

Università degli studi di Padova

Corso di laurea in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di scienze cardio-toraco-vascolari e sanità pubblica

Direttore: Prof. Federico Rea

UOC di Chirurgia Toracica

Direttore: Prof. Federico Rea

TESI DI LAUREA

Analisi del significato prognostico e predittivo delle alterazioni molecolari nell'adenocarcinoma polmonare ai primi stadi trattato chirurgicamente: studio monocentrico retrospettivo sul ruolo delle principali mutazioni in termini di sopravvivenza e ricorrenza di malattia e analisi delle applicazioni cliniche

Relatore: Prof. Andrea Dell'Amore

Laureando: Zampieri Alberto

Anno accademico 2022-2023

INDICE

1. INTRODUZIONE	
1.1 Il carcinoma polmonare	5
1.1.1 Epidemiologia.....	5
1.1.2 Fattori di rischio.....	6
1.1.3 Manifestazioni cliniche.....	6
1.1.4 Iter diagnostico e stadiazione.....	9
1.1.5 Anatomia patologica.....	11
1.1.6 Caratterizzazione molecolare.....	14
EGFR.....	14
ALK.....	18
ROS1.....	19
PDL1.....	20
1.1.7 Trattamento.....	22
1.2 Trattamento primi stadi	26
1.2.1 Chirurgia.....	26
1.2.2 Chemioterapia.....	26
1.2.3 TKI (<i>Target therapy</i>).....	28
1.2.4 Immunoterapia.....	33
1.2.5 Radioterapia.....	35
1.2.6 Selezione dei pazienti.....	35
2. SCOPO DELLO STUDIO	39
3. MATERIALI E METODI	41
4. RISULTATI	45
5. DISCUSSIONE	67
6. CONCLUSIONI	75
7. BIBLIOGRAFIA	77

INDICE DEGLI ACRONIMI

AAH: Atypical Adenomatous Hyperplasia

ADC: Adenocarcinoma

ALK: Anaplastic Lymphoma Kinase

CT: Computed Tomography

DFS: Disease Free Survival

EBUS-TBNA: Endobronchial Ultrasound-Transbronchial Needle Aspiration

EGDS: Esofagogastroduodenoscopia

EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor

EUS-TEB: Esophageal Endosonography-Transesophageal Biopsy

FBS: Fibrobronchoscopy

GGO: Ground Glass Opacity

HR: Hazard Ratio

IARC: International Agency for the Research on Cancer

IASLC: International Association for the Study of Lung Cancer

IHC: Immunohistochemistry

NEJM: New England Journal of Medicine

NGS: Next Generation Sequencing

NSCLC: Non Small Cell Lung Cancer

OS: Overall Survival

PD-L1: Programmed Death-Ligand 1

PET: Positron Emission Tomography

RCT: Randomized Controlled Trial

RMN: Risonanza magnetica nucleare

SCLC: Small Cell Lung Cancer

TKI: Tyrosin Kinase Inhibitor

U.O.C.: Unità Operativa Complessa

VATS: Video-Assisted Thoracic Surgery

WHO: World Health Organization

SOMMARIO

Background. L'adenocarcinoma (ADC) rappresenta l'istotipo di neoplasia maligna polmonare primitiva maggiormente diagnosticato e nel 25% dei casi circa la patologia viene riscontrata ad uno stadio iniziale.

Il trattamento d'elezione per questa categoria di pazienti prevede l'intervento chirurgico resettivo e la linfadenectomia ilo-mediastinica, eventualmente seguito da un trattamento a scopo adiuvante qualora indicato. La scoperta e l'introduzione nel percorso terapeutico degli inibitori delle proteine a ruolo tirosin chinasi (TKIs) e degli inibitori dei *checkpoint* immunitari, sono stati le ultime novità in questo campo. Si tratta di farmaci la cui diffusione nelle principali linee guida internazionali è ormai consolidata, soprattutto nelle forme avanzate di malattia. Per gli stadi precoci, invece, l'indicazione rimane quella di utilizzare questi nuovi presidi terapeutici in combinazione, e non in sostituzione, ai trattamenti tradizionali. Emerge quindi la necessità di migliorare la stratificazione del rischio nei casi di adenocarcinoma polmonare ai primi stadi, in modo tale da discriminare quei pazienti che più di altri possono beneficiare dei nuovi trattamenti adiuvanti.

Scopo dello studio. L'obiettivo primario di questo studio è quello di confrontare l'*outcome* oncologico (sopravvivenza e rischio di recidiva) dei pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare nei primi stadi, differenziandoli sulla base delle diverse alterazioni molecolari (mutazioni di EGFR, riarrangiamenti di ALK e ROS1, iperespressione di PD-L1) riscontrate sulla lesione resecata; si tenta dunque di chiarire il significato prognostico di tali alterazioni che potrebbe guidare il percorso di cura di questa classe di pazienti.

Materiali e metodi. Si tratta di uno studio monocentrico retrospettivo di pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare nei primi stadi, sottoposti a segmentectomia o lobectomia polmonare presso l'UOC di Chirurgia Toracica dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra il gennaio 2015 e settembre 2022. I dati sono stati raccolti in un *database* sottoposto ad anonimizzazione dei dati e, successivamente, ad analisi statistica.

Risultati. L'*Overall Survival* (OS) dei pazienti in stadio I-III con almeno una delle alterazioni molecolari considerate è risultata del 91% a 5 anni, migliore rispetto all'80% riscontrato nei pazienti senza alcuna alterazione, con un *Hazard Ratio* (HR) dello 0.48 (HR 0.48, 95CI 0.22-1.04, p=0.064).

Considerando le mutazioni di EGFR, queste non sembrano avere ruolo determinante nell'OS né considerando gli stadi da I a III (HR 0.63, 95CI 0.26-1.50, $p=0.3$), né considerando gli stadi da I a IIB ed escludendo i pazienti sottoposti a terapie adiuvanti.

Per quanto riguarda l'espressione di PD-L1 negli stadi I-III, nonostante i tassi d'incidenza di ricorrenza appaiano omogenei tra i due gruppi considerati (PD-L1 \geq 1% vs PD-L1<1%), l'OS a 5 anni dei pazienti con un'espressione di PD-L1 maggiore o uguale all'1% è stata del 92% e per i pazienti con espressione inferiore all'1% è risultata invece dell'82%, con un HR per l'OS pari a 0.44 e *p-value* pari a 0.05 (HR 0.44, 95CI 0.20-1.0, $p=0.05$). Tuttavia la significatività statistica è stata persa considerando i pazienti in stadio I-IIB e non sottoposti a terapie adiuvanti.

Conclusioni. Il nostro studio sembra confermare l'utilità curativa della resezione chirurgica di tipo R0 pN0 nei casi di malattia localizzata di ADC. Di conseguenza possiamo affermare che, in termini prognostici, le alterazioni molecolari in questa specifica classe di pazienti abbiano un ruolo non determinante in quanto "sovrastato" dall'effetto radicale dell'atto chirurgico.

ABSTRACT

Background. Adenocarcinoma (ADC) represents the most diagnosed histological subtype among primary lung malignant diseases and about 25% of cases are discovered at early stage.

The gold standard treatment for these patients contemplates surgical resection with ilo-mediastinic lymphadenectomy, potentially followed by an adjuvant therapy, when indicated. The discovery of Tyrosin Kinase Inhibitor and checkpoint inhibitors and their application in the therapeutic algorithm are the latest novelty in this field. These are drugs whose spread in the main guidelines is by now consolidated, especially in advanced stages of disease. In early stages the indication remains to use these drugs in combination, and not in substitution, with traditional treatments. Therefore, it is necessary to improve the risk stratification of early stages adenocarcinoma, in order to identify the subgroup of patients that might benefit from new adjuvant treatments more than other patients.

Endpoint. The primary endpoint of this study is to compare the oncologic outcome (survival and risk of recurrence) of patients affected by early-stage lung adenocarcinoma differentiating them on the basis of different molecular alterations (EGFR mutations, ALK and ROS1 rearrangements, PD-L1 overexpression) observed in resected lesions. The attempt is to clarify the prognostic role of these alterations that might lead the therapeutic choice.

Methods. This is a monocentric retrospective study on patients affected by early-stage lung adenocarcinoma who underwent a lobectomy or segmentectomy in the UOC of Thoracic Surgery in the Azienda Ospedaliera of Padova, between January 2015 and September 2022. The data was collected in a database which underwent anonymization and statistical analysis.

Results. 5-year Overall Survival (OS) of stage I-III patients with at least one of the molecular alterations considered was 91%, better than the survival in patients without alterations: Hazard Ratio (HR) was 0.48 (HR 0.48, 95CI, 0.22-1.04, p=0.064).

EGFR mutations do not seem to have a prominent significance in terms of OS neither considering stages I-III (HR 0.63, 95CI 0.26-1.50, p=0.3) nor considering stages I-IIB and excluding patients who underwent adjuvant treatments.

Concerning PD-L1 expression in stages I-III, even though recurrence incidence rates look homogeneous between patients with PD-L1 \geq 1% and patients witch PD-

L1<1%, the 5-year OS of patients with higher expression was 92% and in patients with PD-L1<1% it was 82% (HR 0.44, 95CI 0.20-1.0, p=0.05).

However, statistical significance was lost when considering only I-IIA patients who did not undergo adjuvant treatments.

Conclusions. Our study seems to confirm the curative utility of surgical resection (R0 pN0) in localized forms of lung ADC. Consequently, we can affirm that molecular alterations do not have a crucial prognostic significance in this subgroup of patients because “covered up” from radical effects of surgery.

1. INTRODUZIONE

1.1 Il carcinoma polmonare

1.1.1 Epidemiologia

Il carcinoma polmonare figura come la terza neoplasia maligna più diagnosticata nel mondo nel 2020, con un tasso di incidenza standardizzato per età di 22,4 nuovi casi per 100.000 persone-anno (rappresenta la terza anche in Italia nel 2022, con 43.900 nuove diagnosi durante il suddetto anno (1)) e rappresenta la principale causa di morte per tumore (2).

Il picco di incidenza si registra al di sopra dei 70 anni di età; meno comune il riscontro al di sotto dei 50 anni. Tuttavia negli ultimi anni stanno aumentando i casi al di sotto della mediana d'età, specialmente tra i non fumatori.

