in prima linea è rappresentato dall'agente anti-PD-1 pembrolizumab.

Lo studio KEYNOTE-024 ha condotto un trial di fase 3 su 305 pazienti affetti da NSCLC metastatico, senza mutazione di EGFR o riarrangiamento di ALK, con espressione di PD-

L1 $\geq$ 50%, e con performance status di 0-1. I pazienti inclusi nello studio sono stati randomizzati a ricevere un trattamento di prima linea con pembrolizumab (200 mg ev ogni tre settimane, fino ad un massimo di 35 cicli) o con un regime chemioterapico standard (cisplatino o carboplatino più gemcitabina, carboplatino più paclitaxel e, soltanto per i tumori ad istologia non-squamosa, cisplatino o carboplatino più pemetrexed per 4-6 cicli, con la possibilità di proseguire pemetrexed come terapia di mantenimento). La terapia con pembrolizumab ha dimostrato un incremento significativo della PFS e delle risposte obiettive. Ad oggi quindi l'unico agente immunoterapico approvato e rimborsato in Italia in prima linea per il trattamento del NSCLC avanzato è il **pembrolizumab** in monoterapia, limitatamente ai pazienti senza alterazioni di EGFR e ALK e con espressione di PD-L1 $\geq$ 50% [230].

Trattamento di prima linea in pazienti PD-L1 < 50%

Nei pazienti con buon performance status (0-1), senza alterazioni molecolari drivers, e con livello di espressione di PD-L1 < 50%, il trattamento di base rimane la chemioterapia, che può essere associata, nei pazienti con neoplasie non squamose, a immunoterapia con pembrolizumab. In pazienti non selezionati per caratteristiche molecolari o per livello di espressione di PD-L1, la chemioterapia (nella maggior parte dei casi con schemi a base di cisplatino) si è dimostrata efficace nel prolungare la OS rispetto alla best supportive care (BSC) [231].

Nei pazienti candidati a chemioterapia, il trattamento standard è rappresentato da una **doppietta contenente un derivato del platino associato ad un agente di terza generazione (vinorelbina, gemcitabina o taxano)**, per 4-6 cicli. L'aggiunta di un terzo farmaco alla doppietta si è tradotta in un incremento del RR senza significative differenze in termini di sopravvivenza e con un peggiore profilo di tossicità [232].

In merito al derivato del platino più efficace tra cisplatino e carboplatino, la meta-analisi pubblicata da **Ardizzoni et al.** nel 2007 ha dimostrato che l'utilizzo del cisplatino migliore determina un incremento non significativo dell'OS nella popolazione generale e un vantaggio significativo limitatamente al sottogruppo di pazienti con istologia non-squamosa e in associazione a farmaci di terza generazione, pertanto dovrebbe essere considerato il farmaco da preferire, mentre il carboplatino rappresenta una valida alternativa in presenza di controindicazioni all'impiego del cisplatino [233].

Per quanto riguarda la durata ottimale della terapia di prima linea, la meta-analisi pubblicata da **Rossi et al.** nel 2014 riporta che 6 cicli rispetto a 3-4 cicli di chemioterapia hanno determinato un vantaggio statisticamente significativo, sebbene clinicamente poco rilevante, in termini di PFS, ma senza vantaggi significativi in OS [234].

Lo studio JMDB, pubblicato da **Scagliotti et al.** nel 2008, è un trial di fase 3 randomizzato condotto su 1725 pazienti con NSCLC allo stadio IIIB (non suscettibile di trattamento con finalità curativa) o IV. I pazienti sono stati randomizzati (1:1) a ricevere cisplatino/gemcitabina (cisplatino 75 mg/mq e.v. g.1 e gemcitabina 1250 mg/mq e.v. gg. 1,8 ogni tre settimane) o cisplatino/pemetrexed (cisplatino 75 mg/mq e.v. g.1 e pemetrexed 500 mg/mq e.v. g. 1 ogni tre settimane) per un massimo di 6 cicli o fino a progressione di malattia o tossicità inaccettabile. L'endpoint primario era la OS. Nella popolazione generale, il trattamento con cisplatino/pemetrexed si è dimostrato non inferiore a cisplatino/gemcitabina in termini di OS (mediana 10.3 versus 10.3 mesi, HR 0.94, IC 95% 0.84- 1.05, con il limite superiore dell'intervallo di confidenza al di sotto di 1.176 che costituiva il limite stabilito per la non-inferiorità) e PFS (mediana 4.8 versus 5.1 mesi, HR 1.04, IC 95% 0.94-1.15), con RR simile nei due bracci (30.6% versus 28.2%). I dati ottenuti suggeriscono che nei pazienti affetti da NSCLC ad istologia non-squamosa in stadio localmente avanzato o metastatico, il regime cisplatino/pemetrexed può essere preso in considerazione come opzione terapeutica di prima intenzione rispetto al regime cisplatino/gemcitabina [235].

Bevacizumab nei pazienti non oncogene-addicted

Il ruolo dell'aggiunta di bevacizumab, anticorpo anti-VEGF, alla chemioterapia di prima linea del NSCLC avanzato è stato indagato in studi di fase 3 esclusivamente nella istologia non-squamosa, in quanto in uno studio di fase 2 era stato osservato un eccesso di tossicità in termini di emorragia polmonare nei pazienti con NSCLC ad istologia squamosa. In particolare lo studio di fase 3 E4599, pubblicato da **Sandler et al.** nel 2006, condotto su pazienti con performance status di 0-1 affetti da NSCLC localmente avanzato o metastatico (stadio IIIB o IV) ad istologia non-squamosa ha mostrato un vantaggio dall'aggiunta del bevacizumab in termini di OS e di PFS. Veniva inoltre descritto un aumento di incidenza di eventi avversi con l'aggiunta del bevacizumab (ipertensione, proteinuria, emorragia, neutropenia, neutropenia febbrile, piastrinopenia, iponatremia, rash e cefalea) [236].

Lo **studio AVAiL**, con disegno sovrapponibile, prevedeva la randomizzazione a ricevere cisplatino/gemcitabina a bevacizumab a basse dosi (7.5 mg/mq) o bevacizumab ad alte dosi (15 mg/mq) o placebo. I risultati dello studio hanno mostrato che la PFS è stata significativamente migliore per il bevacizumab rispetto al placebo, sia nel braccio ad alte dosi (PFS mediana: 6.5 vs 6.1 mesi, HR 0.82, IC 95% 0.68-0.98, P = 0.03) che in quello a basse dosi (PFS mediana: 6.7 vs 6.1 mesi, HR 0.75, IC 95% 0.62-0.91, P = 0.003), senza però evidenziare un vantaggio in OS (mediana: 13.4 mesi per bevacizumab ad alte dosi, 13.6 mesi per bevacizumab ad alte dosi, 13.1 per il placebo) e con un profilo di tossicità

maggiore nei bracci con bevacizumab. Sulla scorta di questi dati il bevacizumab in associazione a carboplatino e taxolo può essere considerato come trattamento di prima linea in pazienti con NSCLC avanzato ad istologia non squamosa privi di rischio di sanguinamento [237].

Due metanalisi hanno dimostrato un incremento significativo in RR, PFS e OS dall'aggiunta di bevacizumab alla chemioterapia a base di platino rispetto alla sola chemioterapia in pazienti affetti da NSCLC avanzato [238, 239].

Pazienti anziani e Performance status 2

Nei pazienti anziani (età ≥ 70 anni) o in pazienti con scarso performance status (ECOG 2) candidati a una chemioterapia, la terapia di scelta è la mono-chemioterapia con agente di terza generazione. Infatti in studi randomizzati dedicati ai pazienti anziani, la mono-chemioterapia con un agente di terza generazione (vinorelbina) ha dimostrato un significativo prolungamento della sopravvivenza globale rispetto alla terapia di supporto, mentre la combinazione di agenti di terza generazione (gemcitabina/vinorelbina) non ha dimostrato vantaggi rispetto a gemcitabina o vinorelbina in mono-chemioterapia [240, 241]. Per quanto riguarda l'utilizzo di doppiette contenenti derivati del platino nei pazienti i dati disponibili ottenuti dagli studi eseguiti in merito suggeriscono che probabilmente le popolazioni di pazienti anziani e/o con performance status 2 sono molto eterogenee, ed i pazienti candidati a una doppietta contenente un derivato del platino devono essere attentamente selezionati per ridurre il rischio di eccessiva tossicità, considerato anche l'intento palliativo del trattamento. In questo sottotipo di pazienti il trattamento chemioterapico con agente singolo o con doppietta contenente un derivato del platino a dose ridotta può essere preso in considerazione come trattamento di prima intenzione. I pazienti con performance status 3-4 affetti da malattia non- oncogene addicted dovrebbero essere candidati a sola best supportive care [242-247].

In merito all'utilizzo dell'immunoterapia nei pazienti anziani, le evidenze disponibili sono estrapolate da analisi di sottogruppo di studi randomizzati ottenuti prevalentemente con immunoterapia da sola. Considerate queste limitazioni e in attesa dei risultati di studi prospettici dedicati, efficacia e tollerabilità nei pazienti anziani sembrerebbero essere sovrapponibili a quelle riportate per l'intera popolazione inclusa negli studi clinici.

Una valutazione geriatrica completa mediante scale specifiche di valutazione, oltre alla valutazione clinica inclusiva di performance status, comorbidità e terapia farmacologica, è necessaria prima di intraprendere una qualsiasi strategia terapeutica [248, 249].

Terapia di mantenimento

La terapia di mantenimento è la continuazione del trattamento fino alla progressione della malattia, in un tumore che non è progredito dopo la terapia di prima linea. L'obiettivo primario è migliorare i sintomi correlati al cancro e i tempi di sopravvivenza. [39]

Lo studio PARAMOUNT è un trial di fase 3 randomizzato in doppio cieco, multicentrico, su pazienti affetti da NSCLC in fase avanzata (stadio IIIB/IV) che prevedeva due fasi: una fase non randomizzata in cui i pazienti non pre-trattati per malattia avanzata sono stati sottoposti a terapia di prima linea con cisplatino/pemetrexed per 4 cicli ed una successiva fase randomizzata in cui i pazienti eleggibili che non erano in progressione di malattia dopo l'induzione venivano randomizzati a ricevere pemetrexed + best supportive care (BSC) o placebo + BSC. Sulla base dei risultati, pemetrexed è approvato e rimborsato nei pazienti con NSCLC con un buon performance status (0-1) come terapia di mantenimento in caso di malattia ad istologia non-squamosa in stabilità o risposta di malattia dopo 4 cicli di trattamento chemioterapico di prima linea a base di platino-pemetrexed. Questa è un'opzione che può essere discussa con il paziente [250, 251].

Inoltre nello studio KEYNOTE-189, l'aggiunta del pembrolizumab alla combinazione platino/pemetrexed ha portato ad un incremento della sopravvivenza globale e della sopravvivenza libera da progressione (PFS) con una percentuale maggiore di pazienti con una risposta completa o parziale. Tale studio quindi consentiva per i pz con controllo di malattia il mantenimento con pembrolizumab e pemetrexed [252].

Ad oggi nella pratica clinica nei pazienti con NSCLC ad istologia non-squamosa in risposta o stabilità di malattia dopo trattamento di prima linea contenente un derivato del platino, può essere proposta una terapia di mantenimento con pemetrexed +/- pembrolizumab.

Linee successive di trattamento

Nella seconda linea di trattamento del NSCLC avanzato, docetaxel si è dimostrato superiore in termini di OS alla BSC o ad altri agenti chemioterapici quali ifosfamida o vinorelbina [253, 254]. Sebbene pemetrexed si sia dimostrato non inferiore a docetaxel in uno studio randomizzato di fase 3, il frequente utilizzo di pemetrexed nella prima linea o nella terapia di mantenimento del NSCLC ad istologia non-squamosa ne limita il ruolo in seconda linea [255]. Sulla base di questi dati **Docetaxel** è stato pertanto considerato a lungo uno standard nella seconda linea di trattamento dei pazienti con NSCLC. L'aggiunta del nintedanib, farmaco orale inibitore delle angiocinasasi (VEGFR1-3, FGFR1-3, PDGFR- α

e - β), RET, FLT3 e Src, alla chemioterapia di seconda linea con docetaxel, è stata valutata nello studio LUME- Lung 1. Sulla base di questo studio, nei pazienti con NSCLC localmente avanzato o metastatico, con istologia adenocarcinoma, in progressione di malattia dopo una prima linea di chemioterapia, l'associazione di nintedanib e docetaxel può essere considerata come terapia di seconda linea. Bisogna precisare però che quando lo studio LUME-Lung 1 è stato disegnato, il docetaxel rappresentava il trattamento standard di seconda linea, mentre attualmente una possibile opzione di trattamento approvata e rimborsata in Italia in questo setting è rappresentata dall'immunoterapia con nivolumab e atezolizumab (indipendentemente dall'espressione di PD-L1) o pembrolizumab (per i tumori con PD-L1 $\geq 1\%$), avendo questi 3 farmaci dimostrato, in studi randomizzati di fase 3, una superiorità a docetaxel in termini di OS e con un profilo di tossicità favorevole rispetto al docetaxel da solo [256]. Esistono infatti diversi studi randomizzati di fase 3 hanno confrontato l'immunoterapia con la chemioterapia nel trattamento di seconda linea. Il ruolo di nivolumab (anti-PD-1) è stato valutato negli studi "CheckMate 017" (istologia squamosa, indipendentemente da PD-L1) e "Checkmate 057" (istologia non-squamosa, indipendentemente da PD-L1), il ruolo di pembrolizumab (anti-PD-1) è stato valutato nello studio "KEYNOTE-010" (indipendentemente dal tipo istologico, con positività per PD-L1), mentre il ruolo di atezolizumab (anti-PD- L1) è stato valutato nello studio "OAK" (indipendentemente dal tipo istologico e da PD-L1) [257-260].

Per quanto riguarda l'utilizzo del **nivolumab** (anticorpo monoclonale anti-PD1) in seconda linea, nello studio "Checkmate 017" i pazienti sono stati randomizzati a ricevere nivolumab (3 mg/kg e.v. ogni 2 settimane) o docetaxel (75 mg/mq e.v. ogni 3 settimane). I pazienti trattati con nivolumab hanno ottenuto un vantaggio in termini di OS, PFS e RR rispetto a docetaxel insieme ad una minore incidenza di effetti collaterali. In questo studio è stata valutata retrospettivamente l'espressione di PD-L1 che non è risultata essere prognostica né predittiva in termini di efficacia per tutti gli endpoint considerati [257].

Lo studio "Checkmate 057", contrariamente al precedente, prende in considerazione pazienti con tumore ad istologia squamosa ed è stato condotto su pazienti randomizzati a ricevere nivolumab (3 mg/kg e.v. ogni due settimane) o docetaxel (75 mg/mq e.v. ogni tre settimane). Nivolumab si è dimostrato superiore a docetaxel in termini di OS e RR ma non sono state osservate significative differenze in PFS. Per quanto riguarda gli eventi avversi, nel braccio di nivolumab sono stati osservati meno eventi di grado 3-5 rispetto a docetaxel. Per i pazienti con tumore ad istologia squamosa il test di interazione ha suggerito una forte associazione tra espressione di PD-L1 e gli endpoints di efficacia, osservata con tutti i cut-off di espressione pre-specificati ($\geq 1\%$, $\geq 5\%$, $\geq 10\%$) [258].

Per quanto riguarda l'utilizzo di **pembrolizumab** (anticorpo monoclonale anti-PD1) in seconda linea, lo studio "KEYNOTE-010" ha randomizzato pazienti con performance status di 0-1, affetti da NSCLC avanzato con espressione di PD-L1 ≥ 1 , ed in progressione di malattia a ricevere pembrolizumab 2 mg/kg ogni tre settimane, pembrolizumab 10 mg/kg ogni tre settimane, o docetaxel 75 mg/mq ogni tre settimane. La OS mediana è stata significativamente superiore per pembrolizumab rispetto a docetaxel, sia nella popolazione generale che nella popolazione di pazienti con PD-L1 $\geq 50\%$, mentre non sono state osservate differenze significative tra i due bracci di pazienti trattati con pembrolizumab. La PFS mediana è stata significativamente maggiore per pembrolizumab rispetto a docetaxel nella popolazione di pazienti con PD-L1 $\geq 50\%$ ma nella popolazione generale non è stata raggiunta la soglia pre-specificata di significatività statistica. In termini di RR, pembrolizumab si è dimostrato superiore a docetaxel sia nella popolazione generale che nella popolazione con PD-L1 $\geq 50\%$. Gli eventi avversi di grado 3-5 sono stati più frequenti nel braccio del docetaxel che nei due bracci del pembrolizumab [259].

Per quanto riguarda l'utilizzo di **atezolizumab** (anticorpo monoclonale anti-PD-L1) in seconda linea, lo studio OAK ha randomizzato i pazienti a ricevere atezolizumab (1200 mg ev) o docetaxel (75 mg/mq), ogni tre settimane. La OS mediana è stata significativamente maggiore per atezolizumab rispetto a docetaxel, sia nella popolazione generale, nella popolazione PD-L1 positiva, nei pazienti con assenza di espressione di PD-L1 sulle cellule tumorali e sulle cellule dell'infiltrato infiammatorio. Nei pazienti con alta espressione di PD-L1 ($\geq 50\%$ delle cellule tumorali, TC3, o $\geq 10\%$ delle cellule dell'infiltrato infiammatorio, IC3) il vantaggio è anche maggiormente rilevante. Non veniva osservata una differenza significativa tra i due bracci in termini di PFS, ad eccezione del sottogruppo di pazienti ad alta espressione di PD-L1 (TC3 o IC3), in cui vi era un vantaggio per atezolizumab. In termini di RR non vi erano significative differenze tra i due bracci nella ITT, ma nel sottogruppo di pazienti ad alta espressione di PD-L1 (TC3 o IC3) la RR era superiore per atezolizumab rispetto a docetaxel. Atezolizumab è risultato meglio tollerato di docetaxel, con una minore incidenza di eventi avversi di grado 3-4 correlati al trattamento [260].

Sulla base di questi dati, in Italia:

- **Nivolumab** (alla dose flat di 240 mg e.v. ogni due settimane) è approvato per il trattamento del NSCLC avanzato dopo una precedente chemioterapia, indipendentemente dall'espressione di PD-L1;
- **Pembrolizumab** (alla dose di 200 mg dose flat ev ogni tre settimane) è approvato per il trattamento del NSCLC avanzato con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$ dopo almeno una precedente chemioterapia (i pazienti positivi per EGFR o ALK devono aver

ricevuto anche una terapia a bersaglio molecolare prima di ricevere pembrolizumab);

- **Atezolizumab** (alla dose flat di 1200 mg ev ogni tre settimane) è approvato per il trattamento del NSCLC avanzato dopo una precedente chemioterapia, indipendentemente dall'espressione di PD-L1 (i pazienti positivi per EGFR o ALK devono aver ricevuto anche una terapia a bersaglio molecolare prima di ricevere atezolizumab).

FATTORI PROGNOSTICI E PREDITTIVI

I **fattori prognostici** sono definiti come variabili, misurate prima del trattamento, che hanno un impatto sull'outcome clinico di un paziente in maniera indipendente dal tipo di trattamento ricevuto. Gli outcome sono spesso definiti come sopravvivenza globale (OS), sopravvivenza libera da progressione (PFS), risposta al trattamento antitumorale, tasso di sopravvivenza libera da malattia, percentuale di pazienti vivi in un determinato momento temporale. Le informazioni sui fattori prognostici sono importanti per la stratificazione dei pazienti nei protocolli di sperimentazione clinica e per l'individuazione di un piano di assistenza al paziente [261].

Al contrario, i **fattori predittivi** si riferiscono alla probabilità che un paziente risponderà più favorevolmente a una particolare terapia. I fattori predittivi sono importanti da considerare quando si selezionano i pazienti che potrebbero rispondere ad una determinata terapia e quando si valutano più opzioni di trattamento disponibili per un particolare paziente.

Se da una parte ci sono stati progressi nelle opzioni terapeutiche per il NSCLC avanzato (stadio III / IV), in particolare per i sottogruppi di pazienti che si qualificano per il trattamento con nuovi agenti target, tuttavia non è chiaro il significato di questi vantaggi e benefici in rapporto alle molteplici caratteristiche dei pazienti e la notevole eterogeneità dell'effetto del trattamento (HTE). I fattori prognostici e predittivi influenzano l'HTE, pertanto l'identificazione di questi fattori nello sviluppo di nuove terapie fornirà preziose informazioni per migliorare i risultati clinici e la qualità della vita correlata alla salute dei pazienti [262].

Questi fattori possono essere classificati come:

- **Fattori tumore-correlati:** istotipo, stadio, tumor burden, dimensione ed estensione del tumore, alterazioni biomolecolari e laboratoristiche;
- **Fattori paziente-correlati:** performance status, età, sesso, peso, comorbidità, abitudine tabagica.
- **Fattori ambientali:** opzioni terapeutiche.

Fattori tumore-correlati

1. **Istotipo:** secondo alcuni studi l'istologia tumorale può essere un fattore prognostico indipendente sebbene non riproducibile, eccetto per il fatto che tumori con caratteristiche neuroendocrine sembrano avere una prognosi peggiore. Il sottotipo potrebbe essere importante in termini di prognosi; l'adenocarcinoma in situ, l'adenocarcinoma minimamente invasivo e quello con crescita lepidica predominante sembrano essere i sottotipi a prognosi migliore mentre l'adenocarcinoma di tipo micropapillare e solido con produzione di mucina potrebbero essere associati con una scarsa sopravvivenza [262].
2. **Stadio:** c'è un'associazione significativa tra stadio di malattia e risposta o sopravvivenza. Gli stadi meno avanzati sono associati ad un outcome migliore in tutti gli studi presi in esame [262].
3. **Tumor Burden:** Nei pazienti metastatici, la presenza di un singolo sito metastatico è meno dannosa rispetto alla presenza di metastasi multiple. Diversi studi hanno evidenziato un'associazione significativa tra un elevato numero di siti metastatici e un OS peggiore. In aggiunta, anche la presenza di metastasi a livello epatico è associata a un OS peggiore [262].
4. **Dimensioni ed estensione del tumore:** un aumento delle dimensioni del tumore correla con una prognosi peggiore. Il coinvolgimento dei linfonodi è un importante fattore prognostico che ha anche impatto sulla possibilità di trattamento chirurgico. La disseminazione pleurica del tumore è un fattore prognostico negativo. L'invasione vascolare è associata a un maggior rischio di ricaduta e morte [262].
5. **Alterazioni biomolecolari:** Secondo diversi studi il sottogruppo di pazienti che beneficia dei TKIs in termini di progressione libera da malattia è quello con la mutazione somatica del gene EGFR (esone 19 e 21). La mutazione di KRAS invece è un fattore predittivo negativo nell'utilizzo dei TKIs nel NSCLC avanzato. L'espressione della mutazione EML4-ALK è mutualmente esclusiva rispetto a KRAS e EGFR e non ha alcun valore prognostico ma è un fattore predittivo per l'efficacia di crizotinib, inibitore di ALK. Non tutti i pazienti beneficiano della chemioterapia adiuvante e quindi sono stati studiati alcuni biomarcatori per identificare i sottogruppi di pazienti sensibili. È stato evidenziato che i pazienti senza o con bassa espressione di ERCC1 beneficiano maggiormente della chemioterapia [262].

6. **Alterazioni laboratoristiche:** possono essere fattori prognostici e predittivi negativi

- Linfopenia e neutropenia si associano ad outcome peggiori e scarsa risposta alla terapia.
- CYFRA 21.1, NSE: fattori prognostici negativi, associati in maniera significativa alla sopravvivenza. Elevati livelli di CYFRA 21.1 preoperatori sono stati associati ad un alto rischio di ricaduta.
- Fosfatasi alcalina: elevati livelli sono un fattore prognostico negativo.
- LDH: la sopravvivenza è minore se la lattato deidrogenasi risulta elevata.
- Calcemia: livelli nella norma sono un fattore prognostico favorevole.
- Albumina: è associata in maniera significativa con OS e PFS e bassi livelli di albumina si associano ad outcome peggiori.
- Emoglobina: l'anemia è fattore prognostico indipendente nei pazienti con cancro. La concentrazione di hb nel sangue risulta infatti essere un fattore prognostico e più alti livelli di hb sono associati a un outcome migliore. Livelli di hb < 12 g/dl potrebbero essere associati ad una più alta mortalità.
- Iponatremia, fattore prognostico e predittivo negativo per i pazienti con NSCLC [263-265].

Fattori paziente-correlati

1. **Performance status:** la maggior parte degli studi hanno valutato il Performance Status (PS) con la scala ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group). Un'altra scala, ma meno utilizzata, è la KPS (Karnofsky Performance Status) la quale categorizza i pazienti con un punteggio da 0 a 100. Un PS migliore è correlato ad un outcome più favorevole (Tabella 6) [266, 267].

Grado	ECOG
0	Completamente attivo e in grado di eseguire tutte le attività precedenti alla malattia senza limitazioni
1	Limitato nelle attività fisicamente ardue ma in grado di eseguire lavori leggeri o sedentari
2	Capace di provvedere completamente a sé stesso, ma incapace di eseguire attività lavorative di qualsiasi grado. In piedi per più del 50% delle ore di veglia.
3	Capace di provvedere a sé stesso solo limitatamente. Confinato a letto o in poltrona per più del 50% delle ore di veglia.
4	Completamente inabile. Non in grado di provvedere a sé stesso. Completamente confinato a letto o in poltrona.
5	Decesso

Tabella 6 - ECOG-PS

2. **Età:** nella malattia avanzata non resecabile è stato evidenziato che l'età è un fattore prognostico positivo se il paziente è giovane, al contrario i pazienti anziani hanno un impatto peggiore per quanto riguarda i rischi associati [268].
3. **Sesso:** secondo alcune metanalisi il sesso femminile è un fattore prognostico positivo, associato ad outcome migliori [268].
4. **Calo ponderale e BMI:** alcuni studi hanno riportato l'associazione significativa tra perdita di peso/BMI e sopravvivenza. È stato evidenziato che una minor perdita di peso o un normale BMI alla diagnosi sono associati ad outcome favorevoli [269].
5. **Comorbidità:** diversi studi hanno valutato le comorbidità; alcuni di questi hanno riportato un'associazione significativa tra le patologie concomitanti nel paziente e la risposta alla terapia, confermando che un carico minore di comorbidità è associato ad outcome migliori [262].
6. **Abitudine tabagica:** l'abitudine tabagica è stata valutata come un fattore prognostico nella sopravvivenza o nella risposta alla terapia. La cessazione dell'abitudine tabagica o l'utilizzo di un numero minore di sigarette è stato associato a risultati migliori [262].

Fattori ambientali

1. **Tecniche chirurgiche:** le procedure chirurgiche più estese della lobectomia sembrerebbero essere un fattore prognostico negativo ma questa variabile potrebbe essere correlata semplicemente ad altri fattori che portano alla decisione di intraprendere questo tipo di chirurgia [262].
2. **Precedente terapia:** secondo alcuni studi la terapia somministrata precedentemente nei pazienti che stanno per intraprendere una seconda linea di trattamento sembra essere significativamente associata con la risposta alla terapia stessa. È stato evidenziato che una precedente radioterapia non è associata in maniera significativa a una migliore sopravvivenza mentre una buona risposta al trattamento di prima linea è associata a risultati migliori [262].

IMMUNOTERAPIA E FATTORI PREDITTIVI

Immunoterapia nel tumore polmonare

L'immunoterapia ha precedentemente fallito nel tumore polmonare ma in seguito allo sviluppo e all'utilizzo di nuovi farmaci capaci di ostacolare l'immunosoppressione generata dal microambiente tumorale, l'oncologia vive una nuova pagina della sua storia, grazie all'immunoterapia, che già in passato si era rivelata efficace nel trattamento di alcune neoplasie considerate immuno-responsive [270].

Nonostante il successo di diverse immunoterapie in Italia nei confronti di alcuni tumori solidi, l'immunoterapia nel carcinoma polmonare ad oggi non aveva mostrato significativi benefici in termini di sopravvivenza. Tuttavia di recente c'è stato un rinnovato interesse per l'immunoterapia del cancro del polmone a seguito di risultati positivi ottenuti usando gli inibitori del checkpoint immunitario, che agiscono modulando le interazioni delle cellule T con le cellule presentanti l'antigene (APC) o con le cellule tumorali, portando così al ripristino della risposta immunitaria soppressa [271].

L'immunoterapia con gli inibitori delle molecole del check-point immune (gli anticorpi anti-PD-1 ed anti-PD-L1) sta emergendo come un importante strumento nel trattamento di diversi tumori, con l'ottenimento di un beneficio clinico potenzialmente duraturo nel tempo in una buona parte dei pazienti trattati. Tuttavia, molte sono le problematiche che necessitano di essere approfondite in questo contesto. Un esempio sono i biomarker predittivi di risposta al trattamento che, se per gli inibitori delle tirosin chinasi sono conosciuti e rappresentati dalle mutazioni target, per l'immunoterapia sono assenti. Questi sarebbero utili per una migliore selezione dei pazienti candidabili alla terapia, insieme ovviamente a fattori come l'età, il performance status (PS), le comorbidità, l'istologia e la patologia molecolare. [270, 272].