L'incidenza del carcinoma del polmone mostra un *trend* in diminuzione nella popolazione di sesso maschile (nonostante nel 2022 in Italia abbia visto un aumento delle diagnosi dell'1,6%) ed un suo aumento nella popolazione di sesso femminile, correlato alla maggior diffusione dell'abitudine tabagica nelle donne a partire dalla fine degli anni '80 (3) (Figura 1).

Il tasso di sopravvivenza ad un anno risulta del 40%, a tre anni del 21% e a cinque anni del 15% (4).

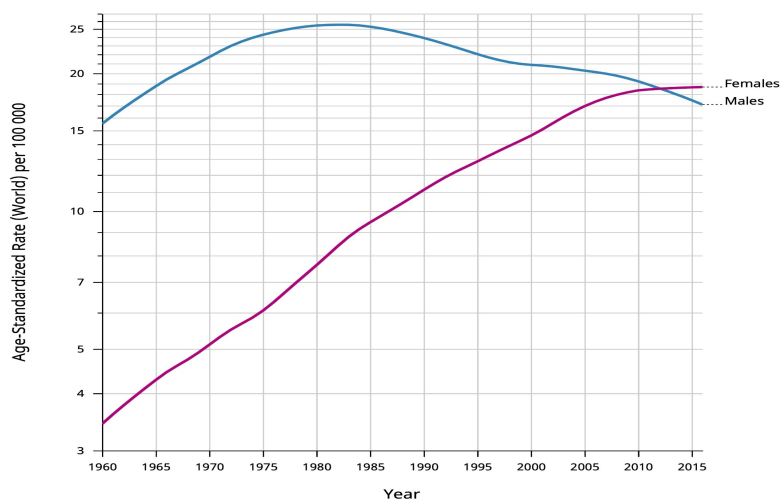


Figura 1: Andamento del tasso d'incidenza del carcinoma polmonare nei due sessi dal 1960 al 2018. Tratto da: Global Cancer Observatory, Cancer over time.

1.1.2 Fattori di rischio

L'abitudine al fumo è il principale fattore di rischio riconosciuto per l'insorgenza di carcinoma polmonare (5), risulta quindi molto importante l'aspetto di prevenzione primaria. Nel 2013 un articolo pubblicato sul *New England Journal of Medicine* (NEJM) di *Jha et al.* ha dimostrato come l'astensione dal fumo determini un aumento dell'aspettativa di vita, indipendentemente dal momento in cui inizia l'astensione. Ciò è prevalentemente dovuto ad un calo dell'incidenza del carcinoma polmonare (6).

Nei soggetti fumatori il tumore polmonare più frequente è il carcinoma squamoso (7), più spesso localizzato centralmente a livello di bronchi segmentali e subsegmentali e caratterizzato da una maggior instabilità genetica, che rende conto dell'impossibilità di ricorrere a trattamenti *target*.

Altri fattori di rischio riconosciuti sono l'esposizione ad asbesto, radon, nickel, le radiazioni ionizzanti e l'inquinamento atmosferico. Sulla base degli studi *AHSSMOG-2* (8) ed *ESCAPE* (9), l'*International Agency for the Research on Cancer* (IARC) ha classificato l'inquinamento atmosferico (in particolare il particolato atmosferico) come cancerogeno di gruppo 1 (cancerogeno certo per l'uomo). Si è infatti registrato un aumento del 22% (*AHSSMOG-2*) e del 55% (*ESCAPE*) del rischio di sviluppare neoplasie maligne polmonari per ogni aumento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ di PM2.5 nell'ambiente.

1.1.3 Manifestazioni cliniche (10)

La presentazione clinica di una neoplasia polmonare può essere dovuta alla localizzazione ed alla modalità di crescita del tumore primitivo, legata quindi ad eventuale compressione, infiltrazione o ostruzione di strutture adiacenti, ma anche alla presenza di metastasi a distanza ed allo sviluppo di sindromi paraneoplastiche. La dispnea, la tosse, l'emottisi, i sibili respiratori e le polmoniti ricorrenti possono riflettere una crescita centrale ed endobronchiale; la compressione e/o infiltrazione di strutture adiacenti può portare a disfagia (per compressione dell'esofago), dispnea (per compressione della trachea), disfonia (per compromissione del nervo laringeo ricorrente), innalzamento dell'emidiaframma (per lesione del nervo frenico), sindrome di *Claude-Bernard-Horner* (per lesione di fibre simpatiche cervicali), sindrome di *Pancoast* (per infiltrazione di radici del plesso brachiale), sindrome della vena cava superiore (per infiltrazione e trombosi neoplastica della

vena cava superiore) (Figura 2), dolore toracico e versamento pleurico (per infiltrazione dei foglietti pleurici e ostruzione di vasi linfatici), compromissione della cinetica cardiaca (per infiltrazione del pericardio).

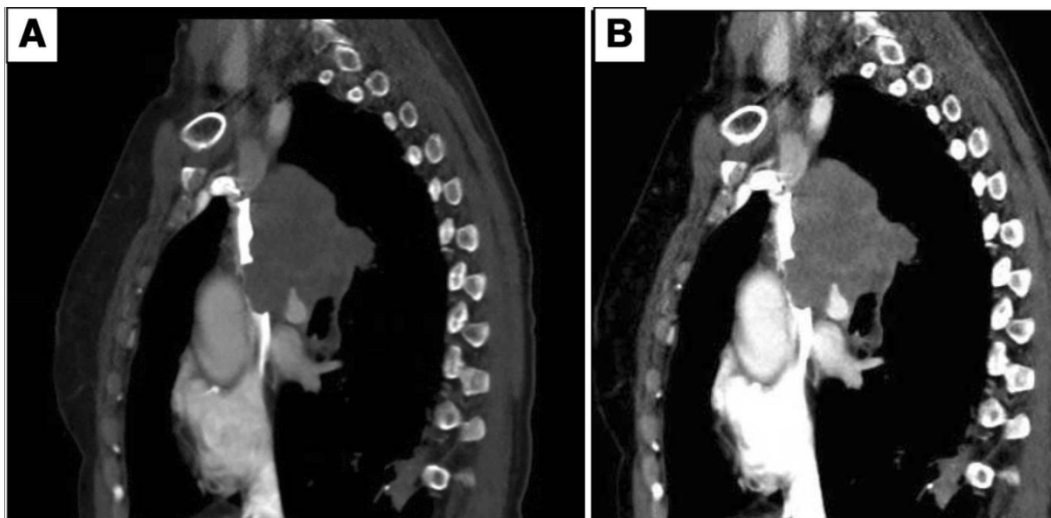


Figura 2. Scansioni TC di un paziente affetto da carcinoma polmonare infiltrante la vena cava superiore. Tratto da Hilton et al. Superior vena cava syndrome in a patient with locally advanced lung cancer with good response to definitive chemoradiation: a case report. Journal of Medical Case Report. 12:301 (2018) (11).

Tra i sintomi sistemici che possono accompagnarsi a quelli locali troviamo l'astenia, il malessere generalizzato, l'anoressia, la febbre ed il calo ponderale.

I secondarismi neoplastici da carcinoma polmonare primitivo si localizzano più tipicamente ai seguenti distretti: pleura (dolore da infiltrazione della parete toracica e versamento pleurico, di norma omolaterale alla lesione primitiva), encefalo (cefalea, nausea, vomito, deficit neurologici focali o alterazioni correlate alla compressione di strutture perilesionali), ossa (dolori, fratture patologiche, citopenie se coinvolto il midollo osseo), fegato (dolore addominale ed epatomegalia), surrene (sintomatico solo se di grandi dimensioni, con comparsa di dolore e sensazione di gonfiore addominale; se i surreni sono interessati bilateralmente può manifestarsi un'insufficienza surrenalica).

Infine una neoplasia polmonare può manifestarsi attraverso sindromi paraneoplastiche tra le quali: ipercalcemia ed ipofosfatemia (12), sindrome di *Cushing* (13), SIAD (14), osteoartropatia ipertrofica (15), sindrome di *Lambert-Eaton* (16), degenerazione cerebellare subacuta (17) (Tabella II).

SINDROME PARANEOPLASTICA	PRINCIPALI MANIFESTAZIONI CLINICHE
Ipercalcemia e ipofosfatemia	nausea, vomito, dolenzie addominali, stipsi, poliuria, polidipsia, alterazioni dello stato di coscienza
Sindrome di <i>Cushing</i>	obesità centrale, facies lunare, ipertensione, ipokaliemia, fragilità cutanea, intolleranza glucidica e diabete, strie rubrae, ipotrofia muscolare
SIAD	confusione, cefalea, vomito, astenia, convulsioni
Sindrome di <i>Lambert-Eaton</i>	astenia, dolore a carico della muscolatura prossimale degli arti, parestesie periferiche, secchezza delle fauci, disturbi dell'erezione e ptosi palpebrale, riflessi osteotendinei profondi ridotti o assenti ma con risposta incrementale alla stimolazione ripetitiva del nervo
Degenerazione cerebellare subacuta	atassia bilaterale delle braccia e delle gambe a lenta insorgenza, disartia, vertigini e diplopia
Osteoartropatia ipertrofica	ippocratismo digitale, periostite delle ossa lunghe degli arti, tumefazioni articolari

Tabella II. Manifestazioni cliniche più frequenti delle principali sindromi paraneoplastiche associate al carcinoma polmonare.

1.1.4 Iter diagnostico e stadiazione

I sintomi e l'esposizione ai fattori di rischio noti possono rappresentare il motivo per cui il paziente giunge all'attenzione del medico, ma va sempre ricordato che la neoplasia del polmone è una patologia che, soprattutto ai primi stadi, rimane molto spesso indolente ed asintomatica (circa un 10% dei pazienti affetti risulta asintomatico alla diagnosi (18)).

L'inquadramento della neoplasia polmonare beneficia di una serie di esami strumentali che consentono di delineare un processo diagnostico e terapeutico su misura per il paziente. Non è tuttavia ancora validato un programma di *screening* per il tumore del polmone, nonostante numerosi trial abbiano fornito risultati soddisfacenti (19–21).

La radiografia (RX) del torace, spesso eseguita nel contesto di accertamenti per altre patologie, rappresenta nella maggior parte dei casi l'indagine strumentale di primo livello che pone il sospetto di neoplasia polmonare per il riscontro di noduli parenchimali prima misconosciuti; a causa della sua bassa sensibilità e specificità, però, nel caso di forte sospetto di neoplasia polmonare (come in pazienti forti fumatori) viene spesso *bypassata* in favore di indagini di secondo livello.

La tomografia computerizzata (CT), preferibilmente con mezzo di contrasto, rappresenta l'esame strumentale più rilevante, in quanto consente di definire localizzazione, dimensioni e rapporti di eventuali neoformazioni sospette (22,23).

La tomografia ad emissione di positroni (PET), invece, consente di valutare l'attività metabolica della lesione primitiva e di eventuali localizzazioni linfonodali e/o a distanza; associata alla *CT total body* (PET-TC), quindi, risulta fondamentale per il corretto inquadramento e stadiazione di malattia sospetta per *mali moris*.

La risonanza magnetica nucleare (RMN) viene invece considerata un esame di terzo livello per quanto concerne la patologia parenchimale polmonare, e conseguentemente eseguita ben più raramente; essa può essere utile per lo studio dei criteri di invasività del tumore in particolari strutture come quelle vascolari o quando i piani di clivaggio di strutture vascolari, cardiache o nervose non sono chiare e ben delineate.

L'inquadramento diagnostico si avvale non solo delle metodiche già discusse, ma anche di esami invasivi, con il fine di valutare anche l'infiltrazione delle strutture mediastiniche e consentendo di effettuare campionamenti biotici in sedi non raggiungibili per via percutanea. Tra questi esami invasivi si menzionano:

fibrobroncoscopia (FBS), esofagogastroduodenoscopia (EGDS), fino ad arrivare ad interventi di mediastinoscopia e in VATS.

La diagnosi definitiva viene posta attraverso l'esame istologico che, quando possibile, viene ottenuto prima dell'eventuale trattamento chirurgico. La biopsia percutanea TC guidata (Bio-TC) consente di raggiungere lesioni polmonari periferiche, nonché eventuali metastasi addominali (ad esempio a livello epatico); FBS ed EGDS possono essere utili per campionare lesioni che infiltrano rispettivamente vie aeree superiori ed esofago; le metodiche di mediastinoscopia, di *Endobronchial Ultrasound* (EBUS-TBNA) ed Ecoendoscopia (EUS-TEB) vengono usate soprattutto per campionare linfonodi sospetti per infiltrazione neoplastica (oltre ad eventuali lesioni del surrene sinistro sospette per ripezione neoplastica, raggiungibili in EUS)(24–26). La VATS (*Video-Assisted Thoracic surgery*) consente infine di esplorare il cavo pleurico ed eseguire biopsie parenchimali, pleuriche e linfonodali (27).

L'estensione della patologia neoplastica polmonare, come per molti altri tumori solidi, viene espressa attraverso il sistema stadivo T,N,M. Il TNM si basa sulla definizione di tre parametri: dimensione del tumore primitivo (parametro T), coinvolgimento linfonodale (parametro N) e presenza di eventuali metastasi a distanza (fattore M). L'ultima versione del sistema TNM è l'VIII, pubblicata nel 2017 dalla *International Association for the Study of Lung Cancer* (28)(Tabella II).

T (primary tumor)	
T0	No primary tumor
Tis	Carcinoma in situ (squamous or adenocarcinoma)
T1	Tumor ≤3 cm
T1mi	Minimally invasive adenocarcinoma
T1a	Superficial spreading tumor in central airways*
T1a	Tumor ≤1 cm
T1b	Tumor >1 but ≤2 cm
T1c	Tumor >2 but ≤3 cm
T2	Tumor >3 but ≤5 cm or tumor involving: visceral pleura,† main bronchus (not carina), atelectasis to hilum†
T2a	Tumor >3 but ≤4 cm
T2b	Tumor >4 but ≤5 cm
T3	Tumor >5 but ≤7 cm or invading chest wall, pericardium, phrenic nerve; or separate tumor nodule(s) in the same lobe
T4	Tumor >7 cm or tumor invading: mediastinum, diaphragm, heart, great vessels, recurrent laryngeal nerve, carina, trachea, esophagus, spine; or tumor nodule(s) in a different ipsilateral lobe
N (regional lymph nodes)	
N0	No regional node metastasis
N1	Metastasis in ipsilateral pulmonary or hilar nodes
N2	Metastasis in ipsilateral mediastinal or subcarinal nodes
N3	Metastasis in contralateral mediastinal, hilar, or supraclavicular nodes
M (distant metastasis)	
M0	No distant metastasis
M1a	Malignant pleural or pericardial effusion‡ or pleural or pericardial nodules or separate tumor nodule(s) in a contralateral lobe
M1b	Single extrathoracic metastasis
M1c	Multiple extrathoracic metastases (1 or >1 organ)

*Superficial spreading tumor of any size but confined to the tracheal or bronchial wall. †Atelectasis or obstructive pneumonitis extending to hilum; such tumors are classified as T2a if >3 and ≤4 cm, T2b if >4 and ≤5 cm. ‡Pleural effusions are excluded that are cytologically negative, nonbloody, transudative, and clinically judged not to be due to cancer.

Tabella II. Ottava versione del sistema di stadiazione TNM pubblicata nel 2017 dalla IASLC. Tratto da Detterbeck FC. *The eighth edition TNM stage classification for lung cancer: What does it mean on main street? The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery. Volume 155 (2018) (28).*

1.1.5 Anatomia Patologica

Fino all'anno 2005 la classificazione delle neoplasie maligne del polmone prevedeva la distinzione tra tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC) e tumore polmonare a piccole cellule (SCLC). Questa distinzione si traduceva in un diverso approccio terapeutico previsto per questi istotipi: chirurgico per il NSCLC e solamente chemioterapico per il SCLC.

Negli anni le possibilità terapeutiche si sono ampliate enormemente, imponendo la necessità di una categorizzazione più precisa della neoplasia, basandosi su istologia (morfologia delle cellule che compongono la neoplasia), immunoistochimica (IHC) e caratterizzazione molecolare (29,30).

L'evoluzione è stata tale che nella classificazione WHO 2021 si riportano fino a sei istotipi di neoplasia polmonare, senza considerare gli istotipi rari o misti (per esempio i tumori adeno-squamosi):

- Adenocarcinoma
- Carcinoma squamoso (cheratinizzante e non cheratinizzante)
- Carcinoma a piccole cellule
- Carcinoma a grandi cellule
- Carcinoide (tipico e atipico)
- Carcinomi non classificati

Adenocarcinoma (31)

Rappresenta circa il 40% di tutti i casi di neoplasia polmonare maligna.

La lesione preneoplastica che può evolvere in adenocarcinoma è l'iperplasia adenomatosa atipica (AAH) in cui si presentano dei setti alveolari ingrossati e bordati da cellule molto più grandi rispetto a quelle di un alveolo normale. Questo tipo di lesioni (AAH) generalmente ha un aspetto radiologico a vetro smerigliato (GGO), ponendo il dubbio sulla necessità di eseguire biopsie e/o resezioni chirurgiche.

È possibile attuare una classificazione secondo l'invasività della lesione, a sua volta definita dalle dimensioni della neoplasia e dalle dimensioni del fronte di invasione:

- Adenocarcinoma *in situ* (dimensioni <3 cm; assenza di infiltrazione dello stroma)
- Adenocarcinoma minimamente invasivo (dimensioni <3 cm; infiltrazione dello stroma <5 mm)
- Adenocarcinoma invasivo non mucinoso (infiltrazione stromale >5 mm, indipendentemente dalle dimensioni), a sua volta classificato in lepidico, acinare, papillare, micropapillare e solido
- Adenocarcinoma invasivo mucinoso, che può essere fetale, colloide, *enteric-type* o *Not Otherwise Specified* (NOS).

Adenocarcinoma *in situ*

Presenta generalmente *pattern* di crescita di tipo lepidico che non supera la membrana basale; mancano quindi aspetti di infiltrazione di stroma, vasi e pleura.

È più spesso non mucinoso ma talvolta può essere anche mucinoso o misto.

Dopo resezione chirurgica presenta *Disease Free Survival* (DFS) del 100% e OS 97,8% a dieci anni (32).

Adenocarcinoma minimamente invasivo

A sua volta distinto in mucinoso e non mucinoso (più comune), spesso presenta un *pattern* di crescita lepidico e non mostra evidenza di infiltrazione vascolare e di necrosi. L'adenocarcinoma minimamente invasivo gode di un'ottima sopravvivenza (DFS del 100% e OS del 95,3% a dieci anni dopo resezione chirurgica)(32).

Adenocarcinoma invasivo

Dal punto di vista epidemiologico si configura come l'istotipo più frequente tra i NSCLC e rappresenta il 38% di tutte le diagnosi di neoplasia maligna del polmone; è più frequente nel sesso femminile e nei soggetti non fumatori.

Solitamente insorge a livello periferico, in sede subpleurica e generalmente la pleura viscerale sovrastante il nodulo risulta retratta e/o ispessita facendo assumere alla neoplasia un aspetto cicatriziale (*scar cancer*).

La frequente localizzazione periferica della lesione influisce sul processo diagnostico che in questi casi può beneficiare di una biopsia transcutanea con ago tranciante (*tru-cut*).

Si tratta di una neoplasia epiteliale maligna con differenziazione morfologica ed immunofenotipica di tipo ghiandolare (per la diagnosi vengono valutati i seguenti marcatori immunoistochimici: TTF-1, tipicamente positivo nei tumori polmonari primitivi; CK7 e Nap-A, positive nell'adenocarcinoma e negative nel carcinoma squamoso; CK20 e p63/p40, negative nell'adenocarcinoma e positive nel carcinoma squamoso); in base al grado di somiglianza dell'adenocarcinoma con il tessuto ghiandolare normale si distinguono forme ben, moderatamente e scarsamente differenziate:

- ben differenziato (G1), se prevale la crescita lepidica, con “pattern di alto grado” assenti o inferiori al 20% (i pattern di alto grado sono la forma solida o la forma micropapillare);
- moderatamente differenziato (G2), se si trovano prevalentemente le forme acinare o papillare, con meno del 20% delle forme più aggressive;
- scarsamente differenziato (G3): qualsiasi forma di tumore con pattern di alto grado maggiore del 20%.