Storia e razionale dell'immunoterapia nel tumore polmonare

La crescita e la diffusione del cancro non dipendono solo dalle caratteristiche delle cellule tumorali, ma sono anche influenzate dall'interazione con il sistema immunitario. L'uso dell'immunoterapia per il trattamento dei tumori è stato descritto più di un secolo fa dal dott. William B. Coley. Coley ha usato quella che fu in seguito conosciuta come "tossina di Coley", un vaccino streptococcico, che incorporava la *Serratia marcescens*, per trattare una varietà di malattie maligne. In seguito ha osservato che la migliore risposta è stata raggiunta nei pazienti con sarcomi dei tessuti molli non operabili, dove la sopravvivenza libera da malattia a lungo termine (oltre 5 anni) è stata raggiunta dalla metà dei pazienti trattati [271].

È ben noto come la presenza della neoplasia evochi una risposta da parte del sistema immunitario, che inizialmente riconosce e rimuove le cellule tumorali (**elimination**). Successivamente subentra una fase di equilibrio tra i due sistemi (**equilibrium**) ed infine il tumore, attraverso lo sviluppo di numerosi meccanismi di evasione, progredisce e metastatizza (**escape**). Le tre fasi sopracitate riassumono brevemente ciò che avviene nel processo dell'immuno-editing, un *hallmark del cancro* (Figura 17) [270].

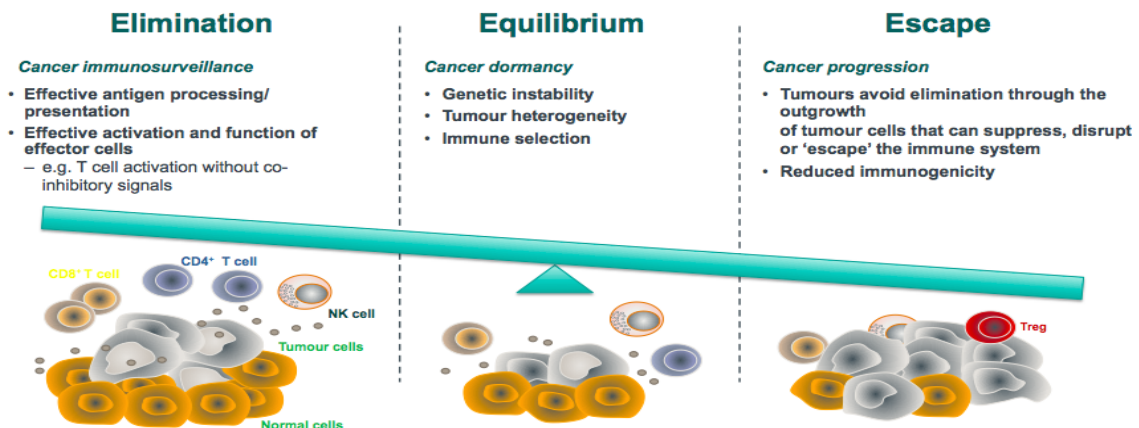


Figura 17 - Le tre fasi dell'immunoediting

La definizione di cancer hallmarks è rappresentata da "l'insieme di caratteristiche acquisite evolutive-vantaggiose che promuovono in modo complementare la trasformazione delle cellule fenotipicamente normali in cellule maligne e la progressione delle cellule maligne a discapito dell'ospite". Ad oggi conosciamo sette distintivi hallmarks (Figura 18):

- Crescita selettiva e vantaggio proliferativo
- Risposta allo stress alterata che favorisce la sopravvivenza globale.
- Vascolarizzazione, invasione e metastasi.
- Ricablaggio metabolico.
- Microambiente favorevole.
- Modulazione immunitaria o immuno-editing [273].

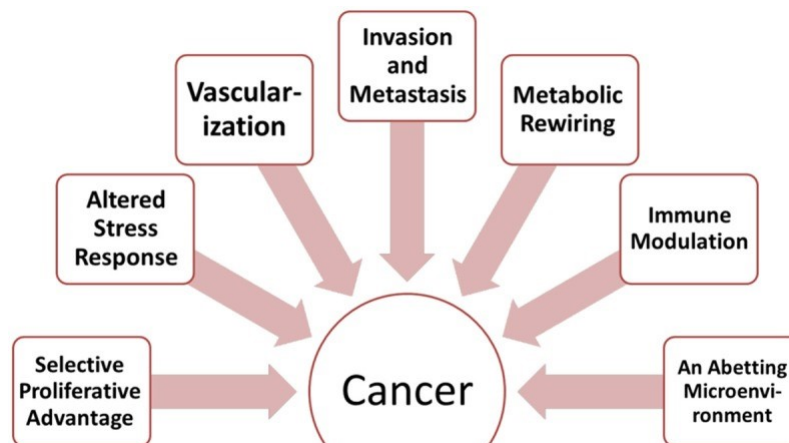


Figura 18 – Gli Hallmarks del cancro rivisitati

La risposta immunitaria al tumore

Il sistema immunitario è un sistema complesso che il cancro sfrutta al fine di eludere il rilevamento e l'eliminazione delle cellule tumorali. Il ciclo immunitario del cancro proposto da Chen e colleghi riassume i vari passaggi con cui il sistema immunitario riconosce e uccide le cellule tumorali. Questo ciclo si basa sul riconoscimento e l'elaborazione di neoantigeni specifici del tumore da parte delle cellule dendritiche. I neoantigeni sono presentati tramite il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), molecole di classe I e II presenti sulle cellule presentanti l'antigene (APC) e che legano il corrispondente recettore delle cellule T (TCR). Le cellule T naïve possono quindi proliferare e diventare cellule T di memoria, cellule T effettrici o cellule T esaurite. Questa risposta è bilanciata dalla presenza di cellule T regolatorie (Tregs) che limitano i danni nei confronti di antigeni self non tumorali. Queste cellule T effettrici attivate vengono successivamente reclutate nel microambiente tumorale (TME) con l'obiettivo di distruggere le cellule tumorali. I neoantigeni rilasciati dalle cellule tumorali distrutte ampliano e rinnovano il ciclo. Il cancro è in grado di alterare questo ciclo a suo vantaggio e promuovere la sua sopravvivenza.

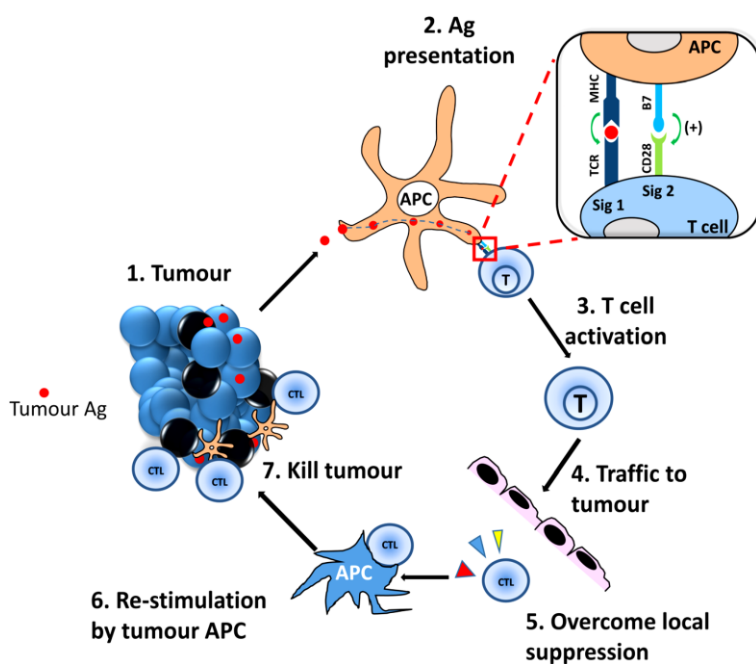
Chen e Mellman hanno proposto l'esistenza di un set point immunitario del cancro che si basa sull'equilibrio tra fattori immunostimolatori e inibitori, entrambi influenzati dal tumore, dalla genetica dell'ospite e dall'ambiente [274].

Nello specifico il processo di distruzione immunitaria dei tumori da parte di un cluster specifico di linfociti T CD8 si articola in sette step (Figura 19).

Ognuno di questi passaggi è richiesto, e ciascuno può essere regolato per rafforzare o ridurre la risposta e per evitare "danni collaterali" ai tessuti normali:

1. I neoantigeni tumorali devono essere presenti sul tumore.
2. Questi antigeni devono raggiungere le APC (come le cellule dendritiche) dove possono presentare l'antigene alle cellule immunitarie a livello del linfonodo drenante.
3. Le cellule T tumore specifiche devono quindi rilevare questi antigeni attraverso il riconoscimento del MHC tramite il loro T cell receptor (TCR) e ricevere i corretti segnali costimolatori insieme ad altri aiuti (come il legame di CD40) prima di attivarsi e proliferare.
4. Una volta attivate le cellule T specifiche del tumore, queste escono dal linfonodo drenante e vanno nel circolo periferico, attraverso cui riescono ad entrare nel microambiente tumorale.
5. Una volta dentro il tumore, queste cellule T incontrano una serie di meccanismi immunosoppressivi locali che devono superare.

6. Probabilmente all'interno del tumore avviene anche una restimolazione delle APC.
7. Infine, una volta che queste cellule T attivate hanno superato queste sei fasi, devono attaccare il tumore. A quel punto si attiverà un processo che comporta il riconoscimento dell'antigene espresso dal tumore e il rilascio di molecole potenti come perforina e granzimi che alla fine uccidono le cellule tumorali. Le cellule di memoria possono anche essere generate da questo processo, che può essere cruciale nel controllo delle micrometastasi emergenti [271].



Crosspresentazione dell'antigene tumorale e induzione dell'immunità antitumorale. (1) Rilascio di antigeni tumorali: gli antigeni specifici del tumore (punti rossi) vengono prelevati da cellule presentanti l'antigene (APC), come le cellule dendritiche, e migrano dal sito del tumore al linfonodo drenante. (2) Presentazione dell'antigene: quando le APC migrano, maturano mentre l'antigene tumorale viene trasformato in piccoli peptidi, che vengono poi presentati ai linfociti sulla superficie dell'APC nel contesto di un complesso peptidico MHC. (3) Attivazione delle cellule T: il riconoscimento del complesso peptidico MHC da parte del recettore delle cellule T costituisce il segnale 1. Tuttavia, è necessario un secondo segnale di co-stimolazione (CD28: B7.1 / B7.2) prima che una cellula T naïve possa diventare un linfocita T citotossico CD8 completamente attivo (CTL). L'attivazione delle cellule T può essere migliorata dalle cellule T helper CD4. (4) Traffico di cellule T: le cellule T attivate lasciano il dLN e attraverso i vasi sanguigni periferici tornano al sito tumorale. (5) Superamento della soppressione locale: i CTL attivati devono essere in grado di superare i meccanismi immunosoppressivi del tumore nel microambiente tumorale. (6) Stimolazione APC: le APC residenti nel tumore ri-stimolano i CTL antigene-specifici. (7) Uccisione del tumore: CTL specifici dell'antigene riconoscono e uccidono le cellule tumorali portatrici di antigene.

Figura 19 - Processo di distruzione immunitaria dei tumori da parte di un cluster specifico di linfociti T CD8

È importante sottolineare che ciascuna delle fasi può essere modulata, per esempio possono essere sopprese dall'azione di cellule T regolatorie CD4 (Treg), che normalmente controllano l'autoimmunità (e che possono limitare le risposte antitumorali) o potenziate da cellule T CD4 o "helper" [271].

Evasione del cancro al controllo immunitario

L'immuno editing è un processo dinamico attraverso il quale un tumore cambia la sua immunogenicità per sfuggire alla risposta immunitaria. La *fase di eliminazione* porta al rigetto delle cellule tumorali mediante l'intervento dell'immunità innata e adattiva. Lo *stato*

di equilibrio indica che i sistemi immunitari non hanno permesso la completa eliminazione delle cellule tumorali, ciò è dovuto all'instabilità genomica delle cellule tumorali che possono generare cloni con ridotta immunogenicità. Durante questa fase, il sistema immunitario può controllare la crescita tumorale. Le cellule tumorali entrano in uno stato dormiente, a volte per diversi anni. Queste sono le prime due fasi non clinicamente visibili, ma possono emergere nuove varianti di cellule tumorali, selezionando le cellule meno immunogene o cellule che ospitano mutazioni di resistenza immunitaria. Questo porta alla fase finale della *fuga immunitaria*, dove le cellule tumorali possono proliferare e superare le difese immunitarie dell'ospite. La risposta delle cellule immunitarie dipende dall'espressione di programmi genetici, che porta alla transizione tra stati quiescenti, attivati e di memoria. La risposta immunitaria è associata a drammatiche modificazioni del metabolismo dei tessuti, tra cui l'esaurimento dei nutrienti, aumento del consumo di ossigeno e generazione di azoto reattivo e intermedi dell'ossigeno [270, 275].

I principali meccanismi che possono portare alla fuga immunitaria sono:

- Ridotta espressione di antigeni sulla superficie delle cellule tumorali.
- Ridotta espressione delle principali molecole di istocompatibilità (MHC) da parte di cellule presentanti l'antigene (APC).
- Alterata co-localizzazione del recettore delle cellule T (TCR) e dei recettori co-stimolatori.
- Secrezione di citochine inibitorie e attivazione di recettori inibitori sulla superficie delle cellule T.

Questo porta a una selezione di cellule tumorali che sono resistenti alla risposta immunitaria e che generano un microambiente immunosoppressivo e pro-tumorale. Le cellule immunitarie acquisiscono difetti funzionali e entrano in uno stato iporesponsivo (o anergico) reversibile, con capacità effettrici compromesse che favoriscono la progression del tumore [270, 275].

Le cellule tumorali inoltre modificano il loro metabolismo al fine di fornire energia per la crescita e la proliferazione cellulare. La riprogrammazione metabolica è ormai un segno distintivo del cancro ed è una caratteristica mirata nella pratica clinica. Nella maggior parte dei tumori solidi, il metabolismo delle cellule tumorali è caratterizzato dall'effetto Warburg, che significa che, anche in presenza di ossigeno e mitocondri perfettamente funzionanti, le cellule tumorali preferiscono utilizzare la glicolisi aerobica e la fermentazione del lattato rispetto alla fosforilazione ossidativa. Questa riprogrammazione metabolica consente la produzione di energia, ma anche di nutrienti come lipidi, proteine o acidi nucleici, necessari per la generazione di cellule figlie.

Oltre alla dipendenza da glucosio e glutammina, le cellule tumorali si basano anche sul cosiddetto "metabolismo a un carbonio" per sostenere il loro alto tasso di proliferazione. Le unità a un carbonio sono davvero indispensabili per la produzione di nucleotidi, per i processi di metilazione e di rinnovo del pool NADH / NADPH. La via serina-glicina costituisce una delle principali fonti di unità a un carbonio e, come tale, è spesso deviato e iperattivato nei tumori per favorire la loro crescita [270, 275].

Altri esempi di come il metabolismo del cancro innesca meccanismi di fuga immunitaria sono:

- Acidificazione e accumulo di lattati.
- Espressione di Indolamina 2,3 deossigenasi (IDO) e triptofano diossigenasi (TDO).
- Mutazione dell'isocitrato deidrogenasi (IDH).
- Condizioni di ipossia che inducono l'espressione di VEGF.

Oltre alle cellule immunitarie, l'intera nicchia tumorale influenza lo stato metabolico delle cellule tumorali e viceversa. Esistono relazioni intricate tra una cellula cancerosa e il suo microambiente, tra cui cellule non tumorali come fibroblasti, adipociti, cellule endoteliali e cellule immunitarie, nonché molteplici fattori secreti solubili. Questa complessa rete guida e modella l'equilibrio metabolico del tumore e, a sua volta, il suo comportamento [275].

Il microambiente tumorale (hallmark del cancro), composto da linfociti, cellule stromali e molecole co-stimolatorie, coinvolte nella regolazione della risposta immune, è quindi divenuto e rimane oggetto d'intenso studio al fine di comprendere alcuni dei meccanismi biologici che stanno alla base della progressione della malattia neoplastica [270].

Fenotipi immunitari

Teng e colleghi hanno proposto che i tumori potrebbero essere divisi in quattro tipi sulla base della presenza o assenza di linfociti infiltranti il tumore (TILs) e sullo stato PD-L1.

Utilizzando questo modello possiamo costruire un contesto in cui l'immunoterapia può essere efficace nella maggior parte dei casi. In generale nel NSCLC si ritiene che la presenza di TILs e di un'elevata espressione di PD-L1 renderebbe più efficace la terapia con anticorpi anti PD-1/PD-L1.

Uno dei potenziali fenotipi è l'assenza di TIL in un setting dove PD-L1 è positivo. In questo scenario, il trattamento con anticorpi anti-PD-1 / PD-L1 sarebbe meno efficace e richiederebbe un diverso approccio al trattamento, come l'induzione della morte cellulare immunogenica per reclutare i TILs nel microambiente tumorale.

In uno scenario diverso, possono essere presenti TILs senza espressione di PD-L1. Ciò suggerisce che possono essere coinvolti meccanismi immunosoppressivi alternativi. Fuori dall'asse PD-1 / PD-L1 esistono altri sistemi di regolazione immunitaria come cellule mieloidi soppressorie (MDSC), macrofagi associati al tumore (TAM), cellule NK, cellule dendritiche, cellule B e varie chemochine / citochine che probabilmente giocano un grande ruolo nel TME. Complessivamente questi fattori sono alla base della complessità del sistema immunitario. Questi modelli forniscono un valido quadro per comprendere e sviluppare strategie di trattamento [274].

Meccanismi dei farmaci immunoterapici

Pathway di PD-1 e dei suoi ligandi (PD-Ls)

Il **Programmed Death-1** (PD-1 o CD279) è un co-recettore della famiglia CD28/CTLA-4, espresso sui linfociti precedentemente attivati dall'interazione con l'antigene corrispondente e per questo definiti antigen-experienced. Il suo ruolo principale è quello di limitare l'autoimmunità e di inibire l'attività delle cellule T nella periferia e nei tessuti durante la risposta infiammatoria all'infezione. PD-1 è espresso sui linfociti che infiltrano il tumore (TIL) e sui linfociti T CD8+ "disfunzionali" in vari tipi di neoplasie [270].

PD-L1 è il principale ligando di PD-1: è iper-espresso nella maggior parte dei tumori solidi (tumori del polmone non a piccole cellule, del colon retto, melanomi, carcinomi renali, dell'ovaio, gliomi, neoplasie della mammella, etc). Il suo ruolo è inibire la produzione di citochine e, conseguentemente, l'attività citolitica dei linfociti T CD4+ e CD8+ PD-1+ che infiltrano il tumore. Queste proprietà hanno reso il PD-L1 un potenziale e promettente target, ma anche un possibile biomarker predittivo di risposta all'immunoterapia con i farmaci anti-PD-1 ed anti-PD-L1. Tra i linfociti T CD4+, la sottopopolazione dei follicular helper (Tfh) esprime i livelli più elevati di PD-1. Il pathway PD-1/PD-L1 svolge infatti un ruolo importante nella regolazione dei processi di differenziazione dei CD4+ e della funzione delle cellule Tfh. Le cellule T regolatorie (Tregs) esprimono sia PD-1 che PD-L1, entrambi coinvolti nella modulazione dell'attività di soppressione e di limitazione delle reazioni che avvengono nel centro germinativo. Ciò potrebbe costituire un ulteriore meccanismo immunosoppressivo nel microambiente tumorale ricco in ligandi per il PD-1. Nei linfociti B attivati dei centri germinativi il PD-1 è up-regolato, insieme al PD-L1 ed al PD-L2. Il legame di PD-1 con il PD-L1 inibisce il segnale generato dal BCR (B cell receptor) e media la deplezione dei linfociti B della memoria attivati [270].

Pathway di CTLA-4

La **proteina citotossica dei T-linfociti antigene-4** (CTLA-4) è espressa sulla superficie delle cellule T e compete con CD28 per il legame B7 in modo inibitorio, quindi fungendo da soppressore dell'attivazione delle cellule T. Gli inibitori del CTLA-4 sono stati ben studiati e sono tra i primi inibitori del checkpoint immunitario nello sviluppo clinico. Anticorpi anti-CTLA-4 bloccano l'inibizione dell'attivazione delle cellule T CD28 / B7 e, a sua volta, svolgendo così un'attività antitumorale [271].

Attualmente, l'immunoterapia maggiormente riconosciuta dal punto di vista clinico è quella basata sugli agenti che prendono di mira PD-1 / PDL-1 e CTLA-4. In particolare la strategia terapeutica che prende di mira il pathway PD-1/PD-L1 sta recentemente prendendo campo; essa funziona attraverso un meccanismo che impedisce la fuga delle cellule tumorali dalla sorveglianza immunitaria, ripristinando la funzione del sistema immunitario dell'ospite per attaccare le cellule tumorali. [35] Il blocco programmato del checkpoint PD-1/PD-L1 utilizza anticorpi diretti contro il recettore PD-1 o contro il suo ligando PD-L1. Contrariamente agli inibitori CTLA-4, che sembrano funzionare nel carcinoma polmonare solo se usato in combinazione con chemioterapia, il blocco del checkpoint PD-1/PD-L1 ha mostrato attività terapeutica come singolo agente in NSCLC.

Gli agenti immunoterapici principalmente utilizzati sono:

- Nivolumab, un anticorpo monoclonale IgG4 contro PD-1.
- Pembrolizumab, inibitore di PD-1.
- Atezolizumab, anticorpo monoclonale umanizzato IgG1 contro PD-L1.
- Ipilimumab, un anticorpo completamente umanizzato che lega CTLA-4. [68]
- Durvalumab, anticorpo monoclonale IgG1 umanizzato anti PD-L1, che ha mostrato un potenziale di miglioramento nella sopravvivenza libera da progressione in pazienti con NSCLC localmente avanzato, in stadio III non resecabile [71].

A seguito dell'introduzione di questi nuovi agenti, in particolare degli inibitori del pathway PD-1/PD-L1, emerge la necessità di identificare dei biomarker che ne predicano l'efficacia, ovvero che possano indicare il sottogruppo di pazienti con maggiori probabilità di trarre beneficio da queste terapie [270].

Fattori prognostici e predittivi dell'immunoterapia

Nell'era della medicina di precisione è della massima importanza comprendere i meccanismi con cui i pazienti non hanno risposta/producono resistenza ai farmaci inibitori del checkpoint immunitario (CPI), al fine di selezionare i pazienti adatti al trattamento. Per questo motivo è fondamentale conoscere quali sono i fattori prognostici e predittivi dell'immunoterapia, che dipendono dallo stato immunologico intrinseco del paziente [276].

Tabella 7 - Fattori associati con la risposta alla terapia anti PS-1 / PD-L1.

CLASSIFICAZIONE	BIOMARKERS	INFLUENZA
Fattori clinici rilevanti	Età	Pazienti più anziani hanno scarsa risposta agli ICBs.
	Sesso	Pazienti maschi rispondono meglio agli ICBs.
	Dieta	Obesità peggiora la progressione tumorale mentre l'aumento del catabolismo degli acidi grassi migliora la terapia anti-PD.
	Infezioni virali	Le infezioni da MCV e EBV provocano una risposta migliore alla terapia anti-PD.
Meccanismi autonomi del tumore	Carico mutazionale/antigenico del tumore	Un elevato carico mutazionale/antigenico aumenta l'efficacia degli ICBs.
	Espressione di PD-L1	Un'elevata espressione di PD-L1 migliora la terapia con anti-PD.
Microambiente tumorale	Cellule	Un aumento dei TILs migliora la risposta agli ICBs mentre TREGs e MDSCs ne alterano l'efficacia.
	Pattern immunoterogolatore	L'inibizione di chemochine TH1, CD28/B7, IFN e l'attivazione di TGFβ, TIM3 porta alla resistenza al blocco di PD.
Fattori legati all'ospite	Marcatori nel sangue periferico	L'aumento di eosinofili, linfociti, monociti e bassi livelli di LDH migliorano il blocco di PD.
	MHC di classe I	Alterazione delle molecole MHC di classe I porta alla resistenza alla terapia con anti-PD.
	Repertorio TCR	Un repertorio TCR meno vario aumenta la risposta agli anti-PD.
	Microbiota intestinale	La specie <i>Bacteroides species</i> facilita gli anti-CTLA. <i>Bifidobacterium</i> , <i>Akkermansia muciniphila</i> , <i>Ruminococcaceae bacteria</i> , facilitano gli anti-PD.

Possiamo suddividere questi fattori in categorie:

Caratteristiche del tumore:

- **Tumor burden:** si riferisce alla quantità totale di tessuto neoplastico nel corpo. Un elevato carico tumorale è definito come la quantità totale di tessuto neoplastico nell'organismo. I pazienti con elevato carico di malattia hanno generalmente un esito peggiore. Le metastasi epatiche e ossee nel caso di tumore polmonare siano associate ad un tumor burden elevato ed outcome peggiore [276, 277].
- **Mutational load e deficit del mismatch repair/instabilità microsatellitare:** è stato evidenziato che il tumor mutational burden (TMB), principalmente determinato dal sequenziamento, è ampiamente associato alla risposta ai CPI. Studi clinici suggeriscono la correlazione positiva tra carichi mutazionali tumorali elevati e miglioramento dell'efficacia clinica delle terapie basate su CPI (compresi anti-PD-1, anti-PD-L1 e anti-CTLA-4) in NSCLC e melanoma. Il sistema di mismatch repair (MMR) si occupa della correzione degli errori insorti durante la duplicazione del DNA come inserzioni e delezioni. Si è visto che il deficit di questo sistema (dMMR) porta all'accumulo di mutazioni e alla produzione di potenziali neoantigeni. In aggiunta è stata rilevata un'alta concordanza tra dMMR e instabilità dei microsatelliti (MSI). In effetti la causa principale dell'MSI è la variazione epigenetica o genetica della MMR. MSI / dMMR si associano a prognosi favorevole in pazienti sottoposti a terapia anti-PD-1 / PD-L1 [276, 277].
- **TIL:** l'infiltrato linfocitario tumorale (TIL) è un componente che influenza il microambiente immunitario del tumore. Il TIL preesistente a livello tumorale viene stimolato dagli inibitori PD-1 / PD-L1 e quindi contribuisce alla regressione del tumore [276, 277].
- **PD-L1:** in certi tipi di cancro (ad es. melanoma, NSCLC, carcinoma del pancreas, cancro della mammella e tumori stromali gastrointestinali), l'espressione di PD-L1 è sovraregolata e associata a prognosi sfavorevole. L'upregolazione del tumore PD-L1 riflette una dinamica negativa dell'attività immunitaria nel microambiente tumorale nella TME ed è la premessa della terapia anti-PD-1 / PD-L1. Finora, PD-L1 è uno dei biomarcatori più studiati e ampiamente utilizzati. Gli studi su NSCLC hanno dimostrato che i pazienti con elevata espressione di PD-L1 sulla superficie delle cellule tumorali ottiene delle risposte cliniche significativamente migliori agli inibitori PD-1 / PD-L1 [276, 277].

- **Mutazioni attivanti:** è stato riscontrato che alcune mutazioni driver influenzano l'espressione di PD-L1 come la mutazione di EGFR, KRAS e ALK. La mutazione di EGFR upregola l'espressione PD-L1 e impedisce l'attivazione di TIL. Contrariamente alle aspettative, i pazienti con questa mutazione tendono ad avere una risposta più scarsa rispetto ai pazienti con EGFR wild type durante la terapia anti-PD-1 / PD-L1. Per contro, una meta-analisi ha rivelato che i pazienti con NSCLC con mutazione di KRAS hanno maggiori probabilità di appartenere al sottotipo positivo di PD-L1. Inoltre, il riarrangiamento di ALK nei miofibroblasti infiammatori del tumore è correlato alla riduzione di CD8+TIL e alla downregulation dell'espressione di PD-L1. Pertanto i pazienti con traslocazione di ALK e mutazioni attivanti di EGFR hanno meno probabilità di rispondere ad immunoterapia [276, 277].
- **Espressione di IFN-gamma:** la via di segnalazione dell'IFN- γ è un'arma a doppio taglio nella sorveglianza immunitaria. Da un lato la cellula T CD8 + inibisce la proliferazione delle cellule tumorali e migliora l'attività immunitaria secernendo IFN- γ . Dall'altro IFN- γ delle cellule T upregola l'espressione di PD-L1 sulle cellule tumorali come scudo per proteggere le stesse dalla sorveglianza immunitaria. Si ritiene che l'espressione di IFN- γ sia un fattore predittivo di un microambiente immunitario tumorale favorevole per la terapia anti-PD-1 / PD-L1 [276, 277].

Caratteristiche del sistema immunitario:

- **Comorbidità:** la BPCO partecipa all'oncogenesi e l'associata infiammazione cronica riesce a influenzare anche l'ambiente immunitario del tumore polmonare. i pazienti con tumore al polmone che presentano anche BPCO tendono ad avere un valore più elevato di marker inibitori della risposta immunitaria come PD-1 e TIM-3, che indicano un maggior esaurimento del TIL a confronto con i pazienti senza BPCO. Inoltre per quanto riguarda le comorbidità è stato evidenziato che pazienti con storia familiare multipla per cancro hanno un tasso di risposta maggiore e un outcome più favorevole [276, 277].
- **Infezioni virali:** disturbi del sistema immunitario e fallimento nell'eradicazione del tumore possono derivare da infezioni virali, le quali possono anche avere un impatto sulla risposta al trattamento con CBIs. Teoricamente, i virus oncogeni possono fungere da forti antigeni tumore specifici, e le cellule tumorali dovrebbero così poter eludere il monitoraggio immunitario [276, 277].