All'esame istologico vengono registrate inoltre infiltrazione di pleura, vasi e nervi. In base all'espressione della mucina (fortemente PAS positiva) e al pattern di crescita si distinguono:

- Adenocarcinoma invasivo non mucinoso, con possibili pattern di crescita di tipo:
 - >Lepidico, in cui le cellule riproducono un normale spazio alveolare
 - >Acinare, con ghiandole piccole e angolate
 - >Papillare, con un asse fibrovascolare rivestito da fronde epiteliali
 - >Micropapillare
 - >Solido
- Adenocarcinoma invasivo mucinoso, con possibili pattern di crescita di tipo
 - >Fetale, chiamato così per la somiglianza al polmone ghiandolare del feto
 - >Colloide, il quale contiene una maggior quantità di muco rispetto agli altri
 - >*Enteric-type*, che esprime CDX2 (marcatore di tipo gastroenterico e pancreatico che rende critica la diagnosi differenziale con una metastasi)
 - >NOS.

1.1.6 Caratterizzazione molecolare

Al giorno d'oggi risulta essenziale lo studio delle alterazioni molecolari presenti nelle cellule neoplastiche di ciascun paziente. Ciò è dovuto all'esistenza di numerosi trattamenti a bersaglio molecolare (*target therapy*) e dell'immunoterapia, potenzialmente applicabili in gruppi selezionati di pazienti, sulla base delle specifiche mutazioni riscontrate.

Tali alterazioni molecolari rivestono un ruolo prioritario negli stadi avanzati di NSCLC (33), tuttavia recenti evidenze sottolineano il ruolo crescente della loro ricerca anche negli stadi precoci sottoposti a trattamenti locoregionali (34).

Le alterazioni più rilevanti sono: mutazioni del gene EGFR, traslocazioni a carico dei geni ALK e ROS1, elevati livelli di espressione di PDL-1 (approfonditi in seguito); traslocazioni in geni NTRK 1,2 e 3; mutazioni dei geni BRAF, K-RAS e MET.

EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

Il gene EGFR è localizzato nel braccio corto del cromosoma 7 e codifica per un recettore transmembrana dotato di attività tirosinchinasica (35). EGFR fa parte della famiglia di recettori HER/erb2, la quale include HER1 (EGFR/erbB1), HER2 (neu, erbB2), HER3 (erbB3) e HER4 (erbB4). Tali recettori presentano un dominio extracellulare *cysteine-rich* deputato al legame con il proprio ligando, un dominio di tipo alpha-elica transmembrana, un dominio citoplasmatico con attività tirosinchinasica (eccetto HER3) e una terminazione C-terminale di *signal transduction* (36). Il legame tra specifico ligando e corrispondente dominio extracellulare determina la dimerizzazione del recettore con altri recettori della stessa famiglia (più frequentemente con HER2); la dimerizzazione a sua volta rende possibile l'attivazione del dominio tirosinchinasico citoplasmatico; a ciò farà seguito la fosforilazione del dominio C-terminale che permetterà l'interazione con molecole adattatrici che a loro volta renderanno possibile la trasduzione del segnale attraverso l'attivazione di *downstream pathways* (RAS-RAF-MEK-MAPK pathway, PI3K pathway e STAT pathway (37)). Inoltre EGFR può anche interferire con la pathway delle integrine, alterando l'adesione cellulare. Attraverso i processi appena descritti, l'attivazione di EGFR porta, in ultima analisi, ad un aumento di proliferazione, angiogenesi, metastatizzazione e inibizione del processo apoptotico (38) (Figura 3).

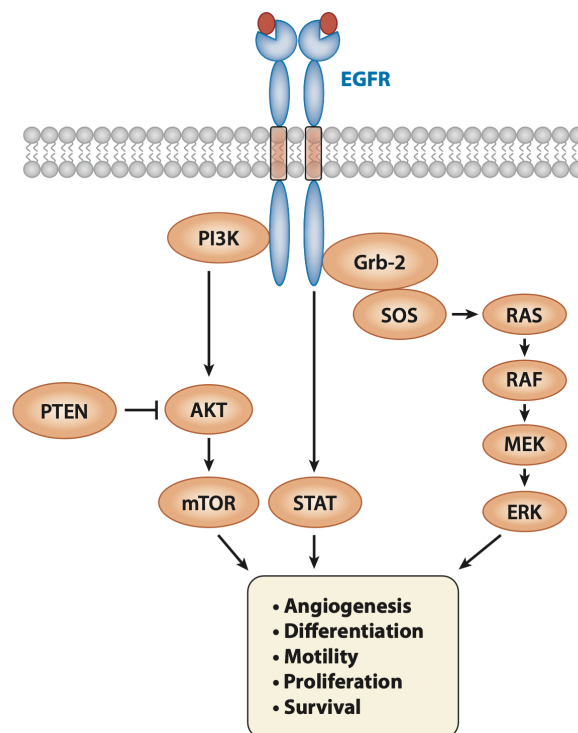


Figura 3. Schema semplificato dei segnali indotti da EGFR. Tratto da. Cunha Santos et al. *EGFR mutations and lung cancer, Annual Review of Pathology: Mechanism Of Disease. Volume 6, 2011.*

L'attività tirosinchinasica di EGFR, e dunque la sua possibilità di trasdurre il segnale a livello intracellulare, risulta aumentata in maniera inappropriata nel caso in cui il gene presenti alcune specifiche alterazioni molecolari. Tali alterazioni molecolari sono state rinvenute nel 15% degli adenocarcinomi polmonari di pazienti caucasici e vengono classificate in:

- mutazioni di classe I: brevi delezioni *in-frame* dell'esone 19 che comportano la perdita della traduzione di frammenti lunghi da 4 a 6 amminoacidi;
- mutazioni di classe II: mutazioni a singolo nucleotide che possono comparire negli esoni da 18 a 21;
- mutazioni di classe III: duplicazioni e/o inserzioni *in-frame* nell'esone 20(39).

Circa l'80-90% delle mutazioni attivanti EGFR sono risultate essere la delezione di classe I dell'esone 19 (la più frequente) e la mutazione L858R dell'esone 21.

La ricerca delle mutazioni di EGFR può essere eseguita sul pezzo operatorio oppure su un prelievo biotico del tumore primitivo e/o di eventuale metastasi mentre la ricerca su biopsia liquida è attualmente raccomandata come possibile alternativa all'analisi su tessuto tumorale nei pazienti con nuova diagnosi di carcinoma avanzato in cui la quantità e/o qualità del tessuto disponibile non siano sufficienti per effettuare le analisi molecolari previste.

La metodica consigliata per la ricerca di tali mutazioni è quella del sequenziamento genico di nuova generazione (NGS), data la possibilità di analizzare simultaneamente sia le alterazioni a carico di EGFR e BRAF, che le traslocazioni a carico di ALK, ROS1 ed NTRK (40).

Le mutazioni di EGFR sono più frequenti negli individui di etnia asiatica, nelle donne rispetto agli uomini, più frequenti negli individui che non hanno una storia di abitudine tabagica rispetto a chi ce l'ha e nei pazienti con adenocarcinoma rispetto ad altri istotipi di carcinoma polmonare (41).

Non vi è tuttavia concordanza tra gli studi in letteratura su quale sia il pattern istologico di crescita dell'adenocarcinoma che più frequentemente riporta tali mutazioni.

Il significato di maggior rilevanza delle alterazioni molecolari di EGFR è il loro potenziale valore predittivo positivo nei confronti di nuove terapie a bersaglio molecolare. Le principali classi farmacologiche designate per inibire l'iperattivazione di EGFR sono gli anticorpi monoclonali e le *small-molecules* TKIs, di cui solo quest'ultima viene utilizzata nel contesto del carcinoma polmonare. Dal punto di vista farmacodinamico questi farmaci agiscono legandosi in modo reversibile o irreversibile al sito di *binding* dell'ATP posto a sua volta nel dominio chinamico del recettore.

Tali farmaci vengono distinti in quelli di prima (gefitinib ed erlotinib), seconda (afatinib e dacomitinib) e terza generazione (osimertinib) e tra le possibili alterazioni di EGFR, quattro di queste hanno dimostrato maggiore sensibilità in vivo e in vitro:

- mutazione puntiforme dell'esone 18 (G719C)
- mutazioni puntiformi dell'esone 21 (L858R e L861Q)
- delezioni in-frame dell'esone 19.

Nonostante l'efficacia dei TKI, la maggior parte dei pazienti trattati sviluppano col tempo resistenze a questo tipo di trattamento. La principale causa di resistenza è rappresentata dalla selezione di cloni dotati di mutazione T790M(42–44) sull'esone 20, responsabile del 50-60% delle resistenze acquisite al trattamento con TKI di prima e seconda generazione (Figura 4); altre mutazioni implicate più raramente sono la D761Y, la T854A e la L747S (45–47).

Inoltre alcuni studi ipotizzano un ruolo nella resistenza ai TKI anche di alterazioni dei geni MET (48) e KRAS (49,50) seppur esistano anche evidenze contrarie (51).

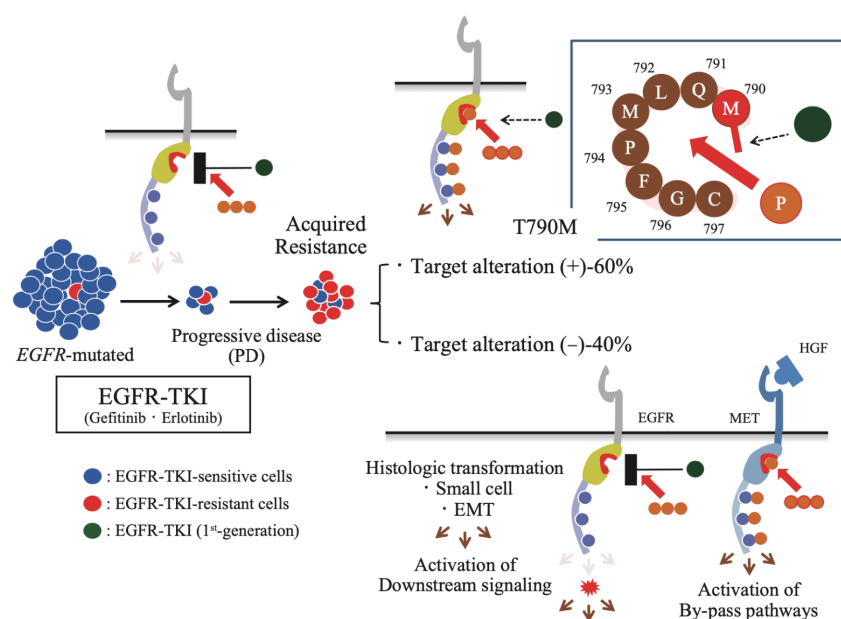


Figura 4. Alcuni dei meccanismi di resistenza acquisita agli inibitori tirosinchinasici di EGFR di prima generazione. Tratto da Yoneda et al. Treatment of Non Small Cell Lung Cancer with EGFR mutation, Journal of UOEH. Volume 41 (2019) (52).

Tuttavia, non solo le mutazioni del gene hanno valore predittivo sul trattamento con TKI, in quanto anche l'aumento del numero di copie del gene conferisce suscettibilità al trattamento (53). Inoltre è stato notato come spesso le due condizioni (gene mutato e gene amplificato) coesistano nello stesso tumore (54,55). In alcuni studi si è osservato un significato prognostico positivo delle mutazioni di EGFR nel NSCLC, indipendentemente dal trattamento ricevuto (56–60).

Inoltre lo stato mutazionale di EGFR sembrerebbe influenzare il sito prediletto di metastasi, come suggeriscono gli studi di *Renaud et al.* (61) e di *Mizuno et al.* (62) in cui si osserva, rispettivamente, una maggior incidenza di metastasi cerebrali e una minor incidenza di metastasi surrenaliche in pazienti affetti da malattia EGFR mutata.

Tuttavia, se ci si focalizza sugli stadi precoci candidati a resezione chirurgica, la letteratura risulta discordante, riportando valori prognostici sia positivi che negativi delle mutazioni di EGFR. Una recente metanalisi di 19 studi che ha preso in considerazione 2086 casi di tumori localizzati e mutati in EGFR ha concluso che la DFS dei pazienti mutati è simile a quella dei pazienti *wild-type*. Inoltre gli autori hanno riscontrato una DFS leggermente più bassa nei pazienti con la delezione dell'esone 19 rispetto a quelli con la mutazione L858R (63).

ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase)

Il gene ALK codifica per una tirosinchinasi transmembrana ed è localizzato nel braccio corto del cromosoma 2. Riarrangiamenti di ALK sono stati riscontrati in una percentuale variabile dal 2 al 7% di NSCLC, più frequente in pazienti con storia di fumo “leggera”, con sesso femminile, giovane età e adenocarcinoma(64), tuttavia solo una minor parte di essi riguarda forme resecabili, mentre la maggioranza interessa forme allo stadio IV (differentemente da quanto accade per le mutazioni di EGFR, che sono stadio indipendenti). Questa evidenza potrebbe essere spiegata dal fatto che i tumori *ALK-driven* presentano una biologia più aggressiva, con maggior proliferazione e diffusione sistemica (65). Nonostante questa osservazione, l'effettivo ruolo prognostico dei riarrangiamenti di ALK nei primi stadi rimane incerto (66,67). In particolare *Liu et al.*, in una coorte di 2103 pazienti resecati di cui 81 ALK-positivi, mostrano come i riarrangiamenti di ALK sembrerebbero non essere fattori prognostici indipendenti nell'adenocarcinoma polmonare in stadi I-III A (68).

I partner di traslocazione del gene ALK sono molti, ma il più frequente è il gene EML-4 (69). Il gene di fusione EML4-ALK rappresenta un target molecolare per farmaci TKI *multitarget* come il crizotinib (farmaco di prima generazione che tuttavia nella maggior parte dei casi portava a progressione della malattia per acquisizione di resistenza da parte del tumore (70)), Ceritinib (71) e Alectinib (72) (TKI di seconda generazione), Lorlatinib (TKI di ultima generazione (73)).

ROS1

Il gene ROS-1 codifica per una proteinchinasi correlata ad ALK, dotata di una componente extracellulare, una transmembrana e una intracellulare contenente il dominio tirosinchinasico, sito in prossimità dell'estremità C-terminale (74). Il ruolo fisiologico di ROS1 è poco conosciuto ma studi suggeriscono un suo coinvolgimento durante lo sviluppo embrionale, in particolare nella differenziazione del tessuto epiteliale (75). In pazienti affetti da carcinoma polmonare sono state riscontrate numerose anomalie a carico del gene ROS1, specialmente traslocazioni in grado di determinare una deregolazione dell'attività tirosinchinasica e conseguentemente un'attività spuria delle *pathway* a valle, di cui fanno parte SHP1/SHP2, ERK1/2, IRS-1, PI3K, AKT, STAT3 e VAV3 (76).

Riarrangiamenti del gene ROS1 sono rilevati in una percentuale variabile tra lo 0,9 e il 2,6% dei NSCLC, specialmente negli adenocarcinomi e in pazienti giovani, più frequentemente di sesso femminile; inoltre i carcinomi caratterizzati da riarrangiamenti a carico di ROS1 sono spesso diagnosticati in stadio avanzato (III-IV) e a maggior rischio di metastasi cerebrali (77). Traslocazioni del suddetto gene costituiscono un fattore predittivo di risposta a farmaci TKI *multitarget* quali Crizotinib (78) ed Entretinib (79).

PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1)

PD-L1 è una proteina transmembrana espressa fisiologicamente dalle cellule dell'organismo al fine di evitare un eventuale *killing* da parte delle cellule immunocompetenti. L'azione inibitoria di PDL1 si esplica quando essa interagisce con la sua controparte linfocitaria (PD1) espressa sulla superficie dei linfociti T, che a seguito di tale interazione presentano un'inibizione del segnale mediato dai TCR (Figura 5).

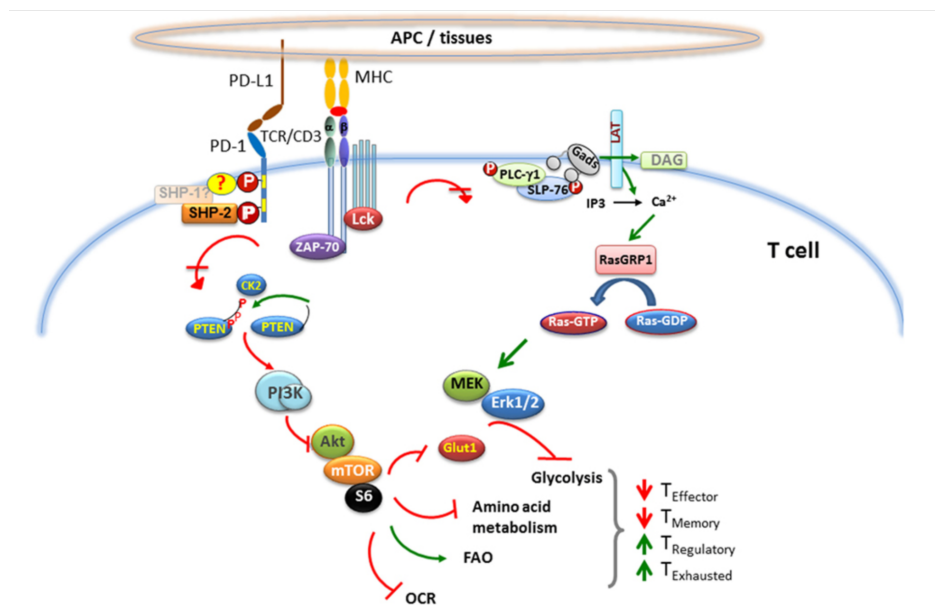


Figura 5. Effetto dell'interazione PD1-PDL1 nelle principali pathway di trasduzione del segnale all'interno del linfocita T, con conseguente riprogrammazione metabolica di quest'ultimo. Tratta da Bardhan et al. *The PD1:PD-L1/2 Pathway from Discovery to Clinical Implementation. Frontiers in Immunology* (2016).

Al fine di aumentare l'immunotolleranza nei propri confronti, spesso il tumore overesprime PD-L1 sulla sua superficie. Questa osservazione ha permesso lo sviluppo di una categoria di farmaci cosiddetti *checkpoint-inhibitors*, che vanno ad agire bloccando l'interazione PD1-PDL1 e favorendo quindi il *killing* delle cellule tumorali da parte del sistema immunitario (80).

Dati riguardanti la prevalenza dell'espressione di PD-L1 nel NSCLC sono ancora limitati, tuttavia sembra che in circa il 50% dei casi vi sia un'espressione almeno pari all'1% (81).

I *checkpoint-inhibitors* rientrano in un gruppo più ampio di farmaci, gli immunoterapici, dove per immunoterapia si intende l'insieme di approcci terapeutici finalizzati a ristabilire la capacità del sistema immunitario nel prevenire

e combattere le patologie, di origine sia esogena che endogena (82). Tra i principali aspetti critici dell'immunoterapia figura l'obiettivo di stimolare il sistema immunitario nell'attaccare il tumore senza però indurre dei quadri di autoimmunità, che rappresentano le principali limitazioni di questo approccio terapeutico.

Nel tumore polmonare i farmaci immunoterapici utilizzati sono anticorpi monoclonali di cui possono beneficiare in prima linea quei pazienti la cui neoplasia in stadio avanzato mostri una positività di espressione per PD-L1 in una percentuale uguale o maggiore al 50% secondo il *Tumor Proportional Score* (TPS), su un totale di almeno 100 cellule neoplastiche. Per l'eleggibilità alla seconda linea di trattamento in fase avanzata o per il trattamento adiuvante negli stadi precoci, il livello di espressione di PD-L1 deve invece essere maggiore o uguale all'1% (40). Dal punto di vista del ruolo prognostico, vari studi hanno mostrato che la positività di PD-L1 è associata ad una minor sopravvivenza soprattutto negli stadi avanzati di NSCLC. Negli stadi precoci invece il suo significato è meno chiaro. È stata condotta perciò una metanalisi da *Tuminello et al.* che comprende 40 studi presenti in letteratura, evidenziando un ruolo prognostico negativo anche negli stadi precoci, tuttavia senza considerare l'esecuzione di terapie adiuvanti, che potrebbero, tra le altre cose, modificare e quindi alterare il livello di espressione di PD-L1 (83,84). È stato inoltre condotto uno studio da *Saw et al.* con l'intento di chiarire il ruolo prognostico di PD-L1 in pazienti affetti da NSCLC negli stadi precoci e con mutazione di EGFR: elevate percentuali di espressione di PD-L1 si sono associate ad *outcome* inferiori indipendentemente dallo stato mutazionale di EGFR, tuttavia non è stata raggiunta la significatività statistica per quanto riguarda il dato di OS nel gruppo di controllo (pazienti con EGFR *wild-type*) (85).