Farmaci concomitanti:

- **Corticosteroidi:** i corticosteroidi sono spesso usati nella pratica clinica per trattare il dolore e l'emesi e per alleviare i sintomi respiratori o neurologici correlati alla diffusione metastatica. Tenendo presente l'effetto immunosoppressore, questi farmaci sono comunemente controindicati nei pazienti con tumore che iniziano una terapia con inibitori del checkpoint immunitario. I dati in letteratura hanno mostrato che una dose di corticosteroidi ≥ 10 mg di prednisone equivalente è correlata a una progressione libera da malattia (PFS) e ad una sopravvivenza globale (OS) più scadenti nei pazienti con NSCLC trattati con farmaci anti PD-1/PD-L1 [278].
- **Opiacei:** In letteratura è nota l'attività immunosoppressiva degli oppioidi, mediata da effetti diretti e indiretti. Le evidenze pre-cliniche hanno sottolineato che questi possono interferire con la risposta immunitaria innata e adattativa. Diversi studi hanno mostrato la presenza di recettori degli oppioidi nei modelli *in vitro* di cellule immunitarie, le quali giocano un ruolo vario nell'attivazione e nell'inibizione della secrezione di Ig [279], nella proliferazione di cellule T e nella produzione di citochine [280], mentre gli effetti sulle cellule NK sono ancora discussi [281-284]. Gli effetti indiretti noti, invece, coinvolgono il sistema neuroendocrino [285].
- **Cardioaspirina:** L'acido acetil salicilico, bloccando irreversibilmente le ciclossigenasi che innescano la produzione di citochine infiammatorie sembrano migliorare l'efficacia dell'immunoterapia [286].

Parametri di laboratorio:

- **Cellule nel sangue:** la conta dei neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili e PRC sembra avere un ruolo prognostico e predittivo importante nella risposta al trattamento. Questo emerge da uno studio su pazienti con NSCLC trattati con nivolumab, i cui risultati ematici (neutrofili $>7500/\text{mmc}$, linfociti $<1000/\text{mmc}$ ed eosinofili $>150/\text{mmc}$) sono stati associati a migliori PFS e OS. Inoltre un numero elevato di monociti periferici CD14 + CD16-HLA-DRhi monociti in condizioni basali si associa ad un tasso di risposta più elevato nella terapia anti-PD-1 / PD-L1. Oltretutto, i pazienti che rispondevano tendevano ad avere una riduzione delle cellule T nel sangue periferico rispetto a pazienti non rispondenti. Presumibilmente, il monocita CD14 + CD16-HLA-DRhi promuove l'infiltrazione delle cellule T dal sangue periferico nell'ambiente tumorale con conseguente aumento dell'attività delle cellule T di distruzione delle cellule tumorali. Una recente metanalisi ha

valutato il ruolo prognostico del rapporto neutrofili-linfociti (NLR) nei pazienti trattati con immunoterapia, mostrando che un NLR elevato comporta un peggioramento di OS e PFS [276, 277].

- **DNA tumorale circolante:** è stato osservato in uno studio che il DNA tumorale circolante (ctDNA) nel paziente rispondente è diminuito rapidamente in 5 giorni dopo la prima somministrazione di nivolumab. Il fenomeno è significativo che il cambiamento del valore di ctDNA precede la seconda somministrazione dell'immunoterapico e anche le variazioni radiologiche [276, 277].
- **Citochine circolanti e altri parametri:** elevati livelli di IFN- γ , IL-6 e IL-10 nel sangue periferico si sono dimostrati rilevanti per un aumento del tasso di risposta obiettiva in uno studio del 2006 nei pazienti con melanoma trattati con nivolumab. Le citochine periferiche riflettono lo stato del microambiente immunitario tumorale e la risposta al trattamento anti-PD-1 / PD-L1. La prolattina (PRL) partecipa alla maturazione e attivazione dell'immunità mentre elevati valori di PRL inibiscono la risposta immunitaria di IL-10. Sapendo che il fattore di crescita endoteliale vascolare derivato dal tumore (VEGF) promuove la progressione del tumore mediante l'angiogenesi e l'immunosoppressione nel microambiente tumorale, è stato evidenziato che i pazienti che ricevono anti-PD-L1 combinato con terapia anti-VEGF mostrano un tasso di risposta più elevato rispetto alla monoterapia. Dall'analisi del CYFRA 21.1 è emerso che un valore pre-trattamento di CYFRA21-1 >2.2 ng/dl si associa a migliore OS e PFS [276, 277].

Caratteristiche del paziente (Figura 20):

- **Sesso:** sostanziali diversità dipendenti dal sesso nell'immunità innata e adattativa sono state evidenziate in molteplici studi, insieme a differenti suscettibilità e funzione immunitaria alle infezioni e alle malattie autoimmuni tra maschi e femmine. È interessante notare che il genere gioca un ruolo considerevole in risposta ai CPI. Una revisione sistematica sulla relazione tra efficacia e sesso dei pazienti indica che l'efficacia dei trattamenti basati su CPI dipendono dal sesso, con maggiore beneficio nei pazienti maschi in tutti i tipi di cancro studiati. Allo stesso modo, un altro studio mostra che un ulteriore miglioramento della sopravvivenza derivante dal trattamento con CPI è stato osservato nei maschi rispetto alle femmine e la sopravvivenza dei pazienti trattati con anti-CTLA-4 è più influenzata dal sesso rispetto a quelli che ricevono anti- PD-1 [276, 277].

- **Età:** l'invecchiamento è comunemente correlato con un'attività immunitaria limitata e disfunzionale, caratterizzata da una proliferazione ridotta di linfociti e aumento delle cellule T esauste, con conseguente suscettibilità a varie malattie e aumento dell'incidenza del cancro. Studi attuali hanno dimostrato che la terapia con CPIs fornisce notevoli vantaggi in tutte le età dei pazienti con NSCLC ad eccezione dei pazienti con età ≥ 75 anni. Pertanto, l'età alla diagnosi può influenzare l'efficacia e il tasso di effetti collaterali dei trattamenti immunoterapici [276, 277].
- **Microbiota intestinale:** il microbiota intestinale umano contiene un elevato numero di batteri, i quali sono strettamente correlati al mantenimento della salute assorbendo i nutrienti, degradando gli xenobiotici, regolando l'omeostasi epiteliale e difendendo l'ospite da potenziali agenti patogeni. Disturbi del microbiota intestinale sono coinvolti nella partecipazione allo sviluppo non solo del tumore del colon-retto ma anche di tumori extraintestinali. Studi precedenti hanno rivelato l'influenza del microbiota intestinale sull'efficacia clinica dei chemioterapici antitumorali. Inoltre, indagini successive hanno trovato correlazione tra il microbiota intestinale e la risposta clinica ai CPIs. In primo luogo si è scoperto che gli effetti del blocco CTLA-4 dipendono da specie distinte di *Bacteroides*, *B. thetaiotaomicron* o *B. fragilis*. Allo stesso modo è stato evidenziato che l'immunità antitumorale indotta da anti PD-L1 in modelli murini è associata alla presenza del *Bifidobacterium*, che potrebbe migliorare l'effetto attraverso il potenziamento delle funzioni delle cellule dendritiche, andando successivamente ad aumentare anche l'accumulo di cellule T CD8 nel TME. Di recente, il valore predittivo del microbiota intestinale è stato verificato anche nell'uomo. Routy et al. hanno evidenziato che l'anormale composizione del microbiota intestinale causata dagli antibiotici può portare alla resistenza primaria ai CPIs e che il trapianto di microbiota fecale da pazienti che rispondono a CPIs in pazienti non responder può ripristinare o migliorare la reattività [276, 277].
- **Dieta:** una dieta sana con un apporto sufficiente di nutrienti è importante per il mantenimento di una potente difesa immunitaria contro agenti patogeni invasori, in particolare per i pazienti che combattono la progressione tumorale. È stato riferito che una dieta squilibrata può portare a un'immunità ridotta e ad accelerato sviluppo della malattia e che l'obesità è associata a infiammazione cronica, sviluppo tumorale ed esaurimento dell'infiltrazione dei linfociti all'interno del TME [276, 277].

- **Performance Status:** da alcuni studi è emerso che i pazienti con EGO $\geq$ hanno outcome peggiore rispetto a pazienti con ECOG <2 nel trattamento con l'immunoterapia [276, 277].

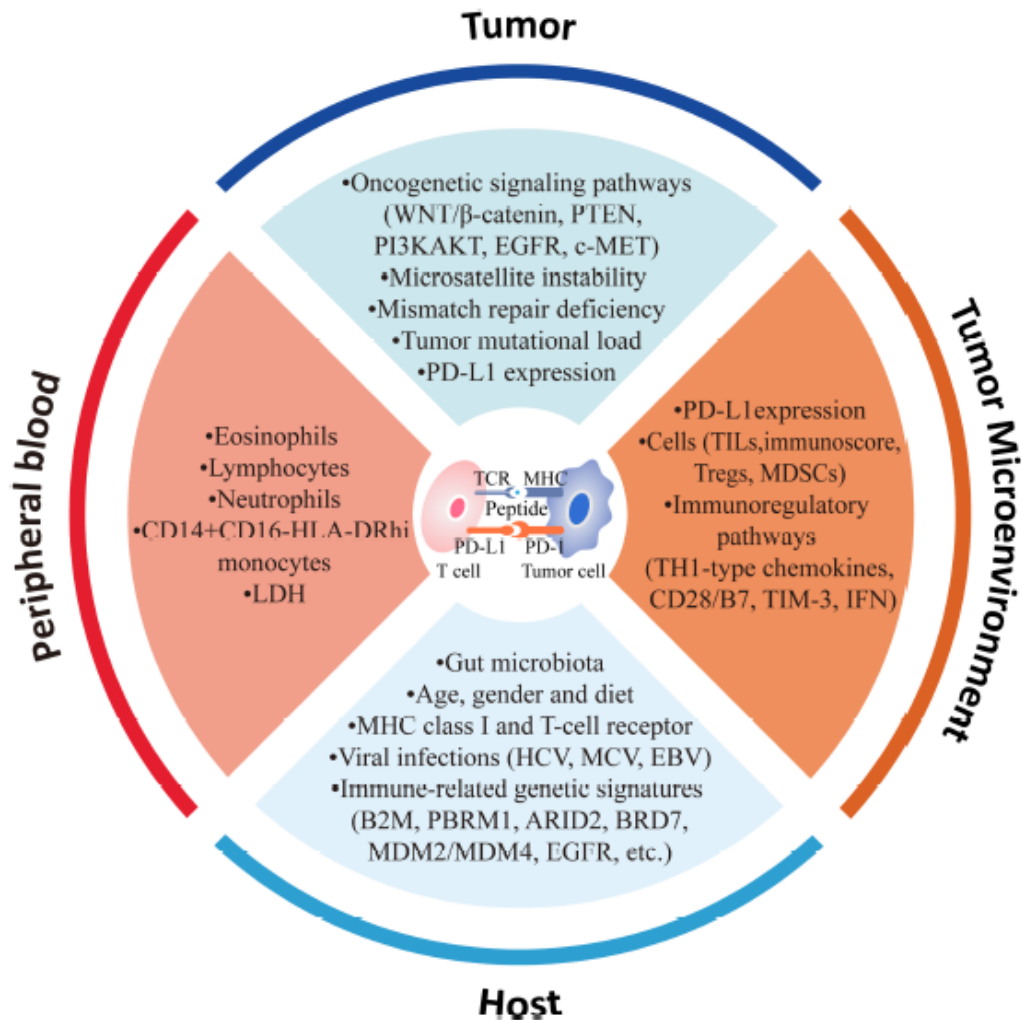


Figura 20 - Fattori associati con la risposta alla terapia anti PS-1 / PD-L1.

Effetti collaterali dell'immunoterapia

Aspetti generali degli effetti collaterali (irAE)

In generale, gli irAE si verificano abbastanza precocemente, principalmente entro alcune settimane/3 mesi dopo l'inizio dei farmaci immunoterapici. Tuttavia è stato evidenziato che questi possono insorgere anche fino a un anno dopo.

Pazienti con una storia di malattia autoimmune o che sono attivamente trattati per una malattia autoimmune sono a rischio di peggioramento della malattia autoimmune durante il trattamento.

Una volta sviluppati gli irAE dovrebbero essere intraprese delle procedure per prevenire ulteriori aggravamenti. In molti casi, in particolare i più gravi, l'immunoterapia deve essere interrotta vanno somministrati farmaci a modulazione immunitaria, inclusi corticosteroidi ad alte dosi [287, 288].

Tossicità cutanea immuno-relata

Gli eventi avversi cutanei sono osservati frequentemente nei pazienti che sono in trattamento con immunoterapici come ipilimumab o nivolumab e pembrolizumab. I più frequenti sono rash, prurito, vitiligine. In particolare la vitiligine sembra essere associata con una buona risposta ai farmaci anti PD-L1. Per valutare la severità della tossicità viene utilizzata la classificazione CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events). Per quanto riguarda un rash maculopapulare la classificazione propone diversi gradi:

- Grado 1: macule/papule che ricoprono meno del 10% della superficie corporea con o senza sintomi.
- Grado 2: macule/papule che ricoprono dal 10 al 30% della superficie corporea, con o senza sintomi, e limitanti l'attività quotidiana.
- Grado 3: macule/papule che ricoprono più del 30% della superficie corporea, con o senza sintomi.
- Grado 4: presenza di un rash papulopustolare con superinfezione, stevens-johnson syndrome, dermatite bollosa che ricoprono più del 30% della superficie corporea.

In caso di grado 1 il trattamento con immunoterapico può essere continuato; nel grado 2 si prosegue il trattamento controllando settimanalmente la reazione cutanea; nel grado 3 gli immunoterapici vanno interrotti e va iniziato un trattamento topico con emollienti e corticosteroidi; nel grado 4 oltre all'interruzione del trattamento i pazienti dovrebbero essere visitati da un dermatologo e iniziare un trattamento con corticosteroidi e.v [287, 288].

Disturbi gastroenterici: Coliti

Sono disturbi caratterizzati dall'infiammazione del colon, in questo caso correlati all'immunoterapia. Secondo la classificazione CTCAE possiamo distinguere quattro gradi sulla base della gravità della diarrea:

- Grado 1: aumento del numero di scariche giornaliere e più di 4 rispetto al basale.
- Grado 2: aumento da 4 a 6 scariche al giorno.
- Grado 3: aumento a 7 o più scariche al giorno rispetto al basale, incontinenza.
- Grado 4: conseguenze potenzialmente letali.

In caso di grado 1 si prosegue la terapia con immunoterapici o in alternativa si sospende temporaneamente, vanno monitorate l'idratazione e il regime alimentare. In caso di grado 2 si sospende temporaneamente la terapia fino a risoluzione dei sintomi, si può includere una terapia di supporto con medicinali come loperamide, se la diarrea non è transitoria possono essere somministrati corticosteroidi. In caso di grado 3 si valuta l'interruzione definitiva del trattamento, la terapia va ripresa se vi è una regressione a grado 1 o inferiore, per i pazienti con disidratazione e squilibrio elettrolitico bisogna valutare il ricovero, valutare la terapia con corticosteroidi se non c'è miglioramento [287, 288].

Polmoniti immuno relate

Sono infiammazione focali o diffuse del parenchima polmonare, generalmente identificate tramite immagini TC. Non vi sono caratteristiche sintomatiche, patologiche o radiografiche patognomoniche di polmonite. Secondo la classificazione CTCAE abbiamo quattro gradi:

- Grado 1: asintomatica, limitata a un lobo polmonare o a meno del 25% del parenchima polmonare.
- Grado 2: sintomatica, coinvolge più di un lobo polmonare o fino al 50% del parenchima polmonare.
- Grado 3: sintomi gravi, richiesto il ricovero, coinvolge tutti i lobi polmonare o più del 50% del parenchima polmonare.
- Grado 4: compromissione respiratoria potenzialmente letale.

Nel grado 1 si procede solo con osservazioni cliniche e diagnostiche, in caso di non miglioramento va trattata come un grado 2. Nel grado 2 si sospende la terapia immunoterapica fino alla risoluzione e somministrare corticosteroidi e se necessario antibiotici. Nel grado 3 la terapia immunoterapica va interrotta definitivamente con somministrazione di antibiotici, cortisonici e in caso di nessun miglioramento somministrare infliximab; è indicata l'ossigenoterapia. In caso di grado 4 va eseguita un'urgente intubazione [287, 288].

Epatotossicità immunorelata

Tutti i pazienti sottoposti a terapia con immunoterapici devono essere valutati per i segni e sintomi di epatite attraverso le transaminasi sieriche e bilirubina, misurati prima di ogni ciclo di trattamento. Secondo i criteri CTCAE l'epatotossicità è distinta in:

- Grado 1: asintomatica (AST o ALT da $>ULN^*$ a $3 \times ULN$ e/o bilirubina totale da $>ULN$ a $1,5 \times ULN$).
- Grado 2: asintomatica (AST o ALT da > 3 a $\leq 5 \times ULN$ e/o bilirubina totale da $> 1,5$ a $\leq 3 \times ULN$).
- Grado 3: disfunzione epatica sintomatica, fibrosi rilevata alla biopsia, cirrosi scompensata, riattivazione di un'epatite cronica (AST o ALT $5-20 \times ULN$ e/o bilirubina totale $3-10 \times ULN$).
- Grado 4: scompenso epatico (es. ascite, coagulopatia, encefalopatia, coma) e AST o ALT $>20 \times ULN$ e/o bilirubina totale $>10 \times ULN$.

In caso di transaminasi moderata (grado 2) o elevazione della bilirubina totale, la terapia con inibitori del checkpoint deve essere sospesa. Per transaminasi di grado 3 o 4 o elevazione della bilirubina totale, la terapia con inibitori del checkpoint deve essere definitivamente interrotta, iniziando il trattamento con corticosteroidi [287, 288].

*ULN: valori nella norma

Disordini tiroidei

Sebbene i disturbi della ghiandola tiroidea, sia iper- che ipo-tiroidismo, siano stati osservati abbastanza frequentemente in pazienti trattati con immunoterapie i disturbi dell'ipotiroidismo sono più comuni dell'ipertiroidismo. Secondo la classificazione CTCAE abbiamo diversi gradi di gravità per entrambi i disturbi.

Ipotiroidismo:

- Grado 1: TSH $< mU/L$ e asintomatico.
- Grado 2: sintomi moderati, TSH persistentemente $> 10 mU/L$.
- Grado 3-4: sintomi gravi, conseguenze significative dal punto di vista medico o potenzialmente letali.

In caso di ipotiroidismo di grado 1 si prosegue il trattamento eseguendo un attento follow-up e monitoraggio di TSH e FT4. Nel grado 2 si può sospendere la terapia fino a normalizzazione dei sintomi; valutare il consulto di un endocrinologo e se il TSH persiste al di sopra di $10 mU/L$ si valuta il trattamento integrativo con ormoni tiroidei. In caso di grado 3-4 la terapia va sospesa con supplementazione tiroidea e in caso di segni di mixedema si può valutare la terapia e.v.

Ipertiroidismo:

- Grado 1: Asintomatico o sintomi lievi.
- Grado 2: sintomi moderati.
- Grado 3-4: sintomi gravi, conseguenze significative dal punto di vista medico e potenzialmente letali.

In caso di grado 1 si può proseguire l'immunoterapia con un attento follow-up e monitoraggio di TSH e FT4 ogni 2-3 settimane. Nel caso di grado 2 bisogna sospendere il trattamento fino al miglioramento del quadro e valutare un consulto endocrinologico. In caso di grado 3-4 la terapia va sospesa fino a che i sintomi non tornano al basale e bisogna somministrare prednisone se i sintomi sono gravi o se si teme una crisi tireotossica [287, 288].

Ipofisite

L'ipofisite è molto rara nei pazienti trattati con anti-PD-1 e anti-PD-L1. I pazienti possono presentare diversi sintomi come mal di testa e i disturbi visivi, i quali richiedono una valutazione e una differenziazione immediata tra metastasi cerebrali, malattia leptomeningea, malattie cerebrovascolari e ipofisite. Una volta confermata la diagnosi, dovrebbe essere interrotto il trattamento con ICPis in qualsiasi ipofisite e iniziato un trattamento con terapia ormonale sostitutiva nel caso di grado 2 o superiore. Secondo la classificazione CTCAE i gradi dell'ipofisite da immunoterapia sono:

- Grado 1: asintomatico o con sintomi lievi
- Grado 2: sintomi moderati
- Grado 3-4: sintomi gravi, conseguenze significative dal punto di vista medico o potenzialmente letali [287, 288].

Anemia emolitica autoimmune

Patologia che provoca la distruzione degli eritrociti e la loro rimozione dal flusso sanguigno prima della normale conclusione del loro ciclo vitale. I sintomi includono pallore, ittero, astenia, urine ipercromiche, febbre, murmure cardiaco.

Secondo la classificazione CTCAE esistono quattro livelli di gravità dell'anemia:

- Grado 1: emoglobina da < LLN a 10 g/dL.
- Grado 2: emoglobina da < 10 g/dL a 8 g/dL.
- Grado 3: emoglobina < 8 g/dL.
- Grado 4: conseguenze potenzialmente letali, è indicato l'intervento urgente.

Nel caso di grado 1 si prosegue il trattamento concomitante a uno stretto follow-up clinico. Nel grado 2 si valuta di sospendere la terapia con immunosoppressori e si somministra prednisone. Nel grado 3 è necessario sospendere definitivamente la terapia, somministrare prednisone e valutare il ricovero del paziente ed eventuale trasfusione. Nella tossicità di grado 4 oltre a interrompere la terapia si ricovera il paziente e si somministrano corticosteroidi; in caso di nessun miglioramento o di peggioramento si provvede alla somministrazione di immunosoppressori come rituximab e alla trasfusione di emazie secondo le linee guida [287, 288].

Tossicità più rare sono:

- Diabete mellito di tipo I: il diabete de novo indotto dal trattamento con immunoterapici è raro (<1%). Si raccomanda che i livelli di glucosio nel sangue siano regolarmente monitorati nei pazienti trattati con CPIs al fine di rilevare l'insorgenza di DM.
- Tossicità neurologica: encefalite, sindrome di Guillain-Barré, miastenia gravis
- Uveite/irite
- Tossicità cardiaca: miocardite, pericardite, aritmie, funzione ventricolare ridotta, insufficienza cardiaca
- Tossicità renale: si manifesta con una nefrite o una disfunzione renale. È importante escludere altre cause e monitorare il paziente per rilevare aumenti della creatinina sierica prima di ogni dose di immunoterapico. La terapia può essere sospesa o interrotta definitivamente sulla base del grado CTCAE.
- Pancreatite
- Miosite
- Vasculiti
- Disordini elettrolitici [287, 288].

RUOLO DEGLI OPIOIDI NEL PAZIENTE CON NSCLC

Il dolore è una spiacevole esperienza sensoriale ed emotiva che insorge quando un tessuto è in qualche modo danneggiato. È un sintomo soggettivo, che può determinare cambiamenti importanti della personalità, dello stile di vita e delle capacità della persona. Alcune persone con diagnosi di tumore polmonare non sviluppano mai dolore.

Qualora il dolore si dovesse presentare, bisogna partire dal presupposto che questo sintomo si può controllare con l'aiuto del medico di riferimento, degli infermieri e dei familiari.

Le caratteristiche del dolore variano da una persona all'altra e ogni caso va trattato singolarmente: per questo è importante che il paziente descriva esattamente al medico di riferimento tutti gli aspetti del dolore che si provano nell'arco della giornata, perché possa valutare la terapia antidolorifica più adeguata. L'entità del dolore non è direttamente proporzionale a quanto è esteso il tumore. Il dolore può comparire per diversi motivi:

- Per azione diretta del tumore, che infiltra tessuti/strutture vicine (per esempio con invasione del sistema scheletrico, invasione o compressione di strutture nervose, di altri organi vicini come pleura, esofago, muscoli);
- Sindromi paraneoplastiche (alcuni tumori possono rilasciare alcune sostanze che provocano un danno ai nervi, maggiormente delle gambe, con comparsa di un dolore di tipo muscolare associato a stanchezza delle gambe e formicolii);
- Dolore che insorge dopo trattamenti quali la chirurgia (a volte dopo un intervento di asportazione tumorale può rimanere un dolore in sede di cicatrice);
- Dolore che insorge dopo trattamento chemioterapico (alcuni farmaci, come il cisplatino, possono determinare un dolore legato all'azione su alcuni nervi, altri, come la vinorelbina, determinano la comparsa di dolori simil muscolari) dolore legato al trattamento RT (per esempio il fastidio durante la deglutizione del cibo);
- Dolore conseguente a una procedura diagnostica come la biopsia;
- Dolore indipendente dal tumore o dalle terapie (per esempio a causa di disturbi già presenti prima del tumore, quali problemi cardiovascolari, gastrointestinali, neurologici o altro);
- Paura, ansia, depressione e stanchezza possono amplificare la percezione del dolore.

Esiste un **dolore di fondo** che deve essere ben controllato e poi esiste un **dolore incipiente o breakthrough pain**, cioè dei picchi improvvisi di dolore che possono comparire durante la giornata o la notte e che solitamente hanno una durata più o meno breve. Quest'ultimo tipo di dolore può essere molto fastidioso e invalidante [289].

Tipi di farmaci antidolorifici

Ci sono molti tipi di farmaci antidolorifici che servono per controllare i vari tipi e livelli di dolore. Il dolore che accompagna la malattia tumorale è spesso cronico, per questo la terapia antidolorifica va assunta regolarmente e per lunghi periodi di tempo. Inoltre è meglio controllare costantemente il dolore, piuttosto che aspettare che diventi intenso per poi assumere i farmaci. Esistono diverse famiglie di farmaci antidolorifici alle quali possono essere associati altri farmaci che possono aiutare a potenziarne gli effetti sul dolore (Tabella 8) [290]. Inoltre è importante ricordare che i pazienti con il tumore spesso assumono farmaci concomitanti sia per alleviare i sintomi correlati al tumore sia per trattare le comorbidità. Uno studio recente eseguito da Turner JP e colleghi ha rivelato che l'80% dei pazienti con cancro assumono regolarmente almeno cinque farmaci non correlati al cancro stesso e ha sollevato il problema delle interazioni tra farmaci [291].

Anti-infiammatori	Oppioidi
I cosiddetti FANS, esempi: nimesulide, ibuprofene, Ketorolac, piroxicam, diclofenac Il Cortisone Esempi: desametasone, prednisone	Si dividono in Oppioidi minori e maggiori Gli oppioidi minori sono: la codeina e il tramadolo (ricordate che questi farmaci per funzionare devono essere trasformati SEMPRE dall'organismo in morfina) Gli oppioidi maggiori sono: la morfina, il fentanyl, tapentadolo, buprenorfina, idromorfone, ossicodone ecc...
EFFETTI COLLATERALI dei FANS: ● Irritazione gastrica ● Sanguinamenti Per tale motivo possono essere presi per brevi periodi EFFETTI COLLATERALI del Cortisone: (provoca meno irritazione gastrica dei FANS) ● Aumento degli zuccheri nel sangue (glicemia) ● Alcune volte può favorire la ritenzione di liquidi ● In alcune persone può dare irritazione, agitazione ed insonnia	EFFETTI COLLATERALI ● Nausea: solitamente dopo 24-48 ore regredisce ● Sonnolenza (peggiora se si assumono alcolici): solitamente migliora nel tempo ● Stitichezza: è l'unico effetto collaterale che non regredisce nel tempo. Pertanto è importante associare una dieta ricca di fibre e l'uso di lassativi ● Secchezza orale (bocca asciutta con scarsa saliva)
<i>Di questi farmaci esiste un dosaggio massimo dopo il quale viene perso il loro effetto antidolorifico facendo però aumentare i loro effetti collaterali (questo vuol dire che se il mio dolore è aumentato prendendo questi farmaci alla dose piena, anche se li aumento non riuscirò più a controllare il dolore, ma problemi gastrici e sanguinamenti potranno manifestarsi più frequentemente)</i>	<i>Non esiste un dosaggio massimo di questi farmaci, questo ci permette di aumentare la dose, nel caso in cui dovessero perdere la loro iniziale efficacia sul dolore, senza aumentare gli effetti collaterali.</i>

Tabella 8 - Tipi di farmaci antidolorifici

Solitamente la via di somministrazione preferita da pazienti e medici è la via orale attraverso formulazioni in compresse/bustine o per via sottolinguale. Tuttavia esistono altre vie quali:

- La via rettale (supposte)
- La via intramuscolo (iniezione)
- La via sottocutanea (iniezione)
- La via transdermica (con cerotti)
- La via endovenosa (attraverso flebo, elastomeri, piccole pompe siringhe)
- La via epidurale (attraverso un cateterino che viene introdotto nel canale vertebrale).

Per quanto riguarda le ultime due vie elencate, i sistemi citati sono sistemi di infusione di questi farmaci (da soli o in associazione ad altri) a rilascio continuo. L'uso di vie di somministrazione diverse da quella orale può dipendere dalle preferenze del paziente, da alcuni problemi legati alla deglutizione o all'assorbimento del farmaco, a volte dalle caratteristiche del dolore. Per il trattamento del dolore incipiente o breakthrough pain è indicato l'utilizzo di un farmaco "al bisogno", i quali possono essere oppiacei e più raramente antinfiammatori [290].