1.1.7 Trattamento (Figure 6, 7 e 8).

Malattia in stadi precoci

Per pazienti affetti in stadio I e II la chirurgia con intento radicale rappresenta il trattamento di scelta (40).

In caso di pazienti inoperabili per controindicazioni mediche alla chirurgia ma malattia in stadi particolarmente precoci (T1-2 N0) dovrebbe essere preso in considerazione il trattamento stereotassico (86,87).

Nel setting adiuvante può essere somministrata una chemioterapia a base di platino in pazienti operati per malattia negli stadi II-IIIa aventi buon *performance status*, assenza di comorbidità maggiori e buona ripresa post-operatoria (88,89).

Ad integrazione della chemioterapia adiuvante è riconosciuta la validità del trattamento target con inibitori TKI di EGFR, nei soli pazienti con EGFR iperattivato. L'utilizzo dell'immunoterapia con inibitori di PD-L1 in seguito a chemioterapia è consentita in Italia solamente nel contesto di protocolli di studio.

Infine le ultime indicazioni IASLC prevedono anche la possibilità di un trattamento chemioimmunoterapico neoadiuvante in pazienti negli stadi IB-IIIa, previa discussione multidisciplinare.

Malattia localmente avanzata

In stadi IIIa e IIIB con T1-3, N2 in singola stazione, malattia *non bulky*, valutati in gruppi multidisciplinari, l'approccio chirurgico mantiene un ruolo primario e può essere variabilmente:

- seguito da chemioterapia adiuvante (40)
- anticipato da chemioterapia neoadiuvante (90,91)
- anticipato da chemio-radioterapia neoadiuvante

Negli stadi IIIB (N3) e IIIC la malattia viene definita non resecabile perciò si procede alla caratterizzazione molecolare al fine di ricercare la suscettibilità ai potenziali trattamenti target attuabili. Eventualmente può essere preso in considerazione anche l'utilizzo di una chemio-radioterapia a dosi radicali. Secondo le indicazioni IASLC tale trattamento chemio-radioterapico può essere seguito dalla somministrazione di un immunoterapico come terapia di consolidamento.

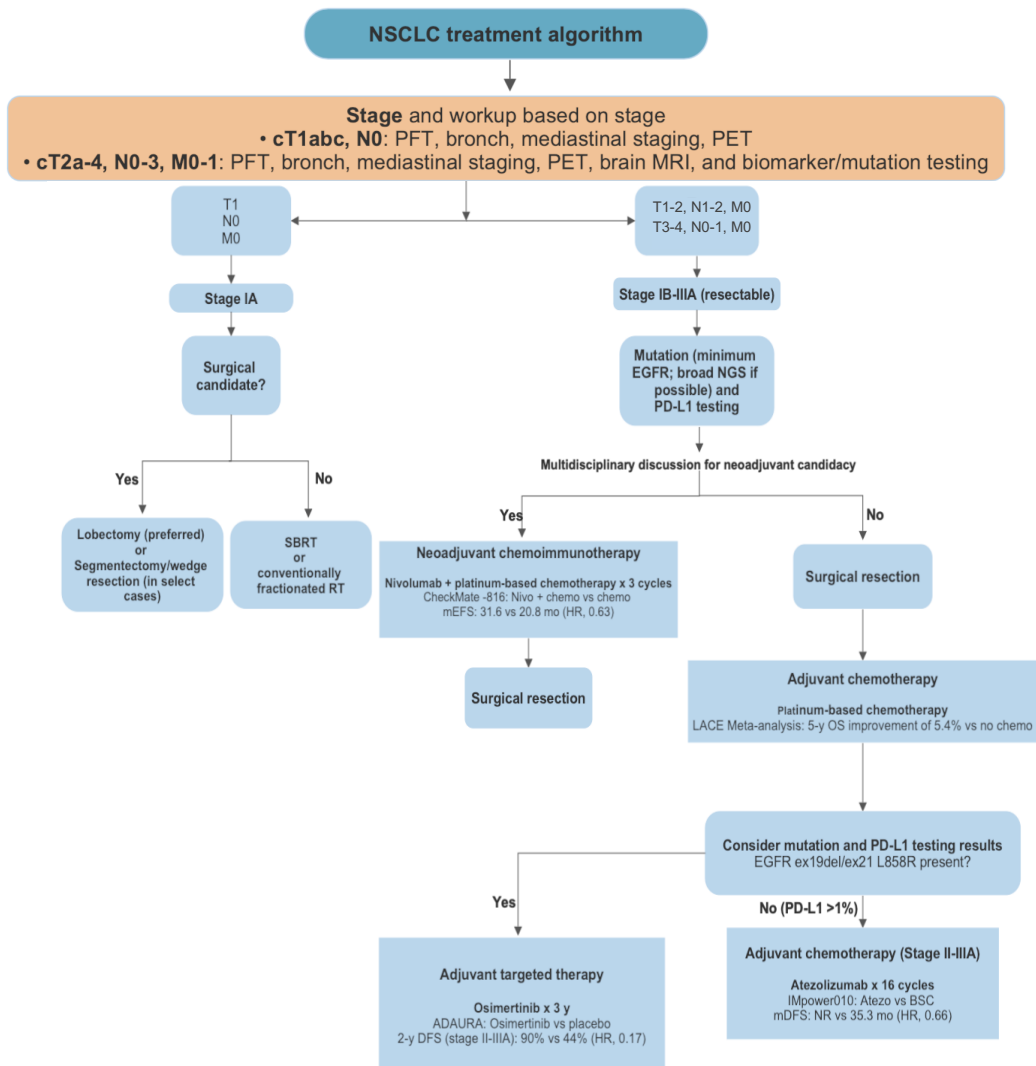


Figura 6. Indicazioni IASLC per il trattamento del NSCLC in stadio IA-IIIa (resecabile). Adattato da PeerView Oncology.

Malattia avanzata

Nei pazienti allo stadio IV il trattamento prevede una terapia sistemica che può essere costituita da chemioterapia tradizionale, immunoterapia o terapia molecolare a seconda delle caratteristiche del tumore e del paziente (40).

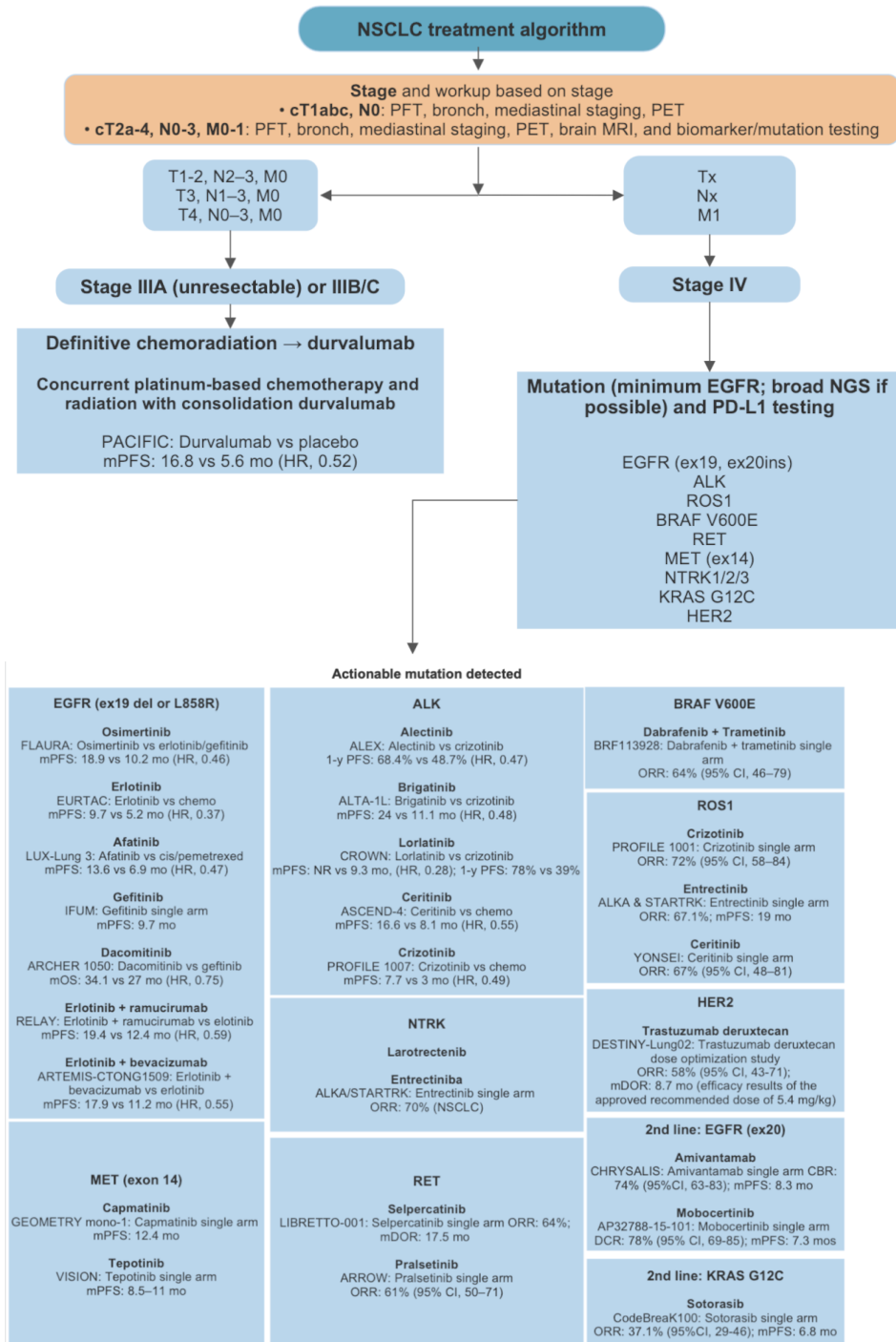


Figura 7. Indicazioni IASLC per il trattamento del NSCLC in stadio IIIA(non resecabile)-IV e con riscontro di mutazioni predittive. Adattato da PeerView Oncology.

No actionable mutation detected (stratify based on PD-L1 staining %)
<p style="text-align: center;">PD-L1 >50%</p> <p style="text-align: center;">IMMUNOTHERAPY MONOTHERAPY</p> <p style="text-align: center;">Pembrolizumab KEYNOTE-024: Pembro vs platinum-based chemo mPFS: 10.3 vs 6 mo (HR, 0.50)</p> <p style="text-align: center;">Atezolizumab IMpower110: Atezo vs platinum-based chemo mOS: 20.1 vs 13.1 mo (HR, 0.59)</p> <p style="text-align: center;">Cemiplimab EMPOWER-Lung1: Cemi vs platinum-based chemo mPFS: 8.2 vs 5.7 mo; mOS: NR vs 14.2 mo (HR, 0.57)</p> <p style="text-align: center;">IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY</p> <p style="text-align: center;">SQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel/nab-paclitaxel) KEYNOTE-407: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 6.4 vs 4.8 mo (HR, 0.56); mOS: 15.9 vs 11.3 mo (HR, 0.64) <p style="text-align: center;">NONSQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + pemetrexed) KEYNOTE-189: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 8.8 vs 4.9 mo (HR, 0.52); 12-mo OS: 69% vs 49% (HR, 0.49) • Atezolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel + bevacizumab) IMpower150: Atezo + chemo vs chemo mPFS: 8.3 vs 6.8 mo (HR, 0.62) <p style="text-align: center;">DUAL IMMUNOTHERAPY Nivolumab + ipilimumab CheckMate -227: Nivo/ipi vs chemo mOS: 17.1 vs 14.9 mo</p> <p style="text-align: center;">DUAL IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY Nivolumab + ipilimumab + chemo (2 cycles) CheckMate -9LA: Nivo/ipi + chemo vs chemo OS: 14.1 vs 10.7 mo</p>
<p style="text-align: center;">PD-L1 1%-49%</p> <p style="text-align: center;">IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY</p> <p style="text-align: center;">SQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel/nab-paclitaxel) KEYNOTE-407: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 6.4 vs 4.8 mo (HR, 0.56); mOS: 15.9 vs 11.3 mo (HR, 0.64) <p style="text-align: center;">NONSQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + pemetrexed) KEYNOTE-189: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 8.8 vs 4.9 mo (HR, 0.52); 12-mo OS: 69% vs 49% (HR, 0.49) • Atezolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel + bevacizumab) IMpower150: Atezo + chemo vs chemo mPFS: 8.3 vs 6.8 mo (HR, 0.62) <p style="text-align: center;">DUAL IMMUNOTHERAPY Nivolumab + ipilimumab CheckMate -227: Nivo/ipi vs chemo mOS: 17.1 vs 14.9 mo</p> <p style="text-align: center;">DUAL IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY Nivolumab + ipilimumab + chemo (2 cycles) CheckMate -9LA: Nivo/ipi + chemo vs chemo mOS: 14.1 vs 10.7 mo</p> <p style="text-align: center;">IMMUNOTHERAPY MONOTHERAPY Pembrolizumab KEYNOTE-042: Pembro vs plat-based chemo mOS: 16.7 vs 12.1 mo (HR, 0.81)</p>
<p style="text-align: center;">PD-L1 <1%</p> <p style="text-align: center;">IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY</p> <p style="text-align: center;">SQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel/nab-paclitaxel) KEYNOTE-407: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 6.4 vs 4.8 mo (HR, 0.56); mOS: 15.9 vs 11.3 mo (HR, 0.64) <p style="text-align: center;">NONSQUAMOUS:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pembrolizumab + chemotherapy (carboplatin + pemetrexed) KEYNOTE-189: Pembro + chemo vs chemo mPFS: 8.8 vs 4.9 mo (HR, 0.52); 12-mo OS: 69% vs 49% (HR, 0.49) • Atezolizumab + chemotherapy (carboplatin + paclitaxel + bevacizumab) IMpower150: Atezo + chemo vs chemo mPFS: 8.3 vs 6.8 mo (HR, 0.62) <p style="text-align: center;">DUAL IMMUNOTHERAPY + CHEMOTHERAPY Nivolumab + ipilimumab + chemo (2 cycles) CheckMate -9LA: Nivo/ipi + chemo vs chemo mOS: 14.1 vs 10.7 mo</p>

Figura 8. Indicazioni IASLC per il trattamento del NSCLC in stadio IIIA (non reseccabile)-IV e senza riscontro di mutazioni predittive. Adattato da PeerView Oncology.

1.2 Trattamento primi stadi

1.2.1 Chirurgia

La resezione polmonare, secondo le ultime linee guida, andrebbe eseguita in una U.O.C. di Chirurgia Toracica con elevato volume di attività (almeno 150 ± 50 procedure chirurgiche all'anno (92–94)).

L'intervento di lobectomia (exeresi del lobo polmonare) è ancora considerato l'approccio chirurgico standard per questa classe di pazienti. Tuttavia per pazienti in stadi precoci la segmentectomia (exeresi del segmento polmonare) è stata recentemente dimostrata essere una procedura non inferiore alla lobectomia.

Si tratta di resezioni di tipo anatomico (in contrapposizione alla resezione atipica) che vengono svolte sempre più frequentemente per via videotoracoscopica (VATS) ma talvolta, a seconda delle caratteristiche anatomiche del singolo paziente, anche per via toracotomica o con l'ausilio del robot (RATS).

L'asportazione di parenchima polmonare va associata, per il principio di radicalità oncologica, alla linfadenectomia ilo-mediastinica.

1.2.2 Chemioterapia

Il trattamento chemioterapico adiuvante è indicato negli stadi II e III, specialmente per forme scarsamente differenziate, con invasione vascolare e/o pleurica. Inoltre la decisione di intraprendere tale terapia adiuvante deve prendere in considerazione anche performance status, comorbidità maggiori ed età del paziente: esistono pochi dati a sostegno della chemioterapia adiuvante in pazienti con più di 75 anni d'età; generalmente il trattamento viene proposto tra le 8 e le 10 settimane dopo l'intervento chirurgico (95).

La chemioterapia adiuvante è costituita da 4 cicli di un'associazione di un farmaco a base di platino, di norma il cisplatino (o dei suoi derivati a seconda delle caratteristiche del paziente) ed un farmaco tra vinorelbina, gemcitabina e un taxano (40), tuttavia può essere considerato anche il pemetrexed (96).

Nei pazienti più anziani (specialmente se d'età superiore 75 anni), dato il maggior rischio di insufficienza renale, scompenso cardiaco e deficit uditivo, il carboplatino viene considerato come maggiore alternativa al cisplatino (95).

La percentuale di pazienti che sviluppa una recidiva o muore nei 5 anni dopo l'intervento rimane alta nonostante la chemioterapia adiuvante (45% per lo stadio IB, 62% per il II e 76% per il III), con un aumento del 15% dell'OS (88,89).

I principali effetti avversi dovuti alla chemioterapia a base di platino sono rappresentati dalla nausea e vomito, neuropatie periferiche, nefrotossicità e ototossicità.

Il ruolo di un'eventuale terapia adiuvante di associazione di chemioterapia e osimertinib rimane poco chiaro e discusso: lo studio ADAURA (trial clinico in corso sull'utilizzo dell'osimertinib nel setting adiuvante) infatti non è stato disegnato per valutarne l'efficacia. Tuttavia l'utilizzo della *cisplatinum-based chemotherapy* risulta ben distribuita tra i due bracci dello studio, pur non rientrando tra i fattori di stratificazione: sulla base di questa equa distribuzione è stata svolta un'analisi che evidenzia chiaramente che i 4 cicli a base di platino non migliorano la DFS quando somministrata prima dell'osimertinib (97). Inoltre il trattamento in 4 cicli richiede un periodo di 12 settimane (a cui possono aggiungersi delle settimane necessarie al paziente per riprendersi dalla chemiotossicità) il che può ritardare l'inizio del trattamento con osimertinib (98).

Sembrerebbe comunque che il trattamento chemioterapico adiuvante a base di platino possa acquisire una maggior rilevanza in quel piccolo gruppo di pazienti affetti da NSCLC la cui neoplasia, oltre alla mutazione di EGFR, mostri un'alterazione molecolare anche del gene Rb (Retinoblastoma) che sembrerebbe favorire la comparsa di resistenza ai TKI (99). Tale osservazione si basa su un'analisi dei risultati dello studio ADJUVANT, in cui il TKI preso in considerazione è il gefinitib, per cui si necessitano ulteriori dati nel contesto della terapia con i TKI di terza generazione, designati proprio per bypassare le principali resistenze.

Infine, in Giappone, è stata proposta anche una chemioterapia adiuvante costituita dall'associazione di uracile e tegafur (profarmaco del 5-FU) in rapporto 4:1 (100).

1.2.3 TKI (*Target Therapy*)

Gli inibitori tirosinchinasici di EGFR sono delle *small molecules* concepite per inibire il sito di legame con l'ATP della proteina EGFR, andandovisi a legare in modo reversibile o irreversibile. L'affinità di questi farmaci per il loro bersaglio molecolare è maggiore se quest'ultimo presenta delle mutazioni attivanti piuttosto che nelle forme *wilde-type* (38).

Gli inibitori tirosinchinasici di EGFR si suddividono in tre generazioni (prima, seconda e terza), tuttavia per quelli di seconda generazione (inibitori irreversibili come neratinib, dacomitinib e afatinib) non vi sono trial randomizzati con un loro utilizzo nel setting adiuvante dei primi stadi di adenocarcinoma.

Per quanto riguarda invece i TKI di prima generazione (erlotinib, gefitinib e icotinib) esistono *trials* che dimostrano un loro beneficio significativo in termini di sopravvivenza libera da recidiva ma non di sopravvivenza globale nei pazienti con NSCLC radicalmente operati in stadio II-III rispetto alla chemioterapia a base di platino(101–103).

In un ulteriore trial è stata confrontata l'efficacia di icotinib in seguito alla chemioterapia a base di platino rispetto alla sola chemioterapia, non rilevando un aumento significativo dei pazienti liberi da malattia (104).

Il primo EGFR-TKI ad essere approvato nel setting adiuvante di pazienti affetti da NSCLC EGFRmut (Ex19del o L858R) in stadio IB-IIIa completamente resecato è l'osimertinib (105).

L'osimertinib, è un TKI di terza generazione che determina un legame covalente irreversibile con il target (sito ATPasico di EGFR), riuscendo ad inibire la proteina EGFR sia con mutazioni sensibilizzanti sia con quelle mutazioni tipicamente causa di resistenza ai TKI (T790M). Per questo motivo esso è approvato anche per il trattamento nello stadio avanzato del NSCLC EGFRmut e nello stadio avanzato del NSCLC EGFR T790M-positivo (106,107).