Strategia terapeutica

La strategia terapeutica che rimane tuttora una pietra miliare nel trattamento del dolore da cancro è quella proposta nel 1986 dalla Organizzazione Mondiale della Sanità, la cosiddetta Analgesic Ladder (figura 21), e alla quale le altre linee-guida prodotte da varie Agenzie e Società Scientifiche fanno comunque riferimento. Essa consiste nell'utilizzo di Farmaci Antiinfiammatori Non Steroidei (FANS) e Paracetamolo nel dolore lieve (farmaci del primo gradino), di "oppioidi per il dolore lieve-moderato" o "oppioidi deboli" per il dolore lieve-moderato (farmaci del secondo gradino), associati o meno a farmaci del primo, e "oppioidi per il dolore moderato-severo" o "oppioidi forti" per il dolore moderato-severo (farmaci del terzo gradino), associati o meno a farmaci del primo. Ciò che caratterizza gli oppioidi del secondo gradino (analogamente ai FANS e al paracetamolo), è la presenza dell'effetto-tetto, ossia di un dosaggio massimale di farmaco oltre il quale peggiora l'indice terapeutico in quanto, in assenza di effetto terapeutico aggiuntivo, aumentano, per contro, gli effetti collaterali. Ad oggi i farmaci vanno somministrati secondo alcune regole:

- Somministrazione a orari fissi, alla quale va necessariamente associata una previsione di necessità di somministrazione al bisogno;
- Per bocca: questa seconda indicazione può essere intesa in senso letterale, o nella accezione "nella modalità meno invasiva e più accettabile per il paziente"; in questo senso troverebbero spazio le formulazioni transdermiche, che alla luce di una

recente revisione di letteratura sarebbero vantaggiose rispetto alla via orale in termini di alcuni effetti collaterali e di preferenza per il paziente;

- Mirare le dosi in base alle caratteristiche del paziente fino alla dose minima efficace);
- Con attenzione ai dettagli (dettagliare dosi, orari, effetti collaterali) [292].



Figura 21 - Strategia terapeutica antalgica basata sulla scala analgesica a tre gradini dell'OMS

Nel corso degli anni sono state effettuate alcune osservazioni critiche alla Scala WHO stigmatizzandone l'utilizzo schematicamente "progressivo": secondo questa prospettiva critica, un paziente che si presenti con dolore severo, non necessariamente deve "passare" sequenzialmente attraverso tutti e tre gradini, ma è stato suggerito che possa assumere farmaci del secondo e terzo gradino fin dall'esordio, a dosaggi opportuni, in base all'intensità del dolore. Un attacco ancora più radicale è rappresentato dall'accusa di essere costruita solo in base all'intensità del dolore, e non ai meccanismi patogenetici dai quali è provocato. Bisogna affermare, però, che tale critica non appare del tutto fondata, in quanto la scala prevede, in ciascun gradino della stessa, il possibile utilizzo di farmaci adiuvanti, proprio in funzione del meccanismo doloroso sottostante ("farmaci non specificamente analgesici ma che, nel contesto del dolore da cancro, possono contribuire all'ottenimento di una riduzione del dolore" come anticonvulsivanti, antidepressivi, corticosteroidi) [292].

Oppioidi e immunomodulazione

Il legame tra oppioidi e un'alterazione della funzione immunitaria dell'ospite è spesso descritto in letteratura. L'aumentata incidenza di varie infezioni locali e sistemiche nei pazienti che utilizzano questi farmaci per via ev ha portato alla conclusione che il legame causale tra l'abuso di farmaci e.v e le infezioni non potevano essere semplicemente

spiegate dal fatto che il processo di iniezione era la via dell'infezione, ma che gli oppioidi stessi agivano per modulare la funzione immunitaria.

L'aumentata incidenza e gravità delle infezioni tra i pazienti che abusavano di oppioidi fu documentata all'inizio del XIX secolo con osservazioni simili che apparvero in letteratura già nella metà del 1500 quando il professor Fallopius di Pisa registrò la morte di un prigioniero probabilmente per malaria dopo somministrazione sperimentale di oppio. Nel 1950, Hussey e Katz pubblicarono un documento di riferimento che descriveva il crescente elenco di infezioni associate alla dipendenza da stupefacenti. Da allora, sono state condotte ricerche approfondite per studiare gli effetti immunomodulatori degli oppioidi e dei meccanismi e il significato clinico di tali effetti. Gli oppioidi possono influenzare la funzione immunitaria innata e adattiva attraverso diversi meccanismi (tabella 9).

Tabella 9 – Effetti degli oppioidi verso l'immunità innata e adattativa

Adaptive immunity ↓ Splenic and thymic weight (rodents)⁴⁻⁶ ↓ T cell viability and proliferative response ↓ T-helper cell function ↓ CD4/CD8 population in vivo ↓ IL1β, IL-2, TNF-α and IFN-γ (mouse splenocytes) ↓ Th1/Th2 ratio of T-helper cell population (PBMCs)⁷ ↓ NK cell activity⁸ ↓ Primary antibody response (B cells)⁹ ↓ B cells mitogenic response to bacterial LPS^{4 10 11} ↓ Macrophage activity⁹ ↑ TGF-β1 and IL-10 (anti-inflammatory cytokines)¹² ↑ T cell apoptosis (NF-κ β and AP-1/NFAT pathways)¹³ - Inhibition of CD3/28 mAb induced IL-2 transcripts¹⁴ Innate immunity ↓ Number of macrophages available to fight infections¹⁵ ↓ Leucocyte migration¹⁶ ↓ Peritoneal macrophages phagocytosis ↓ Respiratory burst activity and chemotaxis¹⁷ - Inhibition of Fc γ receptor mediated phagocytosis¹⁸ ↓ Superoxide production from neutrophils and macrophages¹⁹⁻²¹ - Alteration of IL-8 induced neutrophil chemotaxis^{22 23} ↓ Neutrophil cytokines involved in wound healing²⁴ ↑ Apoptosis of macrophages impairing host defence barrier²⁵ ↓ Leucocytes endothelial adhesion (↓ intracellular adhesion molecules expression)^{26 27} Neuroendocrine system ↑ Growth hormone, prolactin, and thyroid stimulating hormone secretion in humans²⁸ - May affect the function of the HPA axis (ACTH and CRH) with risk of adrenal insufficiency²⁸ ↓ Sex hormones (LH and testosterone (hypogonadism)), oxytocin, and estradiol²⁸

Oppioidi diversi influenzano la funzione immunitaria in maniera diversa a seconda dei fattori farmacologici, dei fattori dell'ospite e della durata dell'esposizione. Una recente pubblicazione della British Pain Society afferma che i pazienti devono essere consapevoli dell'incertezza relativa sugli effetti a lungo termine degli oppioidi, in particolare in relazione alla funzione endocrina e immunitaria. La guida pratica riconosce anche gli effetti immunitari modulanti degli oppioidi ma afferma che la buprenorfina non ha alcun impatto sulla funzione immunitaria (tabella 10). La tabella riassume gli effetti immunitari modulanti degli oppioidi negli studi sugli animali; questi potrebbero non riflettere le risposte nell'uomo in cui la durata dell'esposizione agli oppioidi modifica il grado osservato di modulazione immunitaria [293].

L'attività immunosoppressiva risulta differente sulla base del tipo di oppioide: codeina, methadone, morfina, fentanyl e remifentanil sembrano avere maggiori proprietà immunosoppressive [294]. Inoltre gli effetti in acuto differiscono da quelli indotti dall'esposizione cronica [295, 296].

Tabella 10 - Effetti immunitari modulanti degli oppioidi negli studi sugli animali

Strong immune modulation	Weaker immune modulation
Codeine	Buprenorphine*
Methadone	Hydromorphone
Morphine	Oxycodone
Remifentanil	Tramadol
Fentanyl	Hydrocodone
	Oxycodone

Esistono due diversi meccanismi di immunomodulazione da parte degli oppioidi (in vitro e in vivo). Esperimenti in vitro hanno dimostrato che la morfina e altri oppioidi compromettono la funzione fagocitica e chemiotattica dei neutrofili e dei monociti, riducono la risposta effettrice dei linfociti B e T e aumentano l'apoptosi dei linfociti e delle cellule fagocitarie. Studi in vivo hanno anche mostrato un effetto indiretto degli oppioidi, in particolare della morfina, che comporta la riduzione della funzione delle cellule NK e l'attività proliferativa dei linfociti in risposta ai mitogeni, la soppressione delle citochine infiammatorie e l'attivazione del sistema nervoso simpatico che promuove alti livelli di noradrenalina ed è correlato all'immunosoppressione.

Questi effetti sembrano essere correlati alla down-regolazione della proteina chinasi C, alle azioni mediate dalla somatostatina, all'impegno di enzimi pro-apoptotici e al cambiamento nel rilascio di ossido nitrico [297].

Somministrazione acuta di oppioidi e sistema immunitario

Molti studi sugli animali hanno dimostrato che la morfina somministrata in fase acuta ha un effetto immunosoppressore, anche a dosi variabili da 5 a 50 mg/kg. Ci sono meno studi sull'uomo, ma i risultati sono coerenti con l'immunosoppressione. Tuttavia, rispetto ad altri oppioidi, questo quadro cambia, poiché l'effetto con fentanyl è transitorio e inesistente con buprenorfina e tramadolo. Gli oppioidi sintetici mostrano questo effetto possibile a causa della più debole interazione con i recettori degli oppioidi presenti sui leucociti.

Un aspetto importante dei casi acuti è il fatto che lo stesso stimolo doloroso è correlato all'immunosoppressione (mediante il rilascio di cortisolo), modificando il recupero di eventi aggressivi come procedure chirurgiche. I pazienti con recupero postoperatorio hanno una significativa riduzione dell'attività proliferativa dei linfociti, immunità cellulo-mediata e cambiamenti nell'equilibrio dei linfociti T. Questi eventi sono maggiori quanto maggiore è la chirurgia e la gravità del dolore. Pertanto, l'uso di oppioidi può essere considerato benefico [297].

Somministrazione cronica di oppioidi e sistema immunitario

Negli animali, lo studio dell'uso cronico di oppioidi viene eseguito mediante iniezioni ripetute in vari periodi di tempo o dispositivi impiantabili, comunemente usati per la valutazione della tolleranza e della dipendenza. Le iniezioni giornaliere di dosi maggiori di morfina hanno soppresso l'attività delle cellule di tipo NK, che non è stata osservata nei ratti di controllo. In un altro studio, la somministrazione sottocutanea di morfina nell'arco di 24 ore ha comportato una ridotta attività dei macrofagi e, dopo tre giorni, si è verificata una batteriemia, nonché una crescita batterica nel liquido peritoneale, nel fegato, nella milza, nei reni, nel cuore e nei polmoni. Questi effetti sono stati bloccati quando naloxone, un antagonista oppioide puro, è stato somministrato prima di ogni dose di morfina, il che implica un meccanismo dipendente dal recettore degli oppioidi [297].

Altri autori, usando modelli animali simili, suggeriscono che l'ospite diventa più suscettibile ad alcuni tipi di infezioni, inclusa la diffusione metastatica di malattie neoplastiche. Nell'uomo, uno studio condotto con dosi di morfina comprese tra 90 e 150 mg per 36-60 ore ha determinato una significativa soppressione della citotossicità cellulare anticorpale (ADCC) rispetto ai controlli; tuttavia, per quanto riguarda le cellule NK non è stata osservata alcuna differenza tra i gruppi [297].

Sebbene diversi studi evidenzino un effetto immunosoppressivo degli oppioidi, la rilevanza clinica di queste osservazioni rimane incerta e serve solo come prerequisito per ulteriori indagini in questo settore. Potrebbero non essere ancora fornite raccomandazioni definitive per l'uso di oppioidi in varie situazioni della pratica clinica in relazione alle conseguenze immunologiche di questi farmaci. Poiché ogni sostanza sembra avere un effetto diverso, dovrebbero essere condotti ulteriori studi con altri oppioidi, oltre alla morfina. Tuttavia, dovrebbero essere studiate anche sottopopolazioni specifiche, come pazienti immunocompromessi e in condizioni critiche [297].

CAPITOLO 2: STUDIO

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Il dolore è uno dei sintomi più diffusi nei pazienti con diagnosi di carcinoma polmonare; può derivare dall'invasione locale delle strutture toraciche o da metastasi che invadono ossa, nervi o altre strutture anatomiche potenzialmente dolorose. Il dolore può anche essere una conseguenza di approcci terapeutici come chirurgia, chemioterapia o radioterapia. La gestione medica convenzionale del dolore oncologico comprende la prescrizione di oppioidi e coadiuvanti a dosi sufficienti per controllare i sintomi senza causare gravi effetti farmacologici [298].

Questo studio monocentrico e retrospettivo ha previsto la raccolta di dati riguardanti complessivamente 75 pazienti con diagnosi citologica e/o istologica di carcinoma polmonare non a piccole cellule, afferiti presso la Clinica Oncologica dell'A.O.U. Ospedali Riuniti di Ancona – Università Politecnica delle Marche, con il principale obiettivo di valutare l'impatto prognostico del trattamento con oppioidi nei pazienti con NSCLC trattati con immunoterapia, allo scopo di migliorare la selezione del paziente da sottoporre ad immunoterapia.

PAZIENTI E METODI

Nel presente studio sono stati presi in esame i dati dei pazienti con diagnosi cito/istologica di tumore polmonare non a piccole cellule in cura presso la Clinica Oncologica dell'Università Politecnica delle Marche - Azienda Ospedali Riuniti "Umberto I – G.M. Lancisi – G. Salesi" di Ancona, da Giugno 2012 a Gennaio 2020.

Criteri di eleggibilità:

I criteri di eleggibilità per l'inserimento nello studio sono stati i seguenti:

- Età maggiore di 18 anni;
- Diagnosi citologica o istologica di carcinoma del polmone non a piccole cellule;
- Pazienti sottoposti a trattamento con immunoterapia (Nivolumab, Pembrolizumab o Atezolizumab);
- Stadio avanzato (IIIB-IIIC-IV).

Criteri di esclusione:

- Pazienti non sottoposti a immunoterapia
- Pazienti che non hanno eseguito una prima rivalutazione dall'inizio del trattamento

Dati raccolti

Di ogni paziente sono stati raccolti:

- Dati anagrafici e dati relativi all'abitudine tabagica e comorbidità
- Manifestazione d'esordio
- Terapie concomitanti e relativi dosaggi alla prima linea di terapia e all'immunoterapia (statine, cardioaspirina beta bloccanti, ace inibitori)
- Istotipo e grading della neoplasia
- Marcatori cito-istologici e lung status (se eseguito) ed espressione PD-L1
- Stadiazione clinica e/o patologica, sede di metastasi
- Tipo e modalità di intervento chirurgico (se eseguito)
- Tipo di trattamento adiuvante (se eseguito)
- Dati relativi agli eventuali trattamenti chemioterapici/biologici di prima, seconda, terza, quarta, quinta, sesta linea
- Dati relativi agli eventuali trattamenti chemioterapici di mantenimento, se eseguiti
- Parametri clinici (ECOG) al momento della diagnosi e all'inizio di ogni linea terapeutica
- Parametri laboratoristici all'inizio, a 45 giorni, alla prima rivalutazione e al termine di prima, seconda e terza linea e in particolare in relazione al trattamento immunitario:
 - o Emoglobina (anemia: Hb < 11.0 g/dl nelle donne e < 12,0 g/dl nell'uomo)
 - o Neutrofili assoluti (neutrofilia se > 7500/mmc)
 - o Linfociti assoluti (linfopenia se < 1000/mmc)

- Monociti assoluti (monocitosi se $> 1000/\text{mmc}$)
- Eosinofili assoluti (eosinofilia se $> 500/\text{mmc}$)
- Piastrine (piastrinosi $> 450.000/\text{mmc}$)
- Marcatori tumorali CEA, CYFRA21.1, NSE
- Natriemia (iposodiemia intesa come $\text{Na} \leq 135 \text{ mEq/L}$), episodi di iponatriemia e data di risoluzione della stessa
- Albumina (ipoalbuminemia definita come $\leq 3.5 \text{ g/dl}$)
- LDH (elevata se $> 250 \text{ U/L}$)
- FA (elevata se $> 240 \text{ U/L}$)
- Risposta strumentale, clinical benefit e control disease (CR, PR, SD) ai trattamenti di prima, seconda, terza linea, in particolare al trattamento immunoterapico
- Tipo e numero di episodi di tossicità di grado 3 e 4 per paziente durante la terapia (anemia, leucopenia, neutropenia, piastrinopenia, astenia, nausea, vomito), durante quale ciclo di terapia, necessità di terapia o ricovero per la tossicità, data di risoluzione e della ripresa dell'immunoterapia
- Progressione e sede di progressione per ogni linea di terapia
- Calo ponderale alla diagnosi, peso all'inizio e alla miglior risposta dei trattamenti di prima e seconda linea, peso e BMI alla rivalutazione e alla progressione di malattia
- Creatinina all'inizio dell'immunoterapia, alla miglior risposta, alla prima rivalutazione strumentale e alla progressione di malattia
- TSH, Ft3, Ft4 all'inizio e alla fine dell'immunoterapia e alla tossicità; anticorpi anti TPO, tireoglobulina e recettori TSH alla tossicità
- Tipo di oppiacei (se somministrati), incremento del dosaggio e dose cumulativa alla prima e seconda linea, all'immunoterapia e alle linee di terapia successive
- Dati relativi alla Radioterapia (se eseguita)
- Dati relativi all'ultimo follow-up del paziente o all'eventuale decesso

iRECIST: criteri di valutazione della risposta all'immunoterapia

I criteri RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumor) sono criteri radiologici di risposta che registrano le variazioni (principalmente dimensionali) di un tumore primario e delle sue lesioni secondarie al fine di valutare l'attività delle terapie antineoplastiche. Questi criteri prendono in considerazione diversi parametri e suddividono la risposta al trattamento in RC (risposta completa), RP (risposta parziale), SD (stabilità di malattia), P (progressione), NC (lesioni non valutabili) (tabella 11) [299].

Tabella 11 – Criteri RECIST

CARATTERISTICA	RECIST
Misurabilità delle lesioni pre-terapia	- Misurabile unidimensionale (solo DLM, dimensioni ≥ 20 mm con tecniche convenzionali o ≥ 10 mm con tecnica TC spirale) - Non misurabile: tutte le altre lesioni, comprese quelle piccole. Il termine valutabile non è raccomandato.
Risposta oggettiva	- Lesioni target [variazioni nella somma del DLM, per un massimo di 5 per organo e fino a 10 in totale (più di un organo)] - RC: Scomparsa di tutte le lesioni target per ≥ 4 settimane - RP: Regressione $\geq 30\%$ rispetto alla condizione base per ≥ 4 settimane - PD: Aumento $\geq 20\%$ rispetto alla somma più piccola del DLM osservata durante il trattamento o comparsa di nuove lesioni - NC: né RP, né PD - Lesioni non target - RC: Scomparsa di tutte le lesioni target e normalizzazione dei marcatori tumorali - PD: Progressione inequivocabile delle lesioni non target esistenti e/o comparsa di nuove lesioni - Non-PD: Persistenza di un ao più lesioni non target e/o marcatori tumorali al di sopra della norma.

Inoltre i criteri RECIST hanno subito un aggiornamento alla versione 1.1 (tabella 12):

Tabella 12 - Criteri RECIST versione 1.1

	RECIST 1.0	RECIST 1.1
Measuring tumor burden	10 targets 5 per organ	<u>5 targets</u> <u>(2 per organ, ≥ 10 mm)</u>
Lymph node	Measure long axis as for other lesion. Silent on normal size	Measure <u>short axis</u> Define normal size (10 mm)
Progression Definition	20% increase in sum	20% increase and <u>at least 5 mm absolute increase</u>
Non- measurable disease PD	Must be unequivocal	Expanded definition to convey impact on overall burden of disease
Confirmation	Required	Required when respons primary endpoint but not PFS
New lesions	--	New section which includes comment on FDG PET interpretation

Con l'avvento dell'immunoterapia la valutazione della risposta al trattamento è cambiata sulla base di diverse caratteristiche del trattamento immunoterapico:

- Il tempo di risposta può essere più lungo con l'immunoterapia.
- Ci può essere una risposta dopo una iniziale **pseudoprogressione**.
- La sospensione del trattamento in caso di progressione può essere inappropriata se questa non viene riconfermata a distanza (minimo un mese).
- Una progressione clinicamente non significativa, anche in presenza di nuove lesioni, specie se c'è risposta su altre lesioni, non va considerata.
- Le lunghe stabilità di malattia sono un segno di efficacia del trattamento.

Un piccolo sottogruppo di pazienti trattati con l'immunoterapia (2-14%) subisce un modello atipico di risposta definito **pseudo-progressione**. Lesioni nuove o in crescita appaiono dopo l'inizio della terapia, imitando così la progressione del tumore, seguito da un'eventuale diminuzione del carico tumorale totale. Gli standard di risposta tradizionali applicati al momento dell'aumento iniziale nel carico tumorale possono falsamente designare questo quadro come un fallimento del trattamento e potrebbero portare al termine inappropriato della terapia. Solo l'imaging di follow-up (almeno dopo 4 settimane) può aiutare a distinguere i pazienti con pseudo-progressione dai pazienti con vera progressione. Per questo motivo sia il RECIST 1.1 sia i criteri WHO si sono rivelati inadeguati per la valutazione della risposta all'immunoterapia. Nel 2009, i criteri di risposta relativi all'immunologia (immune-related Response Criteria - irRC) sono stati proposti come modalità per valutare la risposta del tumore agli immunoterapici in generale, tenendo conto della possibilità di una pseudo-progressione [299].

Esistono tre possibili spiegazioni al fenomeno di pseudoprogressione:

1. Richiamo dei linfociti T citotossici all'interno del tumore dopo trattamenti immunoterapici. La massiva infiltrazione del tumore da linfociti T è dimostrata da varie osservazioni;
2. Aumento del milieu infiammatorio tumorale, che può essere indotto dai linfociti T attivati contro le cellule tumorali, che a loro volta possono indurre un allargamento transitorio della massa tumorale con conseguente pseudoprogressione;
3. Progressione transitoria: tumori in rapida crescita, che possono aumentare la loro massa fino ad una chiara progressione durante l'intervallo tra l'inizio del trattamento ed il suo effetto biologico.

I nuovi criteri di risposta (irRC, tabella 13) sono elaborati partendo da dati provenienti da pazienti affetti da melanoma trattati con ipilimumab. Sono stati evidenziati quattro pattern di attività clinica:

- Shrinkage delle lesioni iniziali senza comparsa di nuove lesioni;
- Risposta ottenuta dopo un aumento del carico iniziale di malattia (total tumor burden);
- Risposta in presenza di nuove lesioni;
- Lunga stabilità di malattia.

Con tutti e 4 i patterns i pazienti avevano una sopravvivenza globale favorevole [299].

Tabella 13 - Nuovi criteri di risposta irRC

iRECIST Category	Description
Complete response (iCR)	Resolution of all lesions, confirmed ≥ 4 wks
Partial response (iPR)	<u>Decrease $\geq 30\%$ in tumor burden compared with baseline in the absence of any new lesion or progression of nontarget lesions</u>
Stable disease (iSD)	Neither PR or PD in the absence of any new lesion or progression of nontarget lesions
Unconfirmed progressive disease (iUPD)	<u>Increase $>20\%$ in tumor burden from nadir, progression of nontarget lesions, or new lesions; iUPD requires confirmation</u> which is done on the basis of observing either a further increase in size (or in the number of new lesions) in the lesion category in which progression was first identified (target or nontarget disease) or progression (defined by RECIST 1.1) in lesion categories that had not previously met RECIST 1.1 progression criteria; progression is confirmed in the target lesion category if the next imaging assessment after iUPD (4-8 wks later) confirms a further increase in sum of measures of target disease from iUPD, with an increase of at least 5 mm
Confirmed progressive disease (iCPD)	Progressive disease is confirmed (iCPD) if the next imaging assessment, done 4-8 wks after iUPD, confirms <u>additional new lesions, further increase in previous new lesion size (sum of measures increase in new target lesion ≥ 5 mm or any increase for new nontarget lesions), or further increase in existing target or nontarget lesions from iUPD</u>
New lesions	Assessed according to RECIST 1.1 guidelines but <u>recorded separately and not included in the sum of lesions for target lesions identified at baseline; new lesions constitute iUPD; iCPD is only achieved if additional new lesions appear or there is an increase in size of new lesions (≥ 5 mm for the sum of new target lesions or any increase in new nontarget lesions); presence of new lesions when none have previously been recorded can also confirm iCPD</u>

I criteri iRECIST si basano sui criteri WHO e danno minore importanza delle lesioni target ma maggiore considerazione del carico totale di malattia "Total Tumor Burden" (TTB). Ogni risposta diversa dalla stabilità di malattia richiede di essere confermata con un altro accertamento radiologico ad almeno 1 mese di distanza e le nuove lesioni non

necessariamente rappresentano una progressione. Queste vanno incluse nel calcolo del TTB ed il loro significato è subordinato alla successiva conferma radiologica.

I criteri iRECIST hanno diverse limitazioni:

- Sono stati sviluppati basandosi solo su dati provenienti da pazienti trattati con anti CTLA-4 ed anti PD-1/PDL-1, dubbia applicabilità per i nuovi trattamenti immunoterapici (IDO inhibitors, agonist mAbs targeting CD137) e le associazioni chemioterapia-immunoterapia;
- Dubbia riproducibilità, accuratezza, applicabilità su tutte le neoplasie
- Necessita di ulteriori studi, non sono standard per FDA e EMA;
- La maggioranza dei trials clinici continua ad usare i RECIST1.1 anche per l'immunoterapia, in alcuni casi vengono usate varianti diverse degli iRECIST e spesso la valutazione della risposta immunocorrelata è un end-point secondario;
- Una risposta successiva ad una prima progressione che non rientra nei parametri di SD/PR/CR rispetto al nadir del TTB risulta in una conferma di PD [299].

ANALISI STATISTICA

Lo scopo di questo studio è di analizzare una serie di pazienti con NSCLC che sono stati sottoposti all'immunoterapia nel nostro ospedale, cercando di identificare le caratteristiche cliniche e laboratoristiche dei pazienti che possono beneficiarne, focalizzandoci sull'impatto prognostico e predittivo del trattamento con gli oppioidi.

La sopravvivenza globale (*overall survival, OS*) è stata calcolata a partire dalla diagnosi fino alla data di decesso o, per i pazienti ancora in vivo, alla data di ultimo follow up.

La sopravvivenza libera da progressione (*progression free survival, PFS*) è stata calcolata a partire dall'inizio di ogni trattamento fino alla data di progressione di malattia o di decesso. La distribuzione della sopravvivenza è stata stimata mediante le *curve di Kaplan-Meier*, mentre le differenze di sopravvivenza sono state valutate mediante il *log-rank test* assumendo un livello di significatività α pari a 0,05.

L'associazione tra le variabili categoriche è stata stimata mediante il *test del chi-quadro*. È stata condotta un'analisi multivariata mediante la *regressione multipla di Cox* per valutare il ruolo prognostico delle variabili esaminate in relazione al tempo a progressione e alla sopravvivenza globale.

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il software *MedCalc* versione 18 per Windows.

CAPITOLO 3: RISULTATI

Il presente studio ha preso in esame 75 pazienti con diagnosi istologica o citologica di carcinoma del polmone non a piccole cellule, sottoposti a immunoterapia presso la Clinica di Oncologia Medica dell'Università Politecnica delle Marche - Ospedali Riuniti di Ancona.

Dei 75 pazienti trattati con immunoterapia, 57 sono uomini e 18 donne; l'età media alla diagnosi è di 69,8 anni (range 25-91 anni). La maggior parte dei pazienti è ex fumatore, 26 sono fumatori e solo 4 pazienti (5,3% del totale) hanno dichiarato di non aver mai fumato.

Alla diagnosi quasi la totalità dei pazienti si presenta in buone condizioni cliniche generali (ECOG 0 = 65,3% e ECOG 1 = 30,7%). Circa il 16% dei pazienti presentava pregressi tumori mentre il 33,3% presentava disturbi metabolici. Venti pazienti (26,7%) assumevano oppiacei in concomitanza all'immunoterapia.

I dati relativi ai fattori clinici presi in considerazione sono riassunti nella tabella 14.

Tabella 14 - Fattori clinici dei pazienti trattati con immunoterapia

PARAMETRO		NUMERO DI PAZIENTI	PERCENTUALE
SESSO	UOMINI	57	76%
	DONNE	18	24%
ETA'	Media 69,8		
	Range (25-91)		
	≥65	54	72%
	<65	20	26,7%
FUMO	NON FUMATORI	4	5,3%
	EX FUMATORI	44	58,7%
	FUMATORI	26	34,7%
CALO PONDERALE ALLA DIAGNOSI		12	16%
PERFORMANC E STATUS ALLA DIAGNOSI	ECOG 0	49	65,3%
	ECOG 1	23	30,7%
	ECOG 2	2	2,7%
	ECOG 3	0	0%
COMORBIDITA'	NEOPLASIE BENIGNE	19	25,3%
	PREGRESSI TUMORI	12	16%
	PATOLOGIE AUTOIMMUNI	3	4%
	PATOLOGIE TIROIDEE	6	8%
	DISTURBI METABOLICI	25	33,3%
	COMORBIDITA' GI	14	18,7%

	COMORBIDITA' RESPIRATORIE	12	16%
	COMORBIDITA' RENALE	4	5,3%
	MALATTIE INFETTIVE	8	10,7%
	MALATTIE CARDIO-VASCOLARI	41	54,7%
FARMACI CONCOMITANTI	CARDIOASPIRINA	20	26,7%
	CORTISONICI	53	70,7%
	OPPIACEI	20	26,7%
	INIBITORI DI POMPA PROTONICA	44	58,7%
	STATINE	19	25,3%
	IPOGLICEMIZZANTI ORALI	14	18,7%

Dei 75 pazienti, 34 (45,3%) pazienti presentavano ipoalbuminemia prima di iniziare il trattamento immunoterapico e 16 (21,3%) presentavano un peggioramento dell'ipoalbuminemia entro la prima rivalutazione di malattia.

Ventidue pazienti (29,3%) presentavano neutrofilia e 18 (24%) linfopenia prima di iniziare il trattamento immunoterapico. Di questi rispettivamente 7 (9,3%) e 15 (20%) presentavano un peggioramento o comparsa di queste alterazioni entro la prima rivalutazione di malattia. Diciassette pazienti (22,7%) erano iponatremici all'inizio del trattamento immunitario.

I fattori laboratoristici pre-immunoterapia sono riassunti nella tabella 15.

Tabella 15 - Fattori laboratoristici al trattamento con immunoterapia

PARAMETRO	NUM. PAZIENTI	PERCENTUALE
NEUTROFILIA	22	29,3%
LINFOPENIA	18	24%
PIASTRINOSI	13	17,3%
IPONATREMIA	17	22,7%
IPOALBUMINEMIA	34	45,3%
PEGGIORAMENTO IPOALBUMINEMIA	16	21,3%
PEGGIORAMENTO ANEMIA	15	20%
PEGGIORAMENTO NEUTROFILIA	7	9,3%
PEGGIORAMENTO LINFOPENIA	15	20%
PEGGIORAMENTO MONOCITOSI	4	5,3%

Il 74,7%, corrispondente a 56 pazienti, si presentava già in stadio IV di malattia all'inizio del trattamento immunoterapico. Il 33,3% dei pazienti aveva un carcinoma squamocellulare, il 64% un adenocarcinoma. L'espressione di PD-L1 è stata valutata nel 70,7% dei casi e di

questi 34 erano strong positive (>50%). I dati relativi al tumore e i fattori radiologici considerati sono riassunti nella tabella 16.

Tabella 16 - Fattori legati alla neoplasia

PARAMETRO		NUM. PAZIENTI	PERCENTUALE
STADIO ALLA DIAGNOSI	IIIB	10	13,3%
	IV	56	74,7%
ISTOTIPO	ADENOCARCINOMA	48	64%
	SQUAMOCELLULARE	25	33,3%
	Ca a GRANDI CELLULE	0	0%
	Ca INDIFFERENZIATO	0	0%
	MISTO	1	1,3%
PROFILO MOLECOLARE	MUTAZIONE EGFR	3	4%
	MUTAZIONE KRAS	21	28%
	MUTAZIONE N-RAS	2	2,7%
	MUTAZIONE PIK3CA	3	4%
	MUTAZIONE K-RAS e PIK3CA	1	1,3%
	MUTAZIONE N-RAS e PIK3CA	0	0%
PD-L1 VALUTATO	SI	53	70,7%
	NO	17	22,7%
PD-L1 ESPRESSIONE	< 1%	10	13,3%
	1-50%	9	12%
	≥50%	34	45,3%

Sette (9,3%) pazienti sono ricaduti dopo chirurgia radicale e 39 (52%) pazienti hanno ricevuto radioterapia prima o durante il trattamento immunitario. La maggior parte dei pazienti ha ricevuto immunoterapia in linee successive alla prima, in particolare 39 pazienti (52%) hanno ricevuto immunoterapia in seconda linea. Considerando le varie linee di terapia 6 pazienti hanno ricevuto atezolizumab all'interno di un protocollo di studio, 30 pazienti hanno ricevuto nivolumab (40%), mentre 41 (54,7%) pazienti hanno ricevuto pembrolizumab.

Sei pazienti hanno discontinuato il trattamento per tossicità di grado 3-4:

- Tre pazienti avevano ricevuto nivolumab; di questi uno ha presentato ipofisite al quattordicesimo ciclo, un'altra reazione infusoriale al secondo ciclo e l'ultimo

tossicità cutanea al cinquantaduesimo ciclo. Di questi, due pazienti hanno avuto una RC per cui l'immunoterapia non è stata ripresa.

- Due pazienti avevano ricevuto pembrolizumab; di questi uno in prima linea e l'altro in seconda linea. Il primo ha presentato tossicità cardiaca al settimo ciclo, il secondo tossicità cutanea al ventitreesimo ciclo. Il primo ha poi iniziato una terza linea di terapia mentre il secondo non ha ripreso l'immunoterapia per RC.
- Un paziente aveva ricevuto atezolizumab in seconda linea e ha presentato tossicità polmonare al decimo ciclo, motivo per cui ha poi iniziato una terza linea di terapia.

Alla prima rivalutazione di malattia 33 pazienti (44%) presentavano un controllo di malattia (RC+RP+SD) mentre 42 (56%) un quadro di progressione (tabella 17).

Tabella 17 - Fattori legati al trattamento

PARAMETRO		NUM. PAZIENTI	PERCENTUALE
<i>PREGRESSO</i>	<i>SI</i>	7	9,3%
<i>INTERVENTO</i>	<i>NO</i>	68	90,7%
<i>RADIOTERAPIA</i>	<i>SI</i>	39	52%
	<i>NO</i>	36	48%
<i>LINEA</i>	<i>1</i>	32	42,7%
<i>IMMUNOTERAPIA</i>	<i>2</i>	41	54,7%
	<i>3</i>	4	5,3%
	<i>4</i>	2	2,7%
	<i>5</i>	1	1,3%
<i>PEMBROLIZUMAB</i>		39	52%
<i>NIVOLUMAB</i>		30	40%
<i>ATEZOLIZUMAB</i>		6	8%
<i>N. CICLI MEDIA</i>			
-	<i>MEDIA</i>	32,5	
-	<i>RANGE</i>	1-64	
<i>RISPOSTA</i>	<i>RC</i>	3	4%
<i>AL TRATTAMENTO</i>	<i>RP</i>	27	36%
<i>IMMUNITARIO</i>	<i>SD</i>	6	8%
	<i>PD</i>	42	56%
<i>TOSSICITÀ</i>	<i>SI</i>	16	21,3%
	<i>NO</i>	59	78,7%
	<i>SOSPENSIONE PER TOX</i>	6	8%

Considerando l'intera popolazione di pazienti che ha ricevuto immunoterapia in qualunque linea, siamo andati a vedere quali sono i fattori prognostici, ovvero quei fattori che influenzano la sopravvivenza dei pazienti. Abbiamo considerato la sopravvivenza come l'intervallo di tempo intercorso tra la diagnosi e la morte/ultimo follow-up.

Overall Survival (OS)

Il primo parametro analizzato riguarda l'esordio di malattia e i pazienti che esordivano con calo ponderale avevano una prognosi peggiore con mOS pari a 9,1 mesi (95% CI 6.1-15.7) vs. 32.0 mesi (95%CI 8.9-45.2) di coloro che non avevano un calo ponderale alla diagnosi (p: 0.0269). Figura 22.

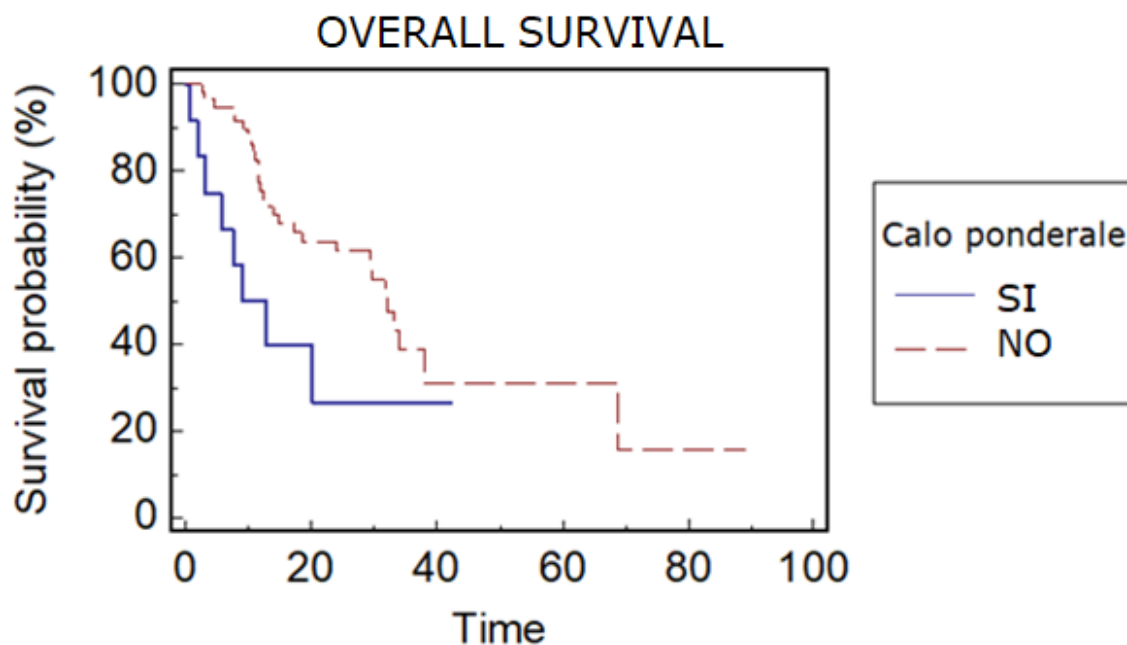


Figura 22 - Sopravvivenza nei pz trattati con immunoterapia divisi per comparsa di calo ponderale o meno all'inizio della terapia.

I pazienti che hanno ricevuto oppiacei durante il loro percorso terapeutico, hanno manifestato una prognosi peggiore con mOS pari a 17,3 mesi (95%CI 11.4-23.6) rispetto ai 33.9 mesi (95%CI 22.7-40.1) dei pazienti a cui non sono stati somministrati oppiacei (p: 0.0459). Figura 23.

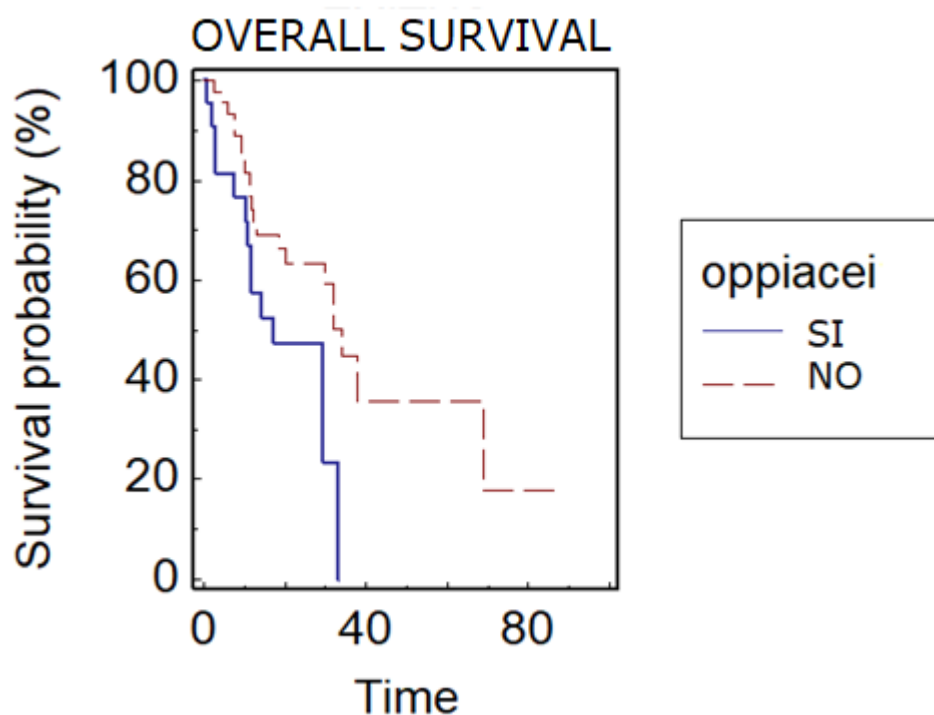


Figura 23 - Sopravvivenza nei pz trattati con immunoterapia divisi per somministrazione o meno di oppiacei durante il trattamento

Pazienti che hanno ricevuto morfina hanno manifestato una prognosi peggiore con mOS pari a 2.78 mesi rispetto a quelli che non l'hanno ricevuta ($p \leq 0.0001$). Figura 24.

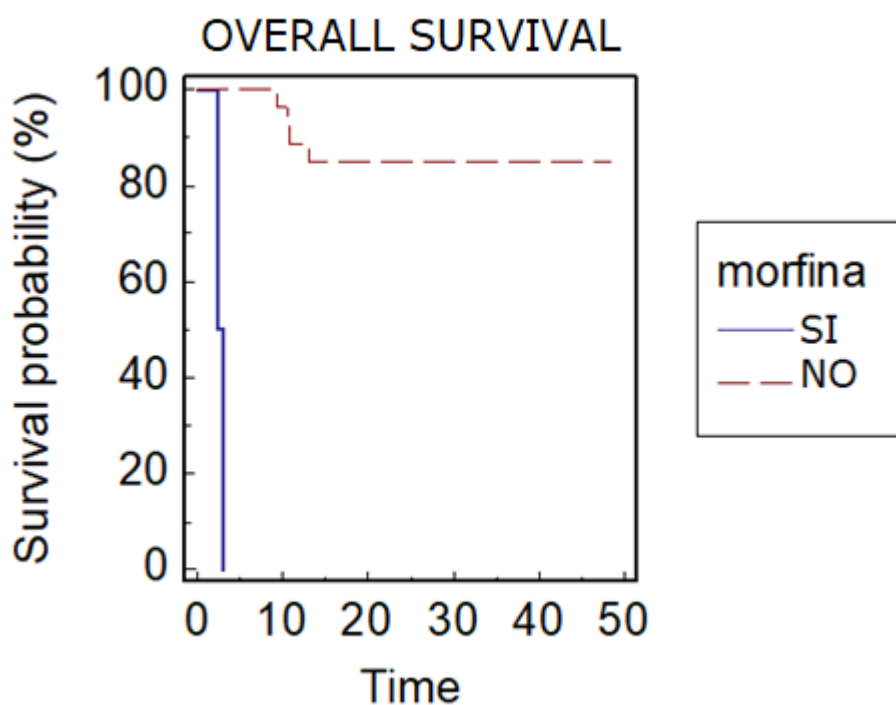


Figura 24 - Sopravvivenza nei pz trattati con immunoterapia divisi per somministrazione o meno di morfina durante il trattamento

Nessuna differenza in termini di OS è stata evidenziata nei pz che hanno ricevuto codeina, ossicodone, fentanyl, idromorfone.

Nella nostra casistica non c'è stata differenza in termini di OS tra i pazienti che hanno ricevuto immunoterapia in prima linea o nelle linee successive.

Sesso, età (presi in esame come cut-off 65-70-75 anni), ECOG (0 vs. 1), istologia, neutrofilia, linfopenia, iponatremia non sono risultati fattori prognostici.

I pazienti che presentavano un alterato rapporto N/L hanno avuto una peggiore prognosi, con mOs pari a 17.3 mesi (CI 95% 12.8-23.9) rispetto ai 68.9 mesi (47.2-75.4) di quelli con rapporto N/L normale ($p=0.0116$) (Cut-off calcolato con curva ROC a 3,5).

La localizzazione ossea di malattia è risultata essere un fattore prognostico negativo, con mOS di 5.57 mesi (CI95% 1.7- 9.2) rispetto ai pazienti negativi per metastasi alle ossa ($p=0.0357$). Figura 25.

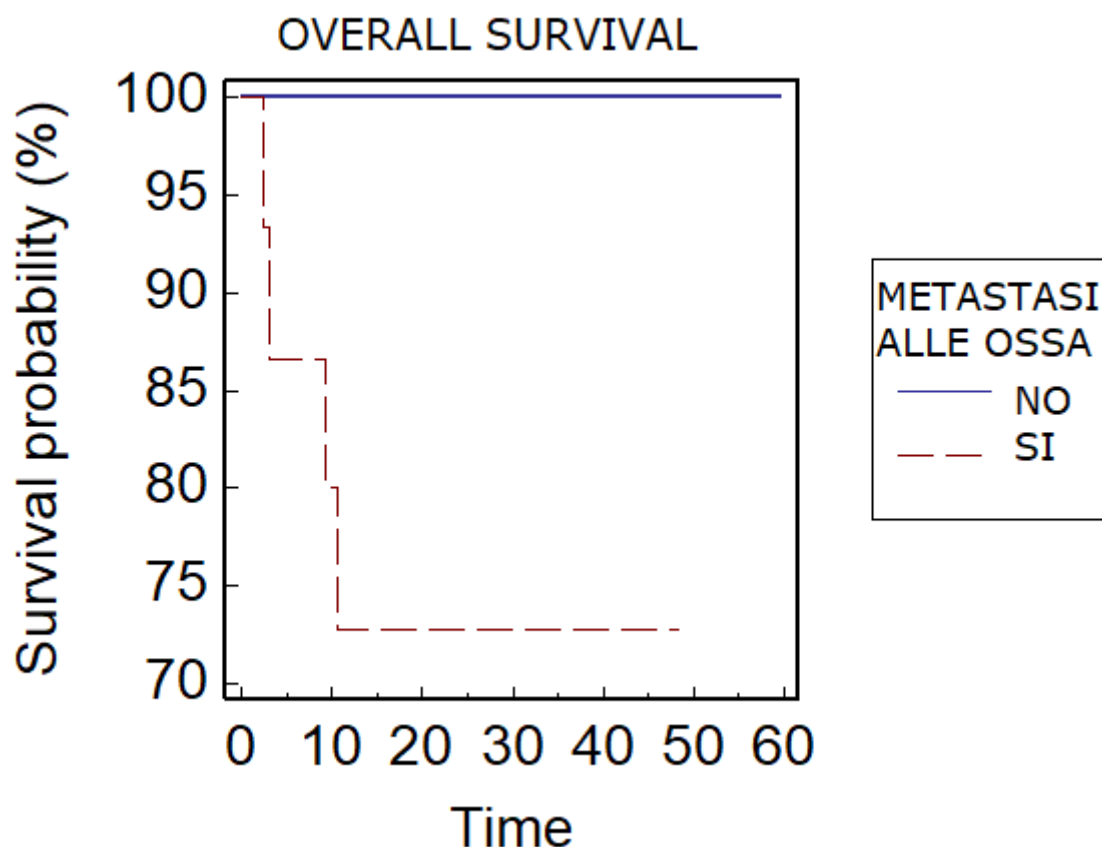


Figura 25 - Sopravvivenza nei pz trattati con immunoterapia divisi in base alla presenza di metastasi ossee

Progression Free Survival (PFS) alla prima linea

Sesso, età (presi in esame come cut-off 65-70-75 anni), ECOG (0 vs 1), istologia, neutrofilia, linfopenia, iponatremia non sono risultati fattori predittivi.

Andando ad analizzare i pazienti che hanno ricevuto oppioidi in prima linea, non c'è differenza in termini di PFS nè di OS tra chi ha ricevuto chemioterapia o immunoterapia.

Andando ad analizzare solo i pazienti che hanno ricevuto immunoterapia in prima linea, non c'è differenza statisticamente significativa tra chi ha ricevuto oppioidi e chi non li ha ricevuti.

Tra le analisi di correlazione siamo andati a valutare la correlazione tra uso di oppiacei e presenza di metastasi ossee che non è risultato statisticamente significativo. Nessuna correlazione tra uso di oppiacei e linfopenia, neutrofilia o alterato N/L.

Progression Free Survival (PFS) alla seconda linea

I pazienti che hanno ricevuto oppiacei in seconda linea durante il trattamento con immunoterapia hanno una peggiore prognosi, con mPFS pari a 4.9 mesi (95%CI 2.3-7.8) rispetto a 11.3 mesi (95%CI 5.7-18.3) dei pazienti che non li hanno ricevuti (P: 0.0207).
Figura 26.

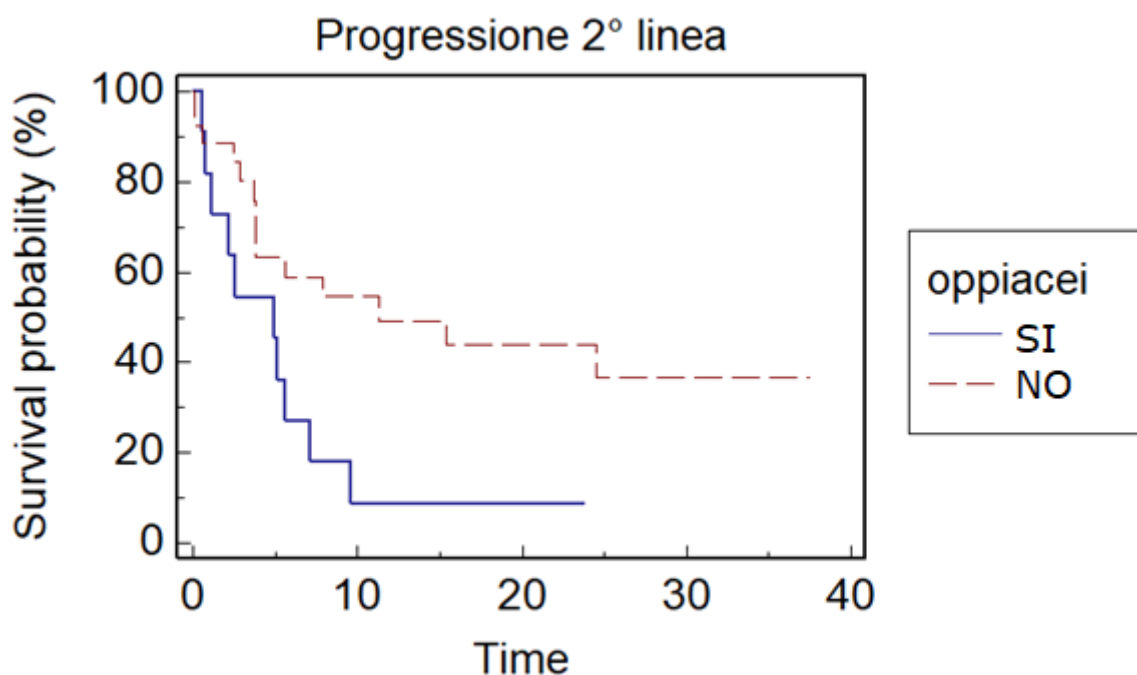


Figura 26 - Sopravvivenza libera da progressione nei pazienti trattati con immunoterapia in base alla terapia con oppiacei

Non c'è nessuna differenza in base al tipo di oppiaceo ricevuto, all'aumento del dosaggio e al tipo di oppiaceo ricevuto.

La sede ossea di localizzazione di malattia si conferma essere fattore prognostico negativo, con una mPFS pari a 3.72 mesi (95%CI 1.5-5.8) per i pazienti con metastasi ossee rispetto a quelli che non avevano coinvolgimento osseo di malattia ($p=0.0001$). Figura 27.

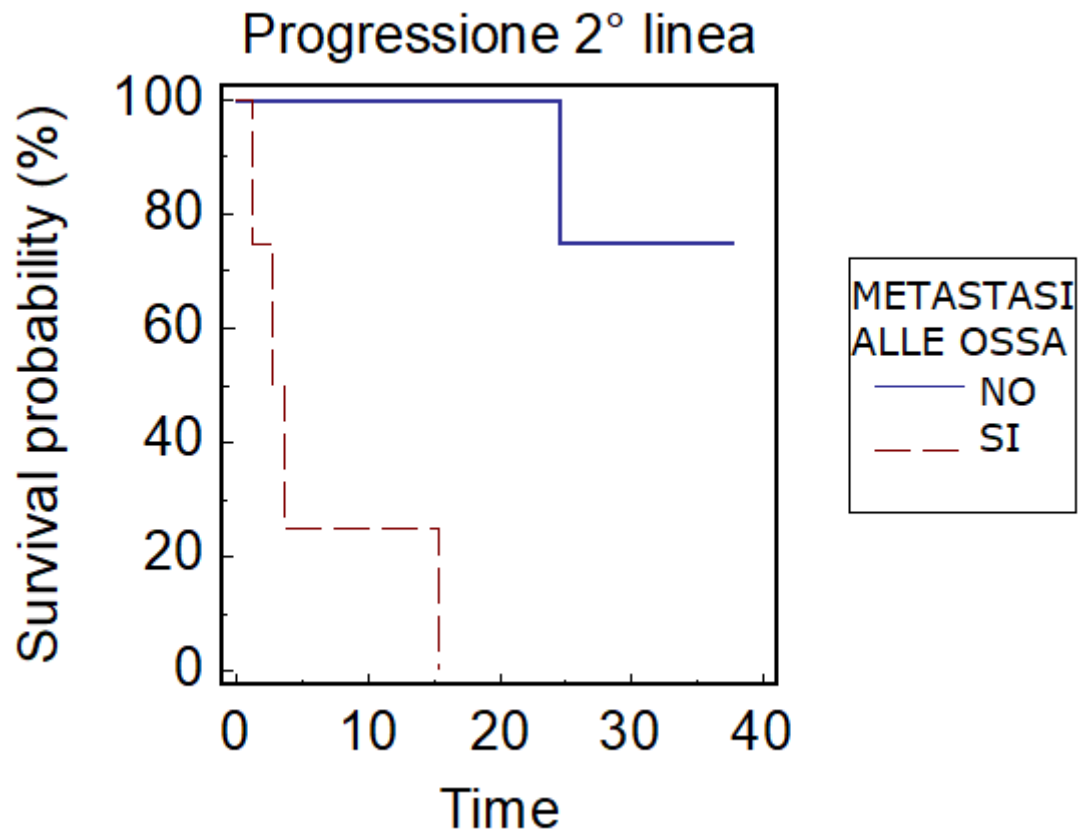


Figura 27 - Sopravvivenza libera da progressione nei pazienti trattati con immunoterapia in base alla presenza di metastasi ossee

Pazienti con ECOG > 2 avevano una mPFS di 0.1 mesi, peggiore rispetto ai pazienti con ECOG <2 la cui mPFS era pari a 5.56 mesi ($p:<0.0001$). Figura 28.

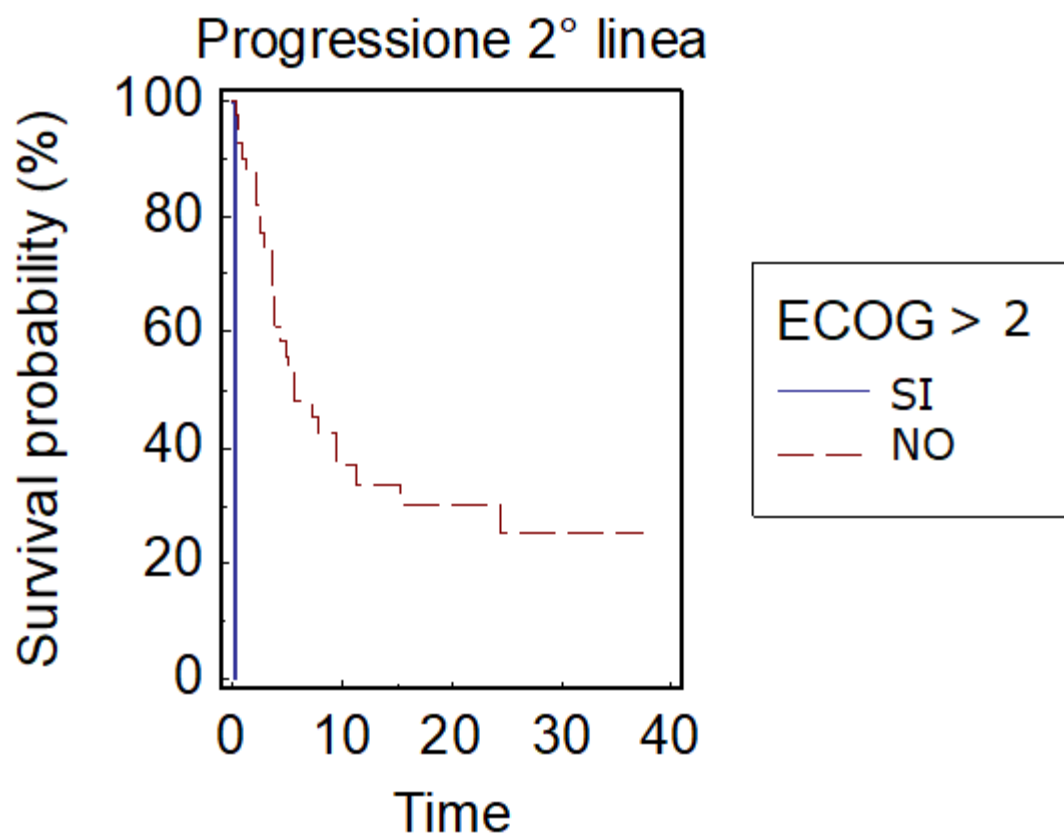


Figura 28 - Sopravvivenza libera da progressione nei pazienti trattati con immunoterapia in base all'ECOG maggiore o minore di 2

Linfopenia, neutrofilia e N/L non sono risultati fattori prognostici in seconda linea.

All'analisi multivariata il performance status sec. ECOG e l'uso di oppiacei sono risultati essere fattori prognostici indipendenti.

CAPITOLO 4: DISCUSSIONE

Gli oppioidi rappresentano la terapia fondamentale per il trattamento del dolore correlato al cancro. Tuttavia, studi preclinici suggeriscono che gli oppioidi possono causare immunosoppressione; d'altra parte negli ultimi anni i farmaci immunoterapici sono diventati disponibili per il trattamento di pazienti con NSCLC avanzato [300]. L'obiettivo di questo studio retrospettivo è valutare il ruolo prognostico e predittivo degli oppiacei in pazienti affetti da NSCLC e trattati con immunoterapia, al fine di identificare ulteriori fattori che aiutino il clinico a selezionare il paziente da sottoporre a trattamenti immunoterapici. Per completare lo studio con l'analisi multivariata, è stato valutato anche il ruolo prognostico e predittivo di ulteriori fattori clinici e laboratoristici.

Nella nostra casistica non c'è stata differenza in termini di OS tra i pazienti che hanno ricevuto immunoterapia in prima linea o nelle linee successive. Questo è dovuto al fatto che molti pazienti in prima linea sono ancora in trattamento, motivo per cui i dati non sono ancora maturi.

Analizzando i dati presenti in letteratura, i risultati dello studio KEYNOTE-024, che ha confrontato, per la prima volta al mondo, un regime di chemioterapia standard con un immunoterapico (in questo caso il Pembrolizumab), hanno dimostrato la superiorità di quest'ultimo **anche** nella 1° linea di trattamento del cancro del polmone non a piccole cellule (NSCLC). Nei pazienti con NSCLC avanzato ed espressione di PD-L1 su almeno il 50% delle cellule tumorali, Pembrolizumab è stata associata ad un tempo significativamente più lungo di malattia libera da progressione e a una sopravvivenza globale prolungata, con un minor numero di eventi avversi di quanto non fosse provocato dalla chemioterapia a base di platino ricevuta in prima linea (nonostante il passaggio a pembrolizumab in seconda linea) [301].

Sempre nella nostra casistica, fattori come **sex**, **età** (presi come cut-off 65-70-75 anni) e **istologia** non sono risultati fattori prognostici né predittivi.

In uno studio retrospettivo riscontrato in letteratura invece è stata evidenziata una miglior risposta all'immunoterapia in termini di OS e PFS in pazienti trattati con immunoterapia in prima linea, di sesso maschile, con assenza di metastasi ossee e pleuriche e forte espressione di PD-L1 [302].

Iniziando a valutare i fattori clinici dei pazienti trattati con immunoterapia, il primo parametro che lo studio ha evidenziato riguarda i pazienti che avevano un **esordio di malattia con calo ponderale**. In questo studio il calo ponderale alla diagnosi rappresenta un fattore prognostico negativo con una mOS pari a 9,1 mesi rispetto a 32,0 mesi dei pazienti senza calo ponderale all'esordio di malattia (p: 0.0269). Questi dati non sono sempre in linea con i dati in letteratura.

Infatti in uno studio su 81 pazienti con NSCLC in stadio IIIB/IV è stata analizzata retrospettivamente la relazione tra la perdita di peso alla diagnosi e la prognosi di questi pazienti. Dall'analisi è emerso che la OS nei pazienti con NSCLC e perdita di peso alla diagnosi è simile a quella dei pazienti senza alcuna perdita di peso. Sempre in questo studio è stato evidenziato che la perdita di peso alla diagnosi è un fattore di rischio indipendente per la PFS più breve, ma non ha alcun effetto in termini di OS [303]. Alcuni studi riportati in letteratura hanno invece dimostrato che la perdita di peso all'esordio di malattia è un fattore prognostico indipendente sia per il NSCLC che per il carcinoma polmonare a piccole cellule [304-306]. La perdita di peso è causata da un bilancio proteico ed energetico negativo nei pazienti oncologici [307]. Le cause alla base di questo bilancio alterato sono il cancro stesso, la chirurgia, gli effetti collaterali come la perdita di appetito, sazietà precoce, malassorbimento, nausea, vomito, diarrea, mucosite, perdita del gusto causata dalle modalità di trattamento comprese la radioterapia e chemioterapia, e fattori psicosociali come depressione, abitudini alimentari, fumo e assunzione di alcolici [308-310]. Quindi malnutrizione e perdita di peso nei pazienti malati di cancro hanno un'eziologia multifattoriale. Il processo catabolico indotto dalla risposta immunitaria contro la crescita del tumore è associato alla compromissione del bilancio energetico. Questo equilibrio energetico alterato a causa di disordini immuno-mediati e della risposta infiammatoria è indicato come cachessia [310].

Nella casistica di questo studio **l'ECOG** non è risultato un fattore prognostico né un fattore predittivo di risposta alla prima linea di immunoterapia.

La valutazione del PS è una parte importante della cura dei malati di cancro. Strumenti validati, come la scala ECOG, aiutano i medici a eseguire una valutazione globale prima e durante i trattamenti antitumorali, per indirizzare i pazienti agli studi clinici e sviluppare linee guida per le raccomandazioni cliniche [311]. Secondo gli studi in letteratura un ECOG-PS ≥ 2 rappresenta spesso una controindicazione ben definita agli approcci più aggressivi di chemioterapia e radioterapia in ambito NSCLC, considerando l'equilibrio tra possibili rischi e benefici [312, 313]. Al contrario, sono disponibili pochi dati sulla gestione

dell'immunoterapia secondo la PS principalmente a causa dell'esclusione di pazienti fragili dagli studi clinici. Una recente meta-analisi, insieme a numerosi studi sugli inibitori del checkpoint immunitario nei tumori solidi, non ha confermato una differenza di OS secondo ECOG-PS [314].

Nella nostra casistica i pazienti con ECOG > 2 avevano una mPFS di 0.1 mesi alla seconda linea di immunoterapia, peggiore rispetto ai pazienti con ECOG <2 la cui mPFS era pari a 5.56 mesi ($p<0.0001$).

Questi dati sono confermati anche da un recente studio retrospettivo che ha coinvolto 102 pazienti con NSCLC in stadio IIIB-IV nella valutazione dei fattori predittivi di risposta alla terapia con Nivolumab in diverse linee di terapia: i risultati di questo studio riguardanti l'impatto delle condizioni di salute dei pazienti sull'efficacia dell'immunoterapia con Nivolumab sono anche allineati a quelli precedentemente descritti in letteratura, e riportano che un ECOG ≥ 2 ha costantemente dimostrato di essere un fattore predittivo indipendente di scarsa sopravvivenza [315].

Analizzando i **parametri di laboratorio** valutati in questo studio, **neutrofilia e linfopenia** non sono risultate un fattore prognostico nè predittivo.

Questi dati non concordano con i dati presenti in letteratura in quanto in uno studio retrospettivo di 134 pazienti con NSCLC avanzato e trattati con nivolumab è stato analizzato il ruolo prognostico e predittivo della conta dei neutrofili, linfociti, monociti, eosinofili pre-trattamento. Dall'analisi è emerso che neutrofili $<7500/\text{mmc}$, linfociti $>1000/\text{mmc}$ ed eosinofili $>150/\text{mmc}$ sono risultati associati ad una migliore OS e migliore PFS [316].

In questa casistica invece i pazienti che presentavano un alterato rapporto N/L hanno avuto una peggiore prognosi, con mOs pari a 17.3 mesi rispetto ai 68.9 mesi di quelli con rapporto N/L normale ($p=0.0116$) (Cut-off calcolato con curva ROC a 3,5), in accordo con i dati presenti in letteratura.

Un elevato rapporto N/L pre-trattamento in uno studio era associato a PFS e OS più brevi in pazienti con NSCLC avanzato trattati con chemioterapia di prima linea a base di platino, target therapy e immunoterapia [317, 318]. Nello studio di Jiang et al., che ha preso in considerazione l'utilizzo dell'immunoterapia nei tumori di stadio avanzato, i risultati sono simili [319].

I pazienti che hanno ricevuto **oppiacei** durante il loro percorso terapeutico, avevano una prognosi peggiore con mOS pari a 17,3 mesi rispetto ai 33,9 mesi dei pazienti a cui non sono stati somministrati oppiacei (p: 0.0459).

L'attività immunosoppressiva degli oppioidi è nota in letteratura, sebbene la maggior parte delle evidenze derivi da un modello preclinico su linee cellulari e animali. La presenza dei recettori degli oppioidi sulle cellule immunitarie nei modelli in vitro, in particolare il tipo μ , dimostra un'interazione diretta tra oppioidi e sistema immunitario [320]. Altri effetti indiretti noti sono mediati dall'asse neuroendocrino che comporta il rilascio di glucocorticoidi e l'attivazione del sistema nervoso simpatico [321]. Nello studio retrospettivo di Zylla et al. che ha valutato 209 pazienti con NSCLC in stadio IIIB/IV è stato evidenziato che la presenza di dolore cronico grave o un maggiore fabbisogno quantitativo di oppioidi era associata a una sopravvivenza marcatamente più breve in pazienti con NSCLC avanzato, indipendentemente da noti fattori prognostici clinici [322].

Nella nostra casistica inoltre i pazienti che hanno ricevuto morfina hanno una prognosi peggiore con mOS pari a 2,78 mesi rispetto a quelli che non l'hanno ricevuta ($p < 0.0001$), mentre non è stata evidenziata nessuna differenza in termini di OS nei pz che hanno ricevuto codeina, ossicodone, fentanyl, idromorfone.

In letteratura i dati sembrano più complicati considerando che diversi oppioidi, diverse dosi di oppioidi o modi di somministrazione degli oppioidi mostrano vari effetti sul sistema immunitario [323]. Secondo il modello murino di Cheido et al. l'attivazione del recettore degli oppioidi δ riduce la produzione di anticorpi IgM e IgG, mentre l'attivazione del recettore degli oppioidi μ promuove l'aumento delle IgM [324]. Codeina, metadone, morfina, fentanyl e remifentanyl hanno mostrato attività prevalentemente immunosoppressiva, mentre l'idromorfone, l'ossicodone e il tramadolo hanno riportato un lieve effetto. Al contrario, la buprenorfina non ha un'azione negativa sul sistema immunitario e può attivare la funzione immunitaria [325]. La morfina inibisce vari aspetti delle funzioni delle cellule T, come vitalità cellulare, risposta proliferativa, funzione delle cellule T-helper e può orientare l'equilibrio delle cellule T helper nella direzione di tipo 2. Inoltre, la morfina modula l'attività dei macrofagi riducendo la produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-1 β , IL-2, TNF- α e IFN- γ) e aumentando la secrezione di citochine anti-infiammatorie (TGF- β 1 e IL-10) [326]. Allo stesso modo, dosi più elevate di morfina possono inibire l'attività delle cellule NK, mentre dosi più basse possono aumentare la citotossicità delle cellule NK [327, 328].

Andando ad analizzare i pazienti della nostra casistica che hanno ricevuto oppioidi in prima linea, non c'è differenza in termini di PFS né di OS tra chi ha ricevuto chemioterapia o immunoterapia e, analizzando solo i pazienti che hanno ricevuto immunoterapia in prima

linea, non c'è differenza statisticamente significativa tra chi ha ricevuto oppioidi e chi non li ha ricevuti.

Sempre nella nostra casistica invece i pazienti che hanno ricevuto oppiacei in seconda linea durante il trattamento con immunoterapia hanno una peggiore prognosi, con mPFS pari a 4.9 mesi rispetto a 11.3 mesi dei pazienti che non li hanno ricevuti (P: 0.0207).

In letteratura non ci sono dati sul ruolo degli oppiacei concomitanti a chemioterapia o immunoterapia in termini di PFS e di OS.

Tra le analisi di correlazione della nostra casistica siamo andati a valutare la correlazione tra uso di oppiacei e presenza di metastasi ossee che non è risultato statisticamente significativo.

Nonostante il risultato non significativo e l'assenza di dati in letteratura che studiano la stretta correlazione tra utilizzo di oppiacei e metastasi ossee, in letteratura sono presenti studi che valutano la relazione tra l'uso di oppiacei, progressione tumorale e sviluppo di metastasi. I potenziali meccanismi coinvolti nella progressione del cancro comprendono il peggioramento della risposta immunitaria mediato dal dolore e la tolleranza alle terapie antitumorali e persino un effetto negativo degli oppioidi attraverso l'attivazione di recettori μ [322, 329]. Alcuni studi prospettici suggeriscono che l'esposizione sistemica agli oppioidi endogeni o farmacologici promuova la progressione del cancro nei pazienti con astrocitomi, carcinoma pancreatico e vari tumori solidi avanzati incluso il cancro ai polmoni. I dati preclinici sui meccanismi cellulari e sui modelli murini dimostrano che gli oppioidi promuovono la progressione e lo sviluppo di metastasi da carcinoma polmonare, riducendo la sopravvivenza. Gli oppioidi attivano direttamente la cascata del segnale tramite recettori μ degli oppioidi (MOR), e anche attivando il recettore delle tirosin chinasi, incluso il recettore del fattore di crescita endoteliale 2 e il recettore del fattore di crescita epidermico nelle cellule endoteliali e tumorali polmonari, rispettivamente. L'espressione del MOR è aumentata nei campioni di carcinoma polmonare umano rispetto al tessuto polmonare normale, e ha valore anche più alto nei tumori polmonari con metastasi ai linfonodi. Pertanto, gli oppioidi potrebbero essere associati alla progressione del tumore polmonare nei pazienti [322].

Nella nostra casistica non è emersa alcuna correlazione tra uso di oppiacei e linfopenia, neutrofilia o alterato N/L.

Per quanto riguarda le **caratteristiche di diffusione del tumore**, la localizzazione ossea di malattia è risultata essere un fattore prognostico negativo in prima linea di terapia, con

mOS di 5.57 mesi rispetto ai pazienti negativi per metastasi alle ossa ($p=0.0357$), e si conferma esserlo anche in seconda linea, con una mPFS pari a 3.72 mesi per i pazienti con metastasi ossee rispetto a quelli negativi per le stesse ($p=0.0001$).

Questi dati sono solo parzialmente concordi con i dati di letteratura, i quali hanno dimostrato come le sedi ossee ed epatiche di malattia si associno ad una peggiore prognosi e ridotta sopravvivenza libera da malattia. La maggiore resistenza di queste sedi metastastiche al trattamento immunoterapico sembra essere dovuta alla tendenza delle cellule tumorali a creare un microambiente tumorale immunosoppressivo, che impedisce ai linfociti T attivati di svolgere la loro funzione antitumorale [330, 331].

CAPITOLO 5: CONCLUSIONE

Questo studio ha analizzato la relazione tra immunoterapia e il trattamento con oppioidi nei pazienti con NSCLC rivelando sia il ruolo prognostico negativo sia il ruolo predittivo negativo degli stessi.

Inoltre questo studio ha confermato importanti fattori prognostici e predittivi di risposta al trattamento immunoterapico come l'ECOG, i parametri di laboratorio e la presenza di metastasi ossee. I dati emersi da questo studio possono avere un importante risvolto nella pratica clinica e aiutare il clinico nella selezione del paziente da sottoporre a trattamento immunoterapico.

Questo studio presenta ovviamente delle limitazioni legate alla retrospettività dei dati analizzati e alla scarsa numerosità del campione monocentrico, suscettibile di bias nella selezione e nell'analisi dei dati. Inoltre i pazienti avevano ricevuto farmaci immunoterapici differenti con potenziali differenti meccanismi d'azione, capaci pertanto di interferire diversamente con i parametri analizzati.

Sono necessarie ulteriori ricerche prospettiche per capire meglio se esiste una soglia in termini di dose e tempo di somministrazione per gli oppioidi in modo da non influenzare l'outcome di pazienti trattati con anti-PD-1 / anti-PD-L1. Sarebbe inoltre importante valutare quali sono gli oppioidi più adatti da utilizzare durante l'immunoterapia.

CAPITOLO 6: BIBLIOGRAFIA

- [1] Barta, J.A., Powell, C.A. and Wisnivesky, J.P., 2019. Global Epidemiology of Lung Cancer. *Annals of Global Health*, 85(1), p.8.
- [2] Estimated cancer incidence in 2018, Globocan 2018. <https://gco.iarc.fr/today/home>
- [3] Estimated lung cancer incidence worldwide. Globocan 2018. <https://gco.iarc.fr/today/home>
- [4] Qun-Ying Hong, Guo-Ming Wu, Gui-Sheng Qian, Cheng-Ping Hu, Jian-Ying Zhou, Liang-An Chen, Wei-Min Li, Shi-Yue Li, Kai Wang, Qi Wang, et al. Cancer. Prevention and management of lung cancer in China. 2015 Sep 1; 121 (Suppl 17)
- [5] Charles S. Dela Cruz, Lynn T. Tanoue, Richard A. Matthay Clin Chest Med. Lung Cancer: Epidemiology, Etiology, and Prevention. Author manuscript; available in PMC 2013 Dec 16. Published in final edited form as: Clin Chest Med. 2011 Dec.
- [6] I numeri del cancro in Italia 2019. AIOM-AIRTUM
- [7] Estimated lung cancer mortality and prevalence, Globocan 2018. <https://gco.iarc.fr/today/home>
- [8] Anil Vachani, Lecia V. Sequist, and Avrum Spira; Division of Pulmonary, Allergy, and Critical Care Medicine, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania; Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts and Section of Computational; Biomedicine, Department of Medicine, Boston University Medical Center, Boston, Massachusetts. AJRCCM: 100-YEAR ANNIVERSARY, The Shifting Landscape for Lung Cancer: Past, Present, and Future. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* Volume 195 Number 9 | May 1 2017.
- [9] Anthony J. Alberg, PhD, MPH; Malcolm V. Brock, MD; Jean G. Ford, MD, MPH, FCCP; Jonathan M. Samet, MD, FCCP; and Simon D. Spivack, MD, MPH;

Epidemiology of Lung Cancer, Diagnosis and Management of Lung Cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines; CHEST, DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF LUNG CANCER, 3RD ED: ACCP GUIDELINES journal.publications.

- [10] Jyoti Malhotra, Matteo Malvezzi, Eva Negri, Carlo La Vecchia, Paolo Boffetta; Risk factors for lung cancer worldwide; European Respiratory Journal 2016 48: 889-902; DOI: 10.1183/13993003.00359-2016

- [11] Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up

- [12] Lais Osmani, MD, Frederic Askin, MD, Edward Gabrielson, MD, and Qing Kay Li, MD, PhD Department of Pathology, Johns Hopkins Medical Institutions, Baltimore, MD 21224; Current WHO Guidelines and the Critical Role of Immunohistochemical Markers in the Subclassification of NonSmall Cell Lung Carcinoma (NSCLC). Moving from Targeted Therapy to Immunotherapy. Published in final edited form as: Semin Cancer Biol. 2018 October; 52(Pt 1): 103–109. doi:10.1016/j.semcancer.2017.11.019.

- [13] Peter Hajek, Anna Phillips-Waller, B.Sc., Dunja Przulj, et al. A Randomized Trial of E-Cigarettes versus Nicotine- Replacement Therapy. N Engl J Med. 2019 Feb 14;380(7):629-637.

- [14] Auer R, Concha-Lozano N, Jacot-Sadowski I, et al. Heat-Not-Burn Tobacco Cigarettes: Smoke by Any Other Name. JAMA Intern Med. 2017 Jul 1;177(7):1050-1052.

- [15] National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Adams AM, Berg CD, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. N Engl J Med. 2011;365:395-409.

- [16] Pastorino U, Silva M, Sestini S, et al. Prolonged lung cancer screening reduced 10-year mortality in the MILD trial: new confirmation of lung cancer screening efficacy. Ann Oncol. 2019 Jun 5. pii: mdz169. doi: 10.1093/annonc/mdz169

- [17] Paci E, Puliti D, Lopes Pegna A, et al., the ITALUNG Working Group. Mortality, survival and incidence rates in the ITALUNG randomised lung cancer screening trial. *Thorax*. 2017 Sep;72(9):825-831.
- [18] Infante M, Cavuto S, Lutman FR, et al., DANTE Study Group. Long-Term Follow-up Results of the DANTE Trial, a Randomized Study of Lung Cancer Screening with Spiral Computed Tomography. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015 May 15;191(10):1166-75.
- [19] Rasmussen JF, Siersma V, Pedersen JH, Brodersen J. Psychosocial consequences in the Danish randomised controlled lung cancer screening trial (DLCST). *Lung Cancer*. 2015 Jan;87(1):65-72.
- [20] Veronesi G, Maisonneuve P, Rampinelli C, et al., Computed tomography screening for lung cancer: results of ten years of annual screening and validation of cosmos prediction model. *Lung Cancer*. 2013 Dec;82(3):426-30.
- [21] Yousaf-Khan U, van der Aalst C, de Jong PA, et al., Final screening round of the NELSON lung cancer screening trial: the effect of a 2.5-year screening interval. *Thorax*. 2017 Jan;72(1):48-56.
- [22] Becker N, Motsch E, Trotter A, et al., Lung cancer mortality reduction by LDCT screening-Results from the randomized German LUSI trial. *Int J Cancer*. 2019 Jun 4. doi: 10.1002/ijc.32486.
- [23] Field JK, Duffy SW, Baldwin DR, et al., UK Lung Cancer RCT Pilot Screening Trial: baseline findings from the screening arm provide evidence for the potential implementation of lung cancer screening. *Thorax*. 2016 Feb;71(2):161- 70.
- [24] De Koning H., Van Der Aalst C., Ten Haaf K., et al. Effects of Volume CT Lung Cancer Screening: Mortality Results of the NELSON Randomised-Controlled Population Based Trial. *Journal of Thoracic Oncology*, 2018; Volume 13, Issue 10, S185.

- [25] Oudkerk M, Devaraj A, Vliegenthart R, et al. European position statement on lung cancer screening. *Lancet Oncology* 2017 Dec;18(12):e754-e766.
- [26] van Klaveren RJ, Oudkerk M, Prokop M et al. Management of lung nodules detected by volume CT scanning *N Engl J Med.* 2009 Dec 3;361(23):2221-9.
- [27] Pastorino U, Sverzellati N, Sestini S, et al. Ten-year results of the Multicentric Italian Lung Detection trial demonstrate the safety and efficacy of biennial lung cancer screening. *Eur J Cancer.* 2019 Sep;118:142-148.
- [28] Usman Ali M, Miller J, Peirson L et al. Screening for lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Prev Med* 2016; 89:301-314
- [29] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma: executive summary. *Proc Am Thorac Soc.* 2011;8:381-5.
- [30] Rossi G, Pelosi G, Barbareschi M, et al. Subtyping non-small cell lung cancer: relevant issues and operative recommendations for the best pathology practice. *Int J Surg Pathol.* 2013;21:326-36.
- [31] De Sousa V.M.L., Carvalho L.; Heterogeneity in Lung Cancer. *Pathobiology* 2018;85:96–107
- [32] Mark A. Socinski, Coleman Obasaju, David Gandara, Fred R. Hirsch, Philip Bonomi, Paul A. Bunn, Jr, Edward S. Kim, Corey J. Langer, Ronald B. Natale, Silvia Novello, et al. *J Thorac. Current and Emergent Therapy Options for Advanced Squamous-Cell Lung Cancer.* *Oncol.* 2017 Nov 23 Published online 2017 Nov 23. doi: 10.1016/j.jtho.2017.11.111
- [33] David R. Gandara, Peter S. Hammerman, Martin L. Sos, Primo N. Lara, Jr, Fred R. Hirsch, *Clin Cancer Res. Squamous Cell Lung Cancer: From Tumor Genomics to Cancer Therapeutics.* Author manuscript; available in PMC 2016 May 15. Published in final edited form as: *Clin Cancer Res.* 2015 May 15; 21(10): 2236–2243. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3039; PMCID: PMC4862209

- [34] Mark A. Socinski, Coleman Obasaju, David Gandara, Fred R. Hirsch, Philip Bonomi, Paul Bunn, Edward S. Kim, Corey J. Langer, Ronald B. Natale, Silvia Novello, et al. Clinicopathologic Features of Advanced Squamous NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2016 Sep; 11(9): 1411–1422. Published online 2016 Jun 11. doi: 10.1016/j.jtho.2016.05.024
- [35] Fred R. Hirsch, Anna Spreafico, Silvia Novello, Mary Dugan Wood, Lorinda Simms, Mauro Papotti. The prognostic and predictive role of histology in advanced non-small cell lung cancer: a literature review. *J Thorac Oncol.* 2008 Dec; 3(12): 1468–1481. doi: 10.1097/JTO.0b013e318189f551
- [36] Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2011;6:244-285.
- [37] Kentaro Inamura. Clinicopathological Characteristics and Mutations Driving Development of Early Lung Adenocarcinoma: Tumor Initiation and Progression. *Int J Mol Sci.* 2018 Apr; 19(4): 1259. Published online 2018 Apr 23. doi: 10.3390/ijms19041259.
- [38] Xu Gao, Yan Zhang, Lutz Philipp Breitling, Hermann Brenner; Tobacco smoking and methylation of genes related to lung cancer development. *Oncotarget.* 2016 Sep 13; 7(37): 59017–59028. Published online 2016 Jun 14. doi: 10.18632/oncotarget.10007
- [39] Hassan Lemjabbar-Alaoui, Omer Hassan, Yi-Wei Yang, Petra Buchanan; *Biochim Biophys Acta.* Lung cancer: biology and treatment options. Author manuscript; available in PMC 2016 Dec 1. Published in final edited form as: *Biochim Biophys Acta.* 2015 Dec; 1856(2): 189–210. Published online 2015 Aug 19. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.08.002
- [40] Cao L, Li ZW, Wang M, et al. Clinicopathological characteristics, treatment and survival of pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma: a SEER population-based study. *PeerJ* 2019; 7: e6539

- [41] Rose-James A, Tt S. Molecular Markers with Predictive and Prognostic Relevance in Lung Cancer. *Lung Cancer Int.*;2012:729532.
- [42] Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2013;8:823-59.
- [43] Yoshihisa Kobayashi, Tetsuya Mitsudomi. Not all epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer are created equal: Perspectives for individualized treatment strategy. *Cancer Sci.* 2016 Sep; 107(9): 1179–1186. Published online 2016 Aug 9. doi: 10.1111/cas.12996
- [44] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* 2009;361:947-57.
- [45] Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol.* 2015;16:141-51.
- [46] Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012;13:239-46.
- [47] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378:113-125.
- [48] Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al., Improvement in Overall Survival in a Randomized Study That Compared Dacomitinib With Gefitinib in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer and EGFR-Activating Mutations. *J Clin Oncol.* 2018 Aug 1;36(22):2244-2250.

- [49] Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004;350:2129-39.
- [50] Shang-Gin Wu and Jin-Yuan Shih. Management of acquired resistance to EGFR TKI–targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. *Mol Cancer*. 2018; 17: 38. Published online 2018 Feb 19. doi: 10.1186/s12943-018-0777-1
- [51] Ettinger DS, Aisner DL, Wood DE, et al. NCCN Guidelines Insights: Non-Small Cell Lung Cancer, Version 5.2018. *J Natl Compr Canc Netw*. 2018;16:807-821.
- [52] Malapelle U, Bellevicine C, De Luca C, et al. EGFR mutations detected on cytology samples by a centralized laboratory reliably predict response to gefitinib in non-small cell lung carcinoma patients. *Cancer Cytopathol*. 2013;121:552-60.
- [53] Sherwood J, Dearden S, Ratcliffe M, et al. Mutation status concordance between primary lesions and metastatic sites of advanced non-small-cell lung cancer and the impact of mutation testing methodologies: a literature review. *J Exp Clin Cancer Res*. 2015;34:92.
- [54] Malapelle U, Sirera R, Jantus-Lewintre E, et al. Profile of the Roche cobas® EGFR mutation test v2 for non-small cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017;17:209-215.
- [55] Pisapia P, Malapelle U, Troncone G. Liquid Biopsy and Lung Cancer. *Acta Cytol*. 2018. [Epub ahead of print].
- [56] Shang-Gin Wu, Jin-Yuan Shih. *Mol Cancer*. Management of acquired resistance to EGFR TKI–targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. 2018; 17: 38. Published online 2018 Feb 19. doi: 10.1186/s12943-018-0777-1
- [57] Singhi EK, Horn L, Sequist LV, Heymach J, Langer CJ. Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: Sequencing Agents in the EGFR-Mutated/ALK-Rearranged Populations. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019 Jan; 39:e187-e197. doi: 10.1200/EDBK_237821. Epub 2019 May 17.

- [58] Marchetti A, Pace MV, Di Lorito A, et al. Validation of a new algorithm for a quick and easy RT-PCR-based ALK test in a large series of lung adenocarcinomas: Comparison with FISH, immunohistochemistry and next generation sequencing assays. *Lung Cancer*. 2016;99:11-6.
- [59] Marchetti A, Di Lorito A, Pace MV, et al. ALK Protein Analysis by IHC Staining after Recent Regulatory Changes: A Comparison of Two Widely Used Approaches, Revision of the Literature, and a New Testing Algorithm. *J Thorac Oncol*. 2016;11:487-95.
- [60] Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. Lukas Bubendorf, Reinhard Büttner, Fouad Al-Dayel, Manfred Dietel, Göran Elmberger, Keith Kerr, Fernando López-Ríos, Antonio Marchetti, Büge Öz, Patrick Pauwels, Frédérique Penault-Llorca, Giulio Rossi, Aleš Ryška, Erik Thunnissen. *Virchows Arch*. 2016; 469(5): 489–503. Published online 2016 Aug 17. doi: 10.1007/s00428-016-2000-3
- [61] Savic S, Rothschild S, Bubendorf L. Lonely Driver ROS1. *J Thorac Oncol*. 2017;12:776-777.
- [62] Wu S, Wang J, Zhou L, et al. Clinicopathological characteristics and outcomes of ROS1-rearranged patients with lung adenocarcinoma without EGFR, KRAS mutations and ALK rearrangements. *Thorac Cancer*. 2015;6:413-20.
- [63] KRAS-Mutant non-small cell lung cancer: From biology to therapy. Irene Ferrer, Jon Zugazagoitia, Stephan Herbertz, William John, Luis Paz-Ares, Gerald Schmid-Bindert, *Lung Cancer*. 2018 Oct; 124: 53–64. Published online 2018 Jul 19. doi: 10.1016/j.lungcan.2018.07.013
- [64] Christina S. Baik, Nathaniel J. Myall, Heather A. Wakelee. Targeting BRAF-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer: From Molecular Profiling to Rationally Designed Therapy. *Oncologist*. 2017 Jul; 22(7): 786–796. Published online 2017 May 9. doi: 10.1634/theoncologist.2016-0458.

- [65] Thanyanan Reungwetwattana, Ying Liang, Viola Zhu, Sai-Hong Ignatius Ou. The race to target MET exon 14 skipping alterations in non-small cell lung cancer: The Why, the How, the Who, the Unknown, and the Inevitable. *Lung Cancer*. 2017 Jan; 103: 27–37. Published online 2016 Nov 15. doi: 10.1016/j.lungcan.2016.11.011
- [66] Desai A, Adjei AA. FGFR Signaling as a Target for Lung Cancer Therapy. *J Thorac Oncol*. 2016 Jan;11(1):9-20. doi: 10.1016/j.jtho.2015.08.003.
- [67] Melanie Janning, Sonja Loges. Anti-Angiogenics: Their Value in Lung Cancer Therapy. *Oncol Res Treat*. 2018; 41(4): 172–180. Published online 2018 Mar 23. doi: 10.1159/000488119
- [68] Shuai Wang, Zhe Yang, Zhou Wang. Are VEGFR-TKIs effective or safe for patients with advanced non-small cell lung cancer? *Oncotarget*. 2015 Jul 20; 6(20): 18206–18223. Published online 2015 Jun 19.
- [69] Leo S. Payne, Paul H. Huang, *J Thorac Oncol*. Discoidin domain receptor 2 signaling networks and therapy in lung cancer. Author manuscript; available in PMC 2015 Feb 25. Published in final edited form as: *J Thorac Oncol*. 2014 Jun; 9(6): 900–904. doi: 10.1097/JTO.0000000000000164.
- [70] Roberto Ferrara, Nathalie Auger, Edouard Auclin, Benjamin Besse. Clinical and translational implications of RET rearrangements in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2017 Nov 8 Published online 2017 Nov 8. doi: 10.1016/j.jtho.2017.10.021.
- [71] Hongshu Sui, Ningxia Ma, Ying Wang, Hui Li, Xiaoming Liu, Yanping Su, Jiali Yang. Anti-PD-1/PD-L1 Therapy for Non-Small-Cell Lung Cancer: Toward Personalized Medicine and Combination Strategies. *J Immunol Res*. 2018; 2018: 6984948. Published online 2018 Aug 8. doi: 10.1155/2018/6984948
- [72] Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, et al. Non-Small Cell Lung Cancer, Version 5.2018. *J Natl Compr Canc Netw*. 2018;16:807-21.

- [73] Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2017;28:iv1-iv21.
- [74] Symptoms and other factors associated with time to diagnosis and stage of lung cancer: a prospective cohort study. F M Walter, G Rubin, C Bankhead, H C Morris, N Hall, K Mills, C Dobson, R C Rintoul, W Hamilton, J Emery. *Br J Cancer*. 2015 Mar 31; 112 (Suppl 1): S6–S13. Published online 2015 Mar 3. doi: 10.1038/bjc.2015.30
- [75] Guida ai tumori: tumore del polmone. AIRC, 7 ottobre 2014.
- [76] Associazione Italiana di Oncologia Medica, linee guida neoplasie del polmone.
- [77] Lung cancer. Robert L. Keith, MD, Division of Pulmonary Sciences and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Eastern Colorado VA Healthcare System, University of Colorado. Ultima revisione/verifica completa apr 2018.
- [78] Www.unife.it › minisiti › modulo-di-patologia-clinica
- [79] Stefan Holdenrieder, Birgit Wehnl, Karina Hettwer, Kirsten Simon, Steffen Uhlig, Farshid Dayyani. Carcinoembryonic antigen and cytokeratin-19 fragments for assessment of therapy response in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2017 Apr 11; 116(8): 1037–1045. Published online 2017 Mar 9. doi: 10.1038/bjc.2017.45
- [80] Stephen H. Bradley, Martyn P. T. Kennedy, Richard D. Neal. Recognising Lung Cancer in Primary Care. *Adv Ther*. 2019; 36(1): 19–30. Published online 2018 Nov 29. doi: 10.1007/s12325-018-0843-5.
- [81] Melissa Johnson, MD, Nathan A. Pennell, MD, PhD, and Hossein Borghaei, MS, DO. Show More. “My Patient Was Diagnosed With Nontargetable Advanced Non–Small Cell Lung Cancer. What Now?” Diagnosis and Initial Treatment Options for Newly Diagnosed Patients With Advanced NSCLC. American Society of Clinical

- [82] Friedlaender A, Banna G, Malapelle U, et al. Next Generation Sequencing and Genetic Alterations in Squamous Cell Lung Carcinoma: Where Are We Today? *Front Oncol.* 2019;9:166.
- [83] Zhang J, Zhang L, Su X, et al. Translating the therapeutic potential of AZD4547 in FGFR1-amplified non-small cell lung cancer through the use of patient-derived tumor xenograft models. *Clin Cancer Res.* 2012;18:6658-67.
- [84] Hashemi-Sadraei N, Hanna N. Targeting FGFR in Squamous Cell Carcinoma of the Lung. *Target Oncol.* 2017;12:741-755.
- [85] Maira SM, Pecchi S, Huang A, et al. Identification and characterization of NVP-BKM120, an orally available pan- class I PI3-kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther.* 2012;11:317-28.
- [86] Vansteenkiste JF, Canon JL, De Braud F, et al. Safety and Efficacy of Buparlisib (BKM120) in Patients with PI3K Pathway-Activated Non-Small Cell Lung Cancer: Results from the Phase II BASALT-1 Study. *J Thorac Oncol.* 2015;10:1319-1327.
- [87] Paik PK, Shen R, Won H, et al. Next-Generation Sequencing of Stage IV Squamous Cell Lung Cancers Reveals an Association of PI3K Aberrations and Evidence of Clonal Heterogeneity in Patients with Brain Metastases. *Cancer Discov.* 2015;5:610-21.
- [88] Ramos AH, Dutt A, Mermel C, et al. Amplification of chromosomal segment 4q12 in non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther.* 2009;8:2042-50.
- [89] Silvestri GA, Gonzales AV, Jantz MA, et al. Methods for staging NSCLC. *Diagnosis and Management of Lung Cancer*, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2013;143:e211S-e250S.

- [90] Trisolini R, Natali F, Fois AG. Up-to-date role of interventional pulmonology in the diagnosis and staging of non- small-cell lung cancer. *Shanghai Chest* 2017; doi: 10.21037/shc.2017.10.06
- [91] Rivera PM, Mehta AC, Wahidi MM. Establishing the diagnosis of lung cancer. *Diagnosis and Management of Lung Cancer*, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2013;143:e142S-e165S.
- [92] Almeida FA, Salam S, Mehta AC, et al. Sampling utility of the convex probe endobronchial ultrasound visible intrapulmonary lesion. *J Bronchol Interv Pulmonol* 2018; 25: 290-99.
- [93] Kuijvenhoven JC, Livi V, Morandi L, et al. The expanding role of endobronchial ultrasound in patients with centrally located intrapulmonary lesions. *Lung Cancer* 2019; in press.
- [94] Korevaar DA, Colella S, Spijker R, et al. Esophageal Endosonography for the Diagnosis of Intrapulmonary Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Respiration* 2017; 93: 126-37.
- [95] Choi SH, Chae EJ, Kim JE et al. Percutaneous CT-guided aspiration and core biopsy of pulmonary nodules smaller than 1 cm: analysis of outcomes of 305 procedures from a tertiary referral center. *AJR Am J Roentgenol* 2013; 201(5): 964–970
- [96] Takeshita J, Masago K, Kato R et al. CT-guided fine-needle aspiration and core needle biopsies of pulmonary lesions: a single-center experience with 750 biopsies in Japan. *AJR Am J Roentgenol* 2015; 204(1): 29–34.
- [97] Dhooria S, Aggarwal AN, Gupta D, et al. Utility and safety of endoscopic ultrasound with bronchoscope-guided fine-needle aspiration in mediastinal lymph node sampling: systematic review and meta-analysis. *Respir Care*. 2015;60:1040-1050.

- [98] Wahidi MM, Herth F, Yasufuku K, et al. Technical aspects of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration: chest guideline and expert panel report. *Chest* 2016;149:816-835.
- [99] Van der Heijden EH, Casal RF, Trisolini R, et al. Guideline for the acquisition and preparation of conventional and endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration specimens for the diagnosis and molecular testing of patients with known or suspected lung cancer. *Respiration*. 2014;88:500-517.
- [100] Cerfolio RJ, Bryant AS, Eloubeidi MA. Accessing the aortopulmonary window (#5) and the paraaortic (#6) lymph nodes in patients with non-small cell lung cancer. *Ann Thorac Surg*. 2007 Sep;84(3):940-5.
- [101] Manfred Dietel, Lukas Bubendorf, Anne-Marie C Dingemans, Christophe Doooms, Göran Elmberger, Rosa Calero García, Keith M Kerr, Eric Lim, Fernando López-Ríos, Erik Thunnissen, Paul E Van Schil, Maximilian von Laffert. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax*. 2016 Feb; 71(2): 177–184. Published online 2015 Nov 3. doi: 10.1136/thoraxjnl-2014-206677.
- [102] Chong-Kin Liam, Sita Andarini, Pyng Lee, James Chung-Man Ho, Ngo Quy Chau, Jamsak Tscheikuna. Lung cancer staging now and in the future. *Respirology*. 2015 May; 20(4): 526–534. Published online 2015 Feb 14. doi: 10.1111/resp.12489
- [103] Wenna Luo, Mingliang Rao, Jiayao Qu, Dixian Luo. Applications of liquid biopsy in lung cancer-diagnosis, prognosis prediction, and disease monitoring. *Am J Transl Res*. 2018; 10(12): 3911–3923. Published online 2018 Dec 15.
- [104] Bruno Hochegger, Giordano Rafael Tronco Alves, Klaus Loureiro Irion, Carlos Cezar Fritscher, Leandro Genehr Fritscher, Natália Henz Concatto, Edson Marchiori. PET/CT imaging in lung cancer: indications and findings. *J Bras Pneumol*. 2015 May-Jun; 41(3): 264–274. doi: 10.1590/S1806-37132015000004479.

- [105] Ramón Rami-Porta, Sergi Call, Christophe Doods, Carme Obiols, Marcelo Sánchez, William D. Travis, Ivan Vollmer. Lung cancer staging: a concise update. *European Respiratory Journal* 2018 51: 1800190; DOI: 10.1183/13993003.00190-2018.
- [106] Vilmann P, Clementsen PF, Colella S, et al. Combined endobronchial and oesophageal endosonography for the diagnosis and staging of lung cancer. *European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline*, in cooperation with the European Respiratory Society (ERS) and the European Society of Thoracic Surgeons (ESTS). *Eur Resp J* 2015;46:40-60.
- [107] La Medicina Oncologica: Diagnosi, Terapia e gestione clinica. Di Stefano Cascinu, Roberto Labianca
- [108] Farjah F, Flum DR, Varghese TK Jr, et al. Surgeon specialty and long-term survival after pulmonary resection for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 2009;87:995-1004.
- [109] Brunelli A, Falcoz PE, D'Amico T, et al. European guidelines on structure and qualification of general thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45:779-786.
- [110] von Meyenfeldt EM, Gooiker GA, van Gijn W, et al. The relationship between volume or surgeon specialty and outcome in the surgical treatment of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Thorac Oncol.* 2012;7:1170- 1178.
- [111] Camposilvan I, Akhtar-Danesh N, Schneider L, et al. The effect of surgeon volume on procedure selection in non- small cell lung cancer surgeries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015;150:507-512.
- [112] Brunelli A, Charloux A, Bolliger CT, et al. ERS/ESTS clinical guidelines on fitness for radical therapy in lung cancer patients (surgery and chemo-radiotherapy). *Eur Respir J.* 2009; 34:17-41.
- [113] Brunelli A, Kim AW, Berger KI, et al Physiologic evaluation of the patient with lung cancer being considered for resectional surgery: diagnosis and management

- of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines Chest. 2013;143: e166S-e190S.
- [114] Jiang L, Yin W, Peng G, et al. Prognosis and status of lymph node involvement in patients with adenocarcinoma in situ and minimally invasive adenocarcinoma-a systematic literature review and pooled-data analysis. J Thorac Dis. 2015;7:2003-2009.
- [115] De Leyn P, Doooms C, Kuzdzal J, et al. Revised ESTS guidelines for preoperative mediastinal lymph node staging for non-small-cell lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg. 2014;45:787-798.
- [116] Sugi K, Kaneda Y, Esato K. Video-assisted thoracoscopic lobectomy achieves a satisfactory long-term prognosis in patients with clinical stage IA lung cancer. World J Surg. 2000;24:27-30.
- [117] Bendixen M, Jørgensen OD, Kronborg C, et al. Postoperative pain and quality of life after lobectomy via video- assisted thoracoscopic surgery or anterolateral thoracotomy for early stage lung cancer: a randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2016;17:836-844.
- [118] Wei B, Eldaif SM, Cerfolio RJ. Robotic Lung Resection for Non-Small Cell Lung Cancer. Surg Oncol Clin N Am. 2016;25:515-531.
- [119] www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms
- [120] Palma D, Visser O, Lagerwaard FJ, et al. Impact of introducing stereotactic lung radiotherapy for elderly patients with stage I non-small-cell lung cancer: a population-based time-trend analysis. J Clin Oncol. 2010 Dec 10;28(35):5153-9.
- [121] Videtic GMM, Donington J, Giuliani M, et al, Stereotactic body radiation therapy for early- stage non-small cell lung cancer: Executive Summary of an ASTRO Evidence-Based Guideline. Practical Radiation Oncology (2017) 7, 295-301
- [122] Chansky K, Detterbeck FC, Nicholson AG, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: external validation of the revision of the TNM stage groupings in the

eighth edition of the TNM classification of lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2017;12:1109-1121

- [123] Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017 Jul 1;28(suppl_4):iv1-iv21. doi: 10.1093/annonc/mdx222
- [124] Pisters KMW, Evans WK, Azzoli CG, et al. Cancer Care Ontario and American Society of Clinical Oncology adjuvant chemotherapy and adjuvant radiation therapy for stages I-IIIA resectable non-small-cell lung cancer guideline. *J Clin Oncol.* 2007;25:5506-5518.
- [125] Strauss GM, Herndon JE 2nd, Maddaus MA, et al. Adjuvant paclitaxel plus carboplatin compared with observation in stage IB non-small-cell lung cancer: CALGB 9633 with the Cancer and Leukemia Group B, Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group Study Groups. *J Clin Oncol.* 2008;26:5043-5051.
- [126] Ou W, Sun H, Ye X, et al. Adjuvant carboplatin-based chemotherapy in resected stage IIIA-N2 non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2010;5:1033-1041.
- [127] Felip E, Rosell R, Maestre JA et al. Preoperative chemotherapy plus surgery versus surgery plus adjuvant chemotherapy versus surgery alone in early-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Jul 1;28(19):3138-45.
- [128] Winton T, Livingston R, Johnson D, et al. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2005;352:2589-2597.
- [129] Salazar MC, Rosen JE, Wang Z, et al. Association of delayed adjuvant chemotherapy with survival after lung cancer surgery. *JAMA Oncol.* 2017;3:610-619.

- [130] Fröh M, Rolland E, Pignon JP, et al. Pooled analysis of the effect of age on adjuvant cisplatin-based chemotherapy for completely resected non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26:3573-3681.
- [131] Pepe C, Hasan B, Winton TL, et al. Adjuvant vinorelbine and cisplatin in elderly patients: National Cancer Institute of Canada and Intergroup Study JBR.10. *J Clin Oncol*. 2007;25:1553-1561.
- [132] Kelly K, Altorki NK, Eberhardt WE, et al. Adjuvant Erlotinib Versus Placebo in Patients With Stage IB-IIIA Non- Small-Cell Lung Cancer (RADIANT): A Randomized, Double-Blind, Phase III Trial. *J Clin Oncol*. 2015 Dec 1;33(34):4007-14. doi: 10.1200/JCO.2015.61.8918.
- [133] Goss GD, O'Callaghan C, Lorimer I, et al. Gefitinib versus placebo in completely resected non-small-cell lung cancer: results of the NCIC CTG BR19 study. *J Clin Oncol*. 2013 Sep 20;31(27):3320-6. doi: 10.1200/JCO.2013.51.1816
- [134] Burdett S, Rydzewska L, Tierney J, et al. Postoperative radiotherapy for non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016 Oct 11;10:CD002142. Review.
- [135] Van Meerbeeck JP, Kramer GW, Van Schil PE et al. Randomized controlled trial of resection versus radiotherapy after induction chemotherapy in stage IIIA-N2 non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:442–450.
- [136] Pless M, Stupp R, Ris H, et al. Induction chemoradiation in stage IIIA/N2 non-small-cell lung cancer: a phase 3 randomised trial. *Lancet*. 2015;386:1049-1056.
- [137] Janssen-Heijnen ML, van Erning FN, De Ruyscher DK, et al. Variation in causes of death in patients with non- small cell lung cancer according to stage and time since diagnosis. *Ann Oncol*. 2015;26:902-907.
- [138] Demicheli R, Fornili M, Ambrogi F, et al. Recurrence dynamics for non-small cell lung cancer: effects of surgery on the development of metastases. *J Thorac Oncol*. 2012 Apr;7(4):723-30.

- [139] Janssen-Heijnen ML, van Erning FN, De Ruyscher DK, et al. Variation in causes of death in patients with non- small cell lung cancer according to stage and time since diagnosis. *Ann Oncol.* 2015;26:902-907.
- [140] Demicheli R, Fornili M, Ambrogi F, et al. Recurrence dynamics for non-small-cell lung cancer: effect of surgery on the development of metastases. *J ThoracOncol.* 2012;7:723-730.
- [141] Peled N, Flex D, Raviv Y, et al. The role of routine bronchoscopy for early detection of bronchial stump recurrence of lung cancer: 1 year post-surgery. *Lung Cancer.* 2009;65:319-323.
- [142] Westeel V, Barlesi F, Foucher P, et al. Results of the phase III IFCT-0302 trial assessing minimal versus CT-scan- based follow-up for completely resected non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol.* 2017;28:1773(abstract).
- [143] Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. Early and locally advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2017 Jul 1;28(suppl_4):iv1-iv21.
- [144] Lee CB, Stinchcombe TE, Moore D, et al. Late complications of high-dose thoracic conformal radiation therapy in combined modality trials in unresectable stage III non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2009;4:74-79.
- [145] Colt HG, Murgu SD, Korst RG, et al. Follow-up and surveillance of the patient with lung cancer after curative- intent therapy diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2013;143(Suppl):e437S–e454S.
- [146] Komaki R, Roth JA, Walsh GL, et al. Outcome predictors for 143 patients with superior sulcus tumors treated by multidisciplinary approach at the University of Texas M. D. Anderson Cancer Center. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;48:347-354.
- [147] Kappers I, Belderbos JS, Burgers JA, et al. Non-small cell lung carcinoma of the superior sulcus: favourable outcomes of combined modality treatment in carefully selected patients. *Lung Cancer.* 2008;59:385-390.

- [148] Eberhardt WE, Pöttgen C, Gauler TC, et al., Phase III Study of Surgery Versus Definitive Concurrent Chemoradiotherapy Boost in Patients With Resectable Stage IIIA(N2) and Selected IIIB Non-Small-Cell Lung Cancer After Induction Chemotherapy and Concurrent Chemoradiotherapy (ESPA-TUE). *J Clin Oncol*. 2015;33:4194-4201.
- [149] NSCLC Meta-analysis Collaborative Group. Preoperative chemotherapy for non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Lancet*. 2014;383:1561-1571.
- [150] Albain KS, Swann RS, Rusch VW, et al. Radiotherapy plus chemotherapy with or without surgical resection for stage III non-small cell lung cancer: a phase III randomized controlled trial. *Lancet*. 2009;373:379-386.
- [151] Pless M, Stupp R, Ris H, et al: Final results of the SAKK 16/00 Trial: A randomized phase III trial comparing neoadjuvant chemoradiation to chemotherapy alone in stage IIIA/N2 non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 25:1v417, 2014 (suppl 4).
- [152] Cerfolio RJ, Bryant AS, Spencer SA, Bartolucci AA. Pulmonary resection after high-dose and low-dose chest irradiation. *Ann Thorac Surg*. 2005 Oct;80(4):1224-30
- [153] Suntharalingam M, Paulus R, Edelman MJ, et al. Radiation therapy oncology group protocol 02-29: a phase II trial of neoadjuvant therapy with concurrent chemotherapy and full-dose radiation therapy followed by surgical resection and consolidative therapy for locally advanced non-small cell carcinoma of the lung. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Oct 1;84(2):456-63.
- [154] Pöttgen C, Eberhardt W, Graupner B, et al. Accelerated hyperfractionated radiotherapy within trimodality therapy concepts for stage IIIA/B non-small cell lung cancer: Markedly higher rate of pathologic complete remissions than with conventional fractionation. *Eur J Cancer*. 2013 Jun;49(9):2107-15.

- [155] Sher DJ, Fidler MJ, Seder CW, et al. Relationship Between Radiation Therapy Dose and Outcome in Patients Treated With Neoadjuvant Chemoradiation Therapy and Surgery for Stage IIIA Non-Small Cell Lung Cancer: A Population-Based, Comparative Effectiveness Analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015 Jun 1;92(2):307-16
- [156] Allen AM, Shochat T, Flex D, et al. High-Dose Radiotherapy as Neoadjuvant Treatment in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Oncology*. 2018;95(1):13-19
- [157] Vyfhuis MAL, Burrows WM, Bhooshan N, et al. .Implications of Pathologic Complete Response Beyond Mediastinal Nodal Clearance With High-Dose Neoadjuvant Chemoradiation Therapy in Locally Advanced, Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2018 Jun 1;101(2):445-452.
- [158] PORT Meta-analysis Trialists Group. Postoperative radiotherapy in non-small cell lung cancer: systematic review and meta-analysis of individual patient data from nine randomized controlled trials. *Lancet*. 1998;352:257-263.].
- [159] Nestle U, De Ruysscher D, Ricardi U, ESTRO ACROP guidelines for target volume definition in the treatment of locally advanced non-small cell lung cancer. *Radiother Oncol*. 2018 Apr;127(1):1-5.).
- [160] Rowell NP, O'rourke NP. Concurrent chemo-radiotherapy in non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004 Oct 18;(4):CD002140.
- [161] O'Rourke N, Roqué I Figuls M, Farré Bernadó N, Macbeth F. Concurrent chemo-radiotherapy in non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jun 16;(6):CD002140.
- [162] Aupérin A, Le Péchoux C, Rolland E, et al. Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28:2181-2190.
- [163] Hotte K, Matsuo K, Ueoka H, et al., Meta-analysis of randomized clinical trials comparing Cisplatin to Carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Oct 1;22(19):3852-9.

- [164] Yamamoto N, Nakagawa K, Nishimura Y et al. Phase III study comparing second- and third-generation regimens with concurrent thoracic radiotherapy in patients with unresectable stage III non-small-cell lung cancer: West Japan Thoracic Oncology Group WJTOG0105. *J Clin Oncol*. 2010 Aug 10;28(23):3739-45
- [165] Segawa Y, Kiura K, Takigawa N., et al. Phase III trial comparing docetaxel and cisplatin combination chemotherapy with mitomycin, vindesine, and cisplatin combination chemotherapy with concurrent thoracic radiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer: OLCSG 0007. *J Clin Oncol*. 2010 Jul 10;28(20):3299-306.
- [166] Liang J, Bi N, Wu S., et al. Etoposide and cisplatin versus paclitaxel and carboplatin with concurrent thoracic radiotherapy in unresectable stage III non-small cell lung cancer: a multicenter randomized phase III trial. *Ann Oncol*. 2017 Apr 1;28(4):777-783
- [167] 247Senan S, Brade A, Wang LH., et al. PROCLAIM: Randomized Phase III Trial of Pemetrexed-Cisplatin or Etoposide-Cisplatin Plus Thoracic Radiation Therapy Followed by Consolidation Chemotherapy in Locally Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2016 Mar 20;34(9):953-62.
- [168] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017;377:1919-1929.
- [169] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. 2018, doi 10.1056/NEJMoa1809697.
- [170] Gray JE, Villegas AE, Daniel DB, et al., Three year overall survival update from the PACIFIC trial. *Journal of Clinical Oncology* 2019 37:15_suppl, 8526-8526.
- [171] Barlesi F, Mazieres J, Merlio JP, et al. Biomarkers France contributors. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet*. 2016 Apr 2;387(10026):1415-1426.

- [172] Paez JG, Jänne PA, Lee JC, et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004;304:1497-1500.
- [173] Kwak EL, Bang Y-J, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2010;363:1693-1703.
- [174] Shaw AT, Solomon BJ. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;372:683– 684.
- [175] Wang R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small- cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2012 Dec 10;30(35):4352-9.
- [176] Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, et al. Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an NTRK Gene Fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018;2018. doi: 10.1200/PO.
- [177] Planchard D, Besse B, Groen HJ, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17:984-993.
- [178] Cappuzzo F, Bemis L, Varella-Garcia M. HER2 mutation and response to trastuzumab therapy in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2006;354:2619–2621.
- [179] Ou SH, Kwak EL, Siwak-Tapp C, et al. Activity of crizotinib (PF02341066), a dual mesenchymal-epithelial transition (MET) and anaplastic lymphoma kinase (ALK) inhibitor, in a non-small cell lung cancer patient with de novo MET amplification. *J Thorac Oncol*. 2011;6:942-946.
- [180] Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. MET exon 14 mutations in non-small-cell lung cancer are associated with advanced age and stage-dependent MET genomic amplification and c-Met overexpression. *J Clin Oncol*. 2016;34:721-73.

- [181] Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009;36:947-957.
- [182] Han JY, Park K, Kim SW, et al. First-SIGNAL: first-line single-agent iressa versus gemcitabine and cisplatin trial in never-smokers with adenocarcinoma of the lung. *J Clin Oncol*. 2012;30:1122-1128.
- [183] Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2010;11:121-128.
- [184] Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med*. 2010;362:2380-2388.
- [185] Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2011;12:735-742.
- [186] Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012;13:239-246.
- [187] Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol*. 2013;31:3327-3334.
- [188] Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15:213-222.
- [189] Yang JC, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and

- LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol.* 2015;16:141-151.
- [190] Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nature Reviews Cancer.* 2007;7:169–181
- [191] Kobayashi Y, Mitsudomi T. Not all epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer are created equal: Perspectives for individualized treatment strategy. *Cancer Sci.* 2016;107:1179-1186
- [192] Yang JJ, Zhou Q, Yan HH, et al. A phase III randomised controlled trial of erlotinib vs gefitinib in advanced non- small cell lung cancer with EGFR mutations. *Br J Cancer.* 2017 Feb 28;116(5):568-574.
- [193] Urata Y, Katakami N, Morita S, et al. Randomized phase III study comparing gefitinib with erlotinib in patients with previously treated advanced lung adenocarcinoma: WJOG 5108L. *J Clin Oncol.* 2016;34:3248-3257
- [194] Park K, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation- positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-589.
- [195] Paz-Ares L, Tan EH, O'Byrne K, et al. Afatinib versus gefitinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: overall survival data from the phase IIb LUX-Lung 7 trial. *Ann Oncol.* 2017;28:270- 277
- [196] Wu YL, Cheng Y, Zhou X, et al., Dacomitinib versus gefitinib as first- line treatment for patients with EGFR- mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017 Nov;18(11):1454-1466.
- [197] Mok TS, Cheng Y, Zhou X, et al., Improvement in Overall Survival in a Randomized Study That Compared Dacomitinib With Gefitinib in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer and EGFR- Activating Mutations. *J Clin Oncol.* 2018 Aug 1;36(22):2244-2250

- [198] Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al., FLAURA Investigators. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Jan 11;378(2):113-125
- [199] Planchard D, Boyer MJ, Lee JS, et al., Postprogression Outcomes for Osimertinib versus Standard-of-Care EGFR- TKI in Patients with Previously Untreated EGFR-mutated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2019 Apr 1;25(7):2058-2063
- [200] Fang W, Huang Y, Hong S, et al., EGFR exon 20 insertion mutations and response to osimertinib in non-small-cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2019 Jun 17;19(1):595.
- [201] Stewart EL, Tan SZ, Liu G, Tsao MS. Known and putative mechanisms of resistance to EGFR targeted therapies in NSCLC patients with EGFR mutations-a review. *Transl Lung Cancer Res*. 2015 Feb;4(1):67-81. doi: 10.3978/j.issn.2218-6751.2014.
- [202] Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, Shepherd FA, He Y, Akamatsu H, Theelen WS, Lee CK, Sebastian M, Templeton A, Mann H, Marotti M, Ghiorghiu S, Papadimitrakopoulou VA; AURA3 Investigators. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Feb 16;376(7):629-640. doi: 10.1056/NEJMoa1612674.
- [203] Sullivan I, Planchard D. Osimertinib in the treatment of patients with epidermal growth factor receptor T790M mutation-positive metastatic non-small cell lung cancer: clinical trial evidence and experience. *Ther Adv Respir Dis*. 2016 Dec;10(6):549-565.
- [204] Zhong WZ, Wang Q, Mao WM, et al. Gefitinib versus vinorelbine plus cisplatin as adjuvant treatment for stage II- IIIA (N1-N2) EGFR-mutant NSCLC (ADJUVANT/CTONG1104): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;19(1):139-148. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30729-5.

- [205] Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371:2167-2177
- [206] Soria JC, Tan DS, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK- rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2017;389:917-929.
- [207] Hida T, Nokihara H, Kondo M, et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer (J-ALEX): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet*. 2017;390:29-39.
- [208] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377:829-838
- [209] Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al., Brigatinib versus Crizotinib in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018 Nov 22;379(21):2027-2039.
- [210] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377:829-838.
- [211] Shaw AT, Kim TM, Crinò L, et al. Ceritinib versus chemotherapy in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18:874-886.
- [212] Novello S, Mazières J, Oh IJ, et al., Alectinib versus chemotherapy in crizotinib-pretreated anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small-cell lung cancer: results from the phase III ALUR study. *Ann Oncol*. 2018 Jun 1;29(6):1409-1416
- [213] Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al., Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discov*. 2016 Oct;6(10):1118-1133

- [214] Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al., Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2018 Dec;19(12):1654-1667.
- [215] Bergheton K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *JCO* 2012; 30(8):863-70
- [216] Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al., Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2014; 371(21):1963-71.
- [217] Shaw AT, Riely GJ, Bang JL, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Annals of Oncology* 0: 1–6, 2019.
- [218] Mazieres J, Zalcman G, Crinò L, et al. Crizotinib therapy for advanced lung adenocarcinoma and a ROS1 rearrangement: results from the EUROS1 cohort. *J Clin Oncol* 2015; 33(9):992-9
- [219] Michels S, Massuti B, Schildhaus HS, et al. Safety and Efficacy of Crizotinib in Patients With Advanced or Metastatic ROS1-Rearranged Lung Cancer (EUCROSS): A European Phase II Clinical Trial. *J Thorac Oncol.* 2019; 14(7):1266-76
- [220] Wu YL, Yang JC, Kim DW, et al. Phase II Study of Crizotinib in East Asian Patients With ROS1-Positive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(14):1405-11
- [221] Landi L, Chiari R, Tiseo M, et al. Crizotinib in MET deregulated or ROS1 rearranged pretreated non-small-cell lung cancer (METROS): a phase II, prospective, multicentre, two-arms trial. *Clin Cancer Res.* 2019 Aug 15. pii: clincanres.0994.2019.
- [222] Liu J, Cui S, Pan F, et al., Feasibility of continuing crizotinib therapy after RECIST-PD in advanced non-small cell lung cancer patients with ALK/ROS-1 mutations. *J Cancer.* 2018 Apr 27;9(10):1863-1869.

- [223] Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al., Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *Lancet Oncol.* 2017 Dec;18(12):1590- 1599.
- [224] Ou S, Shaw A, Riely G, et al. OA02.03 Clinical Activity of lorlatinib in patients with ROS1+ advanced non-small cell lung cancer: Phase 2 study cohort EXP-6. *J Thorac Oncol.* 2018;13(suppl_10):S322–S323.
- [225] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, Gottfried M, Peled N, Tafreshi A, Cuffe S, O'Brien M, Rao S, Hotta K, Leiby MA, Lubiniecki GM, Shentu Y, Rangwala R, Brahmer JR. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. KEYNOTE-024 Investigators (2016). *N Engl J Med* 375(19):1823-1833.
- [226] Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, Molina J, Kim JH, Arvis CD, Ahn MJ, Majem M, Fidler MJ, de Castro G Jr, Garrido M, Lubiniecki GM, Shentu Y, Im E, Dolled-Filhart M, Garon EB (2016). Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 9;387 (10027):1540-50.
- [227] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, Chow LQ, Vokes EE, Felip E, Holgado E, Barlesi F, Kohlhäufel M, Arrieta O, Burgio MA, Fayette J, Lena H, Poddubskaya E, Gerber DE, Gettinger SN, Rudin CM, Rizvi N, Crinò L, Blumenschein GR Jr, Antonia SJ, Dorange C, Harbison CT, Graf Finckenstein F, Brahmer JR (2015). Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 22;373 (17):1627-39.
- [228] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, Antonia S, Pluzanski A, Vokes EE, Holgado E, Waterhouse D, Ready N, Gainor J, Arén Frontera O, Havel L, Steins M, Garassino MC, Aerts JG, Domine M, Paz-Ares L, Reck M, Baudalet C, Harbison CT, Lestini B, Spigel DR (2015). Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 9;373 (2):123-35.

- [229] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, Gadgeel SM, Hida T, Kowalski DM, Dols MC, Cortinovis DL, Leach J, Polikoff J, Barrios C, Kabbinavar F, Frontera OA, De Marinis F, Turna H, Lee JS, Ballinger M, Kowanetz M, He P, Chen DS, Sandler A, Gandara DR; OAK Study Group (2017). Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 21;389(10066):255-265.
- [230] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non- Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375:1823-1833
- [231] Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *Br Med J*. 1995;311:899-909
- [232] Delbaldo C, Michiels S, Syz N, et al. Benefits of adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *JAMA*. 2004;292:470-484
- [233] Ardizzoni A, Boni L, Tiseo M, et al. Cisplatin- versus carboplatin-based chemotherapy in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99:847-857
- [234] Rossi A, Chiodini P, Sun JM, et al. Six versus fewer planned cycles of first-line platinum-based chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2014;15:1254-1262.
- [235] Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26:3543-3551
- [236] Sandler A, Gray R, Perry MC, et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2006;355:2542-2550

- [237] Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, et al. Phase III trial of cisplatin plus gemcitabine with either placebo or bevacizumab as first-line therapy for nonsquamous non-small-cell lung cancer: AVAIL. *J Clin Oncol*. 2009;27:1227- 1234
- [238] Lima AB, Macedo LT, Sasse AD. Addition of bevacizumab to chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2011; 6: e22681.
- [239] Soria JC, Mauguen A, Reck M et al. Systematic review and metaanalysis of randomised, phase II/III trials adding bevacizumab to platinum-based chemotherapy as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2013; 24: 20–30.
- [240] Elderly Lung Cancer Vinorelbine Italian Study Group. Effects of vinorelbine on quality of life and survival of elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:66–72.
- [241] Gridelli C, Perrone F, Gallo C, et al. Chemotherapy for elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer: the Multicenter Italian Lung Cancer in the Elderly Study (MILES) Phase III randomized trial. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:362-372.
- [242] Quoix E, Zalcman G, Oster JP, et al. Carboplatin and weekly paclitaxel doublet chemotherapy compared with monotherapy in elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer: IFCT-0501 randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2011;378:1079-1088.
- [243] Maemondo M, Inoue A, Sugawara S, et al. Randomized phase II trial comparing carboplatin plus weekly paclitaxel and docetaxel alone in elderly patients with advanced non-small cell lung cancer: north japan lung cancer group trial 0801. *Oncologist*. 2014;19:352-353.
- [244] Santos FN, de Castria TB, Cruz MR, Riera R. Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer in the elderly population. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(10):CD010463.

- [245] Gridelli C, Morabito A, Cavanna L, et al., Cisplatin-Based First-Line Treatment of Elderly Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Joint Analysis of MILES-3 and MILES-4 Phase III Trials. *J Clin Oncol*. 2018 Jul 20;JCO2017768390.
- [246] Langer C, Li S, Schiller J, et al. Randomized phase II trial of paclitaxel plus carboplatin or gemcitabine plus cisplatin in Eastern Cooperative Oncology Group performance status 2 non-small-cell lung cancer patients: ECOG 1599. *J Clin Oncol*. 2007;25:418-423.
- [247] Bronte G, Rolfo C, Passiglia F, et al., What can platinum offer yet in the treatment of PS2 NSCLC patients? A systematic review and meta-analysis., *Crit Rev Oncol Hematol*. 2015 Sep;95(3):306-17. doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.03.010. Epub 2015 Apr 11.
- [248] Marur S, Singh H, Mishra-Kalyani P, et al., FDA analyses of survival in older adults with metastatic non-small cell lung cancer in controlled trials of PD-1/PD-L1 blocking antibodies. *Semin Oncol*. 2018 Aug;45(4):220-225. doi: 10.1053/j.seminoncol.2018.08.007. Epub 2018 Oct 31.
- [249] Nosaki K, Saka H, Hosomi Y, et al., Safety and Efficacy of Pembrolizumab Monotherapy in Elderly Patients With PD-L1–Positive Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer: Pooled Analysis From the KEYNOTE-010, KEYNOTE-024, and KEYNOTE-042 Studies. *Lung Cancer*. 2019 Sep;135:188-195.
- [250] Paz-Ares L, de Marinis F, Dediu M, et al. Maintenance therapy with pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care after induction therapy with pemetrexed plus cisplatin for advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (PARAMOUNT): a double-blind, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2012;13:247-255
- [251] Paz-Ares LG, de Marinis F, Dediu M, et al. PARAMOUNT: Final overall survival results of the phase III study of maintenance pemetrexed versus placebo immediately after induction treatment with pemetrexed plus cisplatin for advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2013;31:2895-2902

- [252] Marina C Garassino, Shirish Gadgil, Emilio Esteban, Enriqueta Felip, Giovanna Speranza, Manuel Domine, Maximilian J Hochmair, Steven Powell, Susanna Yee-Shan Cheng, Helge G Bischoff, Nir Peled, Martin Reck, Rina Hui, Edward B Garon, Michael Boyer, Ziwen Wei, Thomas Burke, M Catherine Pietanza, Delvys Rodríguez-Abreu. Patient-reported outcomes following pembrolizumab or placebo plus pemetrexed and platinum in patients with previously untreated, metastatic, non-squamous non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-189): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, March 2020
- [253] Shepherd FA, Dancey J, Ramlau R, et al. Prospective Randomized Trial of Docetaxel Versus Best Supportive Care in Patients With Non-Small- Cell Lung Cancer Previously Treated With Platinum- Based Chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2000;18:2095-2103
- [254] Fossella FV, De Vore R, Kerr RN, et al. Randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-containing chemotherapy regimens. The TAX 320 Non-Small Cell Lung Cancer Study Group. *J Clin Oncol*. 2000;18:2354-2362.
- [255] Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, et al. Randomized phase III trial of pemetrexed versus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer previously treated with chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2004;22:1589-1597.
- [256] Reck M, Kaiser R, Mellemegaard A, et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomized controlled trial. *Lancet Oncol*. 2014;15:143-155.
- [257] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:123-35.

- [258] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:1627-1639.
- [259] Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387:1540- 1550.
- [260] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2017;389:255-265.
- [261] Marianne Paesmans. *Breathe* 2012 9: 112-121; Prognostic and predictive factors for lung cancer. DOI: 10.1183/20734735.006911
- [262] Gebra Cuyún Carter, Amy M Barrett, James A Kaye, Astra M Liepa, Katherine B Winfree, William J John. A comprehensive review of nongenetic prognostic and predictive factors influencing the heterogeneity of outcomes in advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer management and research*, 23 october 2014
- [263] R. Berardi, M. Santoni, T. Newsom-Davis, M. Caramanti, S. Rinaldi, M. Tiberi, F. Morgese, M. Torniai, M. Pistelli, A. Onofri, M. Bower, S. Cascinu. Hyponatremia normalization as an independent prognostic factor in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with first-line therapy.
- [264] Berardi R, Rinaldi S, Santoni M, Newsom-Davis T, Tiberi M, Morgese F, Caramanti M, Savini A, Ferrini C, Torniai M, Fiordoliva I, Bower M, Cascinu S. Prognostic models to predict survival in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with first-line chemo- or targeted therapy. *Oncotarget*. 2016 May 3;7(18):26916-24. doi: 10.18632/oncotarget.8309.
- [265] Ikeda S, Yoshioka H, Ikeo S, Morita M, Sone N, Niwa T, Nishiyama A, Yokoyama T, Sekine A, Ogura T, Ishida T. Serum albumin level as a potential marker for deciding chemotherapy or best supportive care in elderly, advanced non-

- small cell lung cancer patients with poor performance status. *BMC Cancer*. 2017 Nov 28;17(1):797. doi: 10.1186/s12885-017-3814-3.
- [266] Quejada MI, Albain KS (2004) Prognostic factors in non-small cell lung cancer. In: Sculier JP, Fry WA (eds) *Malignant tumors of the lung*. Springer, Heidelberg, pp 405–422
- [267] Buccheri G, Ferrigno D (2004) Prognostic factors. *Hematol Oncol Clin N Am* 18:187–201.
- [268] Amitabha Sengupta et al., Effect of Hyponatremia on ECOG Status among Lung Cancer Patients. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2013 Aug, Vol-7(8): 1678-1682.
- [269] Montazeri A, Milroy R, Hole D, et al. Quality of life in lung cancer patients: as an important prognostic factor. *Lung Cancer* 2001; 31:233–240.
- [270] Cinzia Solinas, M.D. Programmed death-1 (PD-1) e Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) nel carcinoma della mammella. *BRAINFACTOR* - ISSN 2035-7109 - REG. TRIB. MILANO N. 538 18/9/2008 Direttore Marco Mozzoni EDIZ. 22-01-2015 (C)
- [271] Antonius Steven, Scott A. Fisher, Bruce W. Robinson. Immunotherapy for lung cancer. *Respirology*. 2016 Jul; 21(5): 821–833. Published online 2016 Apr 21. doi: 10.1111/resp.12789
- [272] Haanen JBAG, Califano R, Lugowska I, Garassino, MC (2018) Predictive. Biomarkers of Immunotherapy Response of Clinical Relevance. *ESMO Handbook of Immuno-Oncology*, ESMO Handbook Series, pp 258-266 9 p.
- [273] Yousef Ahmed Fouad and Carmen Aanei. Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res*. 2017; 7(5): 1016–1036. Published online 2017 May 1.
- [274] Nicolas Villanueva and Lyudmila Bazhenova. New strategies in immunotherapy for lung cancer: beyond PD-1/PD-L1. *Ther Adv Respir Dis*. 2018

Jan-Dec; 12: 1753466618794133. Published online 2018 Sep 14. doi: 10.1177/1753466618794133

- [275] Charlotte Domblides, Lydia Lartigue, Benjamin Faustin. Control of the Antitumor Immune Response by Cancer Metabolism. *Cells*. 2019 Feb; 8(2): 104. Published online 2019 Jan 31. doi: 10.3390/cells8020104
- [276] Ming Yi, Dechao Jiao, Hanxiao Xu, Qian Liu, Weiheng Zhao, Xinwei Han and Kongming Wu. Yi et al. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors. *Molecular Cancer* (2018) 17:129 doi.org/10.1186/s12943-018-0864-3.
- [277] Xinyu Yan, Shouyue Zhang, Yun Deng, Peiqi Wang, Qianqian Hou and Heng Xu. Prognostic Factors for Checkpoint Inhibitor Based Immunotherapy: An Update With New Evidences. REVIEW published: 20 September 2018. doi: 10.3389/fphar.2018.01050
- [278] Arbour KC, Mezquita L, Long N, Rizvi H, Auclin E, Ni A, Martínez-Bernal G, Ferrara R, Lai WV, Hendriks LEL, Sabari JK, Caramella C, Plodkowski AJ, Halpenny D, Chaft JE, Planchard D, Riely GJ, Besse B, Hellmann MD (2018). Impact of Baseline Steroids on Efficacy of Programmed Cell Death-1 and Programmed Death-Ligand 1 Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 36(28):2872-2878.
- [279] Cheido MA, Gevorgyan MM, Zhukova EN (2014). Comparative evaluation of opioid-induced changes in immune reactivity of CBA mice.. *Bull Exp Biol Med* 156(3):363-5.
- [280] Borner C, Lanciotti S, Koch T, Holtt V, Kraus J (2013). Mu opioid receptor agonist-selective regulation of interleukin-4 in T lymphocytes. *Journal of neuroimmunology* 263(1–2):35–42.

- [281] Borman A, Ciepielewski Z, Wrona D, Stojek W, Glac W, Leszkowicz E, Tokarski J (2009). Small doses of morphine can enhance NK cell cytotoxicity in pigs. *Int Immunopharmacol* 9(3):277-83
- [282] Condevaux F, Guichard J, Forichon A, Aujoulat M, Descotes J (2001). Compared effects of morphine and nickel chloride on NK cell activity in vitro in rats and monkeys. *J Appl Toxicol* 21(5):431-4.
- [283] Yeager MP, Yu CT, Campbell AS, Moschella M, Guyre PM (1992). Effect of morphine and beta-endorphin on human Fc receptor-dependent and natural killer cell functions. *Clin Immunol Immunopathol* 62(3):336-43.
- [284] House RV, Thomas PT, Bhargava HN (1995). In vitro evaluation of fentanyl and meperidine for immunomodulatory activity. *Immunol Lett* 46(1-2):117-24.
- [285] Wang J, Charboneau R, Balasubramanian S, Barke RA, Loh HH, Roy S (2002). The immunosuppressive effects of chronic morphine treatment are partially dependent on corticosterone and mediated by the mu-opioid receptor. *J Leukoc Biol* 71(5):782-90.
- [286] Romany Anne Nilanthi Johnpulle, Megan Lynn Hames Pollack, Kelsie Riemenschneider, Igor Puzanov, Jeffrey Alan Sosman, and Douglas Buckner Johnson. Cyclooxygenase inhibition and response to anti-PD1/L1 in advanced melanoma. *Journal of Clinical Oncology* 2016 34:15_suppl, e21023-e21023

- [287] Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0.
Published: May 28, 2009 (v4.03: June 14, 2010) U.S.DEPARTMENT OF HEALTH
AND HUMAN SERVICES, National Institutes of Health, National Cancer Institute.
- [288] Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice
Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. J. B. A. G. Haanen, F. Carbone, C. Robert, K. M. Kerr, S. Peters, J. Larkin & K. Jordan, on behalf of the ESMO
Guidelines Committee, *Annals of Oncology* 28 (Supplement 4): i119–i142, 2017.
doi:10.1093/annonc/mdx225.
- [289] http://www.womenagainstlungcancer.eu/wp-content/uploads/2011/03/03-Impaginato-Opuscolo-Walce-Celgene_8102.pdf
- [290] WALCE Onlus, c/o SSD Oncologia Polmonare, Simona Carnio, AOU San
Luigi Orbassano; Silvia Novello Università di Torino, AOU San Luigi Orbassano.
- [291] Prevalence and factors associated with polypharmacy in older people with
cancer. Turner JP, Shakib S, Singhal N, Hogan-Doran J, Prowse R, Johns S, Bell
JS (2014). *Support Care Cancer* 22:1727-34.
- [292] TERAPIA DEL DOLORE IN ONCOLOGIA, linee guida AIOM, edizione 2013
- [293] M Al-Hashimi, S.W.M. Scott, J.P. Thompson, D.G. Lambert. Department of
Cardiovascular Sciences, University of Leicester, Division of Anaesthesia, Critical
Care and Pain Management, Leicester Royal Infirmary, Leicester, LE1 5WW, UK.
Opioids and immune modulation: more questions than answers. Handling editors:
L. Colvin and D. J. Rowbotham.

- [294] Opioid-induced immunosuppression. Sacerdote P (2008). *Curr Opin Support Palliat Care* 2(1):14-8.
- [295] Hashiguchi S, Morisaki H, Kotake Y, Takeda J (2005). Effects of morphine and its metabolites on immune function in advanced cancer patients. *J Clin Anesth* 17(8):575-80.
- [296] Palm S, Lehzen S, Mignat C, Steinmann J, Leimenstoll G, Maier C (1998). Does prolonged oral treatment with sustained-release morphine tablets influence immune function? *Anesth Analg*.86(1):166-72.
- [297] João Batista Santos Garcia, TSA; Mirlane Guimarães de Melo Cardoso; Maria Cristina Dos-Santos. Rev. Bras. Opioids and the immune system: clinical relevance. *Anesthesiol.* vol.62 no.5 Campinas Sept./Oct. 2012. doi.org/10.1590/S0034-70942012000500010.
- [298] Uri Hochberg, Maria Francisca Elgueta, Jordi Perez. *Front Oncol.* 2017; 7: 17. Interventional Analgesic Management of Lung Cancer Pain. Published online 2017 Feb 14. doi: 10.3389/fonc.2017.00017. PMCID: PMC5306685
- [299] Inno A, Lo Russo G, Salgarello M, Corrao G, Casolino R, Galli G, Modena A, Romano L, Pusceddu S, Greco FG, Garassino MC, Gori S. The evolving landscape of criteria for evaluating tumor response in the era of cancer immunotherapy: From Karnofsky to iRECIST. *Tumori.* 2018 Mar-Apr;104(2):88-95. doi: 10.1177/0300891618766173. Epub 2018 Mar 21.

- [300] P. Bironzo, D. Pignataro, M. Audisio, M. Tagliamento, C. Paratore, F. Tabbò, M. Bungaro, C. Zichi, M. De Filippis, S. Rapetti, V. Cetoretta, S. Carnio, A. Mariniello, L. Buffoni, G. Lacidogna, M. Di Maio, S. Novello. Association Between Opioids and Outcome of 1st Line Immunotherapy in Advanced NSCLC Patients: A Retrospective Evaluation. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.08.1520>
- [301] Martin Reck, M.D., Ph.D., Delvys Rodríguez-Abreu, M.D., Andrew G. Robinson, M.D., Rina Hui, M.B., B.S., Ph.D., Tibor Csősz, M.D., Andrea Fülöp, M.D., Maya Gottfried, M.D., Nir Peled, M.D., Ph.D., Ali Tafreshi, M.D., Sinead Cuffe, M.D., Mary O'Brien, M.D., Suman Rao, M.D., Katsuyuki Hotta, M.D., Ph.D., Melanie A. Leiby, Ph.D., Gregory M. Lubiniecki, M.D., Yue Shentu, Ph.D., Reshma Rangwala, M.D., Ph.D., and Julie R. Brahmer, M.D., for the KEYNOTE-024 Investigators*Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer (Il Pembrolizumab a confronto con la chemioterapia nel cancro non a piccole cellule del polmone PD-L1 positivo). October 9, 2016DOI: 10.1056/NEJMoa1606774.
- [302] Ruiz-Patiño A, Arrieta O, Cardona AF, et al. Immunotherapy at any line of treatment improves survival in patients with advanced metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC) compared with chemotherapy (Quijote-CLICaP). Thorac Cancer. 2020;11(2):353-361. doi:10.1111/1759-7714.13272
- [303] Cem Sahin, Muhyettin Omar, Hasan Tunca, Serdar Kalemci, Burak Ozseker, Gulhan Akbaba, Ozgur Tanriverdi. Weight Loss at the Time of Diagnosis Is Not Associated With Prognosis in Patients With Advanced-Stage Non-Small Cell Lung Cancer. J BUON Nov-Dec 2015;20(6):1576-84. PMID: 26854455

- [304] Buccheri G, Ferrigno D. Lung cancer: clinical presentation and specialist referral time. *Eur Respir J* 2004;24:898-904.
- [305] Corner J, Hopkinson J, Fitzsimmons D, Barclay S, Muers M. Is late diagnosis of lung cancer inevitable? Interview study of patients' recollections of symptoms before diagnosis. *Thorax* 2005;60:314-319.
- [306] Yildirim M, Yildiz M, Duman E, Goktas S, Kaya V. Prognostic importance of the nutritional status and systemic inflammatory response in non-small cell lung cancer. *JBUON* 2013;18:728-732.
- [307] Bozzetti F. Nutritional support of the oncology patient. *Clin Rev Oncol Hematol* 2013;87:172-200.
- [308] Gullett NP, Mazurak V, Hebbar G, Ziegler TR. Nutritional interventions for cancer-induced cachexia. *Curr Probl Cancer* 2011;35:58-90.
- [309] Tisdale MJ. Mechanism of cancer cachexia. *Physiol Rev* 2009;89:81-410.
- [310] Op den Kamp CMH, De Ruyscher DKM, van den Heuvel M et al. Early body weight loss during concurrent chemo-radiotherapy for non-small cell lung cancer. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 2014;5:127-137.
- [311] Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP (1982). Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 5(6):649-55.

- [312] Caires-Lima R, Cayres K, Protásio B, Caires I, Andrade J, Rocha L, Takahashi TK, Hoff PM, de Castro G Jr, Mak MP (2018). Palliative chemotherapy outcomes in patients with ECOG-PS higher than 1. *Ecancermedicalscience* 30;12:831.
- [313] Strøm HH, Bremnes RM, Sundstrøm SH, Helbekkmo N, Aasebø U (2014). Poor prognosis patients with inoperable locally advanced NSCLC and large tumors benefit from palliative chemoradiotherapy: a subset analysis from a randomized clinical phase III trial. *J Thorac Oncol* 9(6):825–33.
- [314] Bersanelli M, Brighenti M, Buti S, Barni S, Petrelli F (2018). Patient performance status and cancer immunotherapy efficacy: a meta-analysis. *Med Oncol* 20;35(10):132.
- [315] Botticelli, A., Salati, M., Di Pietro, F.R. et al. A nomogram to predict survival in non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab. *J Transl Med* 17, 99 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1847-x>
- [316] Tanizaki J, Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, Nakamura Y, Yonesaka K, Kudo K, Kaneda H, Hasegawa Y, Tanaka K, Takeda M, Ito A, Nakagawa K. Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab. *J Thorac Oncol*. 2018 Jan;13(1):97-105. doi: 10.1016/j.jtho.2017.10.030.
- [317] Berardi R, Rinaldi S, Santoni M, Newsom-Davis T, Tiberi M, Morgese F, Caramanti M, Savini A, Ferrini C, Torniai M, Fiordoliva I, Bower M, Cascinu S (2016). Prognostic models to predict survival in patients with advanced non-small cell lung

- cancer treated with first-line chemo- or targeted therapy. *Oncotarget* 3;7(18):26916-24.
- [318] Diem S, Schmid S, Krapf M, Flatz L, Born D, Jochum W, Templeton AJ, Früh M (2017). Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) and Platelet-to-Lymphocyte ratio (PLR) as prognostic markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with nivolumab. *Lung Cancer* 111:176-181.
- [319] Jiang T, Qiao M, Zhao C, Li X, Gao G, Su C, Ren S, Zhou C (2018). Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with outcome of advanced-stage cancer patients treated with immunotherapy: a meta-analysis. *Cancer Immunol Immunother* 67(5):713-727.
- [320] Ninković J, Roy S (2013). Role of the mu-opioid receptor in opioid modulation of immune function. *Amino Acids*;45(1):9-24.
- [321] Wang J, Charboneau R, Balasubramanian S, Barke RA, Loh HH, Roy S (2002). The immunosuppressive effects of chronic morphine treatment are partially dependent on corticosterone and mediated by the mu-opioid receptor. *J Leukoc Biol* 71(5):782-90.
- [322] Zylla D, Kuskowski MA, Gupta K, Gupta P. *Br J Anaesth*. Association of opioid requirement and cancer pain with survival in advanced non-small cell lung cancer. 2014;113(Suppl 1):i109-i116. doi:10.1093/bja/aeu351
- [323] Liang X, Liu R, Chen C, Ji F, Li T (2016). Opioid System Modulates the Immune Function: A Review. *Transl Perioper Pain Med* 1(1):5-13.

- [324] Cheido MA, Gevorgyan MM, Zhukova EN (2014). Comparative evaluation of opioid-induced changes in immune reactivity of CBA mice. *Bull Exp Biol Med* 156(3):363-5.
- [325] Sacerdote P (2008) Opioid-induced immunosuppression. *Curr Opin Support Palliat Care* 2(1):14-8.
- [326] Borner C, Lanciotti S, Koch T, Holtt V, Kraus J (2013). Mu opioid receptor agonist-selective regulation of interleukin-4 in T lymphocytes. *Journal of neuroimmunology* 263(1–2):35–42.
- [327] Borman A, Ciepielewski Z, Wrona D, Stojek W, Glac W, Leszkowicz E, Tokarski J (2009). Small doses of morphine can enhance NK cell cytotoxicity in pigs. *Int Immunopharmacol* 9(3):277-83
- [328] Condevaux F, Guichard J, Forichon A, Aujoulat M, Descotes J (2001). Compared effects of morphine and nickel chloride on NK cell activity in vitro in rats and monkeys. *J Appl Toxicol* 21(5):431-4.
- [329] Cancer pain and its impact on diagnosis, survival and quality of life. Mantyh PW (2006). *Nat Rev Neurosci*. 7(10):797-809.
- [330] Tamiya M, Tamiya A, Inoue T, Kimura M, Kunimasa K, Nakahama K, Taniguchi Y, Shiroyama T, Isa SI, Nishino K, Kumagai T, Suzuki H, Hirashima T, Atagi S, Imamura F. Metastatic site as a predictor of nivolumab efficacy in patients

with advanced non-small cell lung cancer: A retrospective multicenter trial. PLoS One. 2018 Feb 22;13(2):e0192227. doi: 10.1371/journal.pone.0192227.

- [331] Ribas A, Hamid O, Daud A, Hodi FS, Wolchok JD, Kefford R, Joshua AM, Patnaik A, Hwu WJ, Weber JS, Gangadhar TC, Hersey P, Dronca R, Joseph RW, Zarour H, Chmielowski B, Lawrence DP, Algazi A, Rizvi NA, Hoffner B, Mateus C, Gergich K, Lindia JA, Giannotti M, Li XN, Ebbinghaus S, Kang SP, Robert C. JAMA. 2016 Apr 19; 315(15):1600-9.