L'osimertinib è un farmaco somministrato per via orale e la dose raccomandata nel setting adiuvante è di 80 mg/die, che possono essere assunti indipendentemente a digiuno o a stomaco pieno.

Il trattamento dovrebbe essere continuato fintanto che il paziente non sviluppa una ricorrenza o un evento di tossicità tale da richiederne l'interruzione. La dose può comunque essere variata sulla base della tollerabilità, fino ad un dimezzamento della dose (40 mg/die) (105,108).

L'efficacia dell'osimertinib nel setting adiuvante è stata valutata attraverso lo studio ADAURA (109), un trial di fase terza controllato randomizzato e in doppio cieco in cui il trattamento con 80 mg/die per tre anni (o fino ad interruzione per ricorrenza o tossicità) di osimertinib è confrontato al placebo. Lo studio ha arruolato soggetti adulti (età superiore ai 18 anni), affetti da adenocarcinoma polmonare con stadio patologico da IB a IIIA (secondo l'*American Joint Commission on Cancer 7th edition*) completamente resecato chirurgicamente, con le mutazioni Ex19del o L585R (da sole o combinate con altre mutazioni di EGFR), con WHO *Performance Status* di 0 o 1, sottoposti o meno a trattamento chemioterapico adiuvante (costituito da una doppietta a base di platino per un massimo di 4 cicli). Altri regimi di trattamento rappresentano invece criteri di esclusione.

La randomizzazione è stata stratificata sulla base dello stadio (IB, II o IIIA), della mutazione di EGFR (Ex19del o L858R) e dell'etnia (asiatici e non asiatici).

L'*endpoint* primario dello studio è la DFS *investigator-assessed*; gli *endpoint* secondari sono DFS a 2, 3 e 5 anni, OS, OS-*rate* a 5 anni, tollerabilità, efficacia e qualità di vita associata alla terapia.

Fintanto che non erano ancora disponibili i dati di OS, sono state condotte delle analisi dati intermedie, di cui l'ultima prevede il *cut-off* temporale ad aprile 2022 (110), e che evidenziano, rispetto al placebo, un prolungamento della DFS associata ad una riduzione del rischio di ricorrenza di circa l'80% negli stadi IB-III A. Il prolungamento della DFS è stato rilevato in tutti i gruppi di stratificazione:

- stadio (anche dopo *re-staging* in accordo all'ottava edizione del manuale AJCC/UICC): stadio I (HR 0.41, 95CI 0.23–0.69); stadio II (HR 0.34, 95CI 0.23–0.52); stadio IIIA (HR 0.20, 95CI 0.12–0.29)
- mutazione: Ex19del (HR 0.12 95CI 0.07–0.20); L858R (HR 0.31, 95CI 0.18–0.49)
- etnia: asiatici (HR 0.21, 95CI 0.13–0.31); non asiatici (HR 0.15, 95CI 0.07–0.28)

L'incremento della DFS è risultato simile nei pazienti sottoposti e non sottoposti a chemioterapia adiuvante, indipendentemente dallo stadio di malattia.

Inoltre l'osimertinib ha ridotto le recidive sia locoregionali che a distanza, in particolare riducendo il rischio di recidiva cerebrale dell'82% rispetto al placebo, evidenziando la buona diffusione del farmaco a livello del sistema nervoso centrale.

Si sottolinea come i risultati ottenuti, in termini di DSF, nello studio ADAURA siano migliori rispetto a quanto osservato negli studi precedenti svolti con TKI di generazioni precedenti alla terza (111).

Questi risultati sono stati raggiunti mantenendo nei pazienti trattati con l'osimertinib una HRQOL (*Health Related Quality of Life*) analoga a quella associata al placebo.

Gli eventi avversi più comuni nei pazienti che hanno assunto osimertinib nel corso dello studio sono stati: diarrea, paronichia, secchezza cutanea, prurito, tosse, stomatite, alopecia, epistassi, interstiziopatia ed eritrodistsesia palmo-plantare. Tra questi, quelli che più frequentemente hanno determinato la necessità di interrompere o ridurre il trattamento sono stati diarrea, stomatiti, paronichia e interstiziopatia.

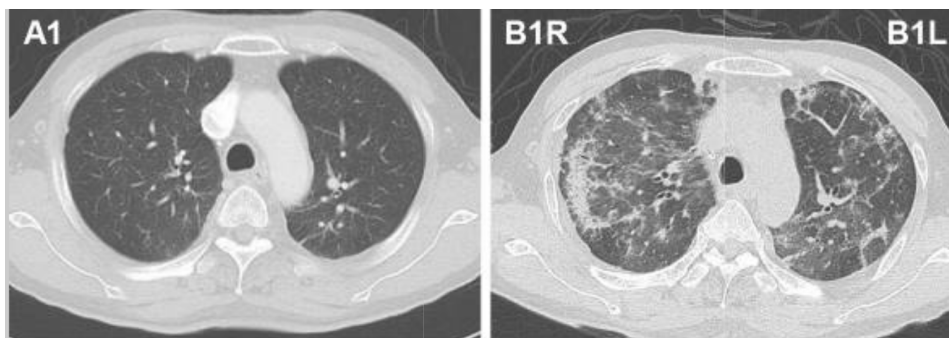


Figura 9. Scansioni TC prima (A) e dopo (B) un periodo di trattamento con osimertinib che ha determinato l'insorgenza di interstiziopatia. Tratto da Matsumoto et al. Interstitial Lung Disease Induced by Osimertinib for Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) T790M-positive Non-small Cell Lung Cancer. Intern Med. (2017).

Il 4 giugno 2023 sono stati inoltre pubblicati sul NEJM i primi risultati relativi all'analisi dell'OS ottenuti nel *trial* clinico (112): l'OS a 5 anni del campione globale (stadi da IB a IIIA) è risultata essere dell'88% nel braccio che ha ricevuto l'osimertinib e del 78% nel braccio che ha ricevuto il placebo. L'HR valutato con modello di Cox è risultato pari allo 0.49 (HR 0.49, 95CI 0.34-0.70, $p < 0.001$) (Figura 10).

Questi risultati riguardanti il campione globale sono in linea con quanto ottenuto nelle analisi eseguite stratificando la popolazione sulla base dello stadio di malattia e sulla base dell'esecuzione o meno di chemioterapia adiuvante.

Gli autori ipotizzano inoltre che l'utilizzo dell'osimertinib nel gruppo placebo come trattamento di alcuni casi di recidiva possa aver diminuito la differenza tra i due bracci dello studio, tuttavia non è possibile quantificare il contributo di tale approccio nel determinare l'OS nel suddetto gruppo.

Infine nell'articolo viene sottolineato come il profilo di sicurezza del farmaco all'ultimo *follow-up* risulti in linea con quanto riportato nelle precedenti analisi di ADAURA.

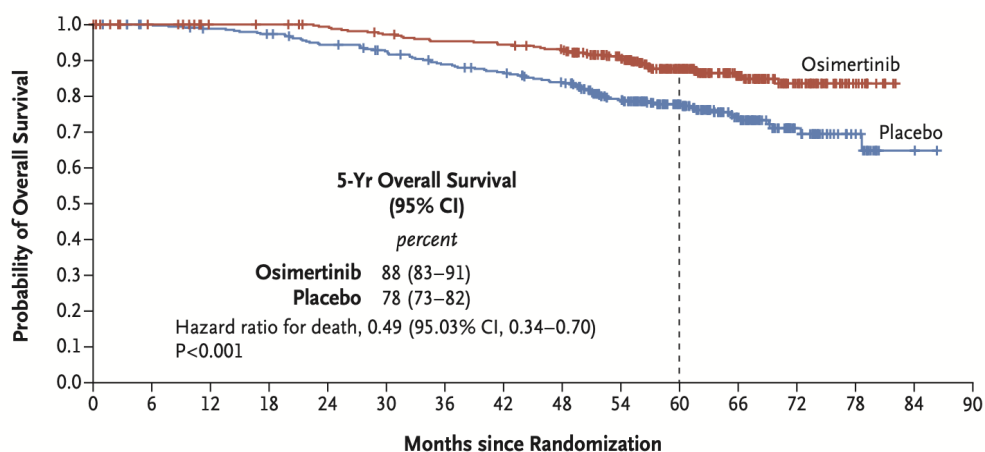


Figura 10. Overall survival a 5 anni ottenuta negli stadi IB-IIIa nell'ultima analisi del trial ADAURA. Tratto da Tsuboi et al. Overall Survival with Osimertinib in Resected EGFR-Mutated NSCLC, *New England Journal of Medicine* (2023).

Gli aspetti che ancora rimangono controversi e da definire riguardo all'uso di osimertinib nel setting adiuvante sono:

- la selezione dei pazienti che possono trarne il maggior beneficio (è in corso lo studio ADAURA2 al fine di chiarire il ruolo dell'osimertinib anche negli stadi IA2-IA3) (113)
- l'effettiva valenza della chemioterapia adiuvante somministrata prima della target therapy
- la durata opportuna del trattamento (è in corso lo studio TARGET con l'intento di valutare un trattamento con osimertinib della durata di 5 anni negli stadi II-IIIb)
- l'eventuale possibilità di un utilizzo in un setting neoadiuvante (è in corso lo studio NeoADAURA per gli stadi II-IIIb N2) (114)
- il ruolo dell'osimertinib come terapia di mantenimento in pazienti con malattia non resecabile allo stadio III (studio LAURA (115))

- la scoperta dei meccanismi di resistenza all'osimertinib che portano i pazienti in terapia a sviluppare recidive

Riguardo a quest'ultimo punto, la quasi totalità delle conoscenze disponibili al giorno d'oggi deriva da studi in pazienti con forme avanzate di NSCLC, necessitando dunque di un maggior numero di evidenze negli stadi precoci prima di poter essere considerate anche nel setting adiuvante (116).

Oltre agli importanti studi relativi ai TKI di EGFR, esistono anche *trials* che prendono in considerazione l'utilizzo dei TKI di ALK e ROS1, tuttavia non ne sono ancora stati pubblicati i relativi risultati. Essendo trattamenti riservati a pazienti con riarrangiamenti di ALK ed essendo questi ultimi piuttosto rari, non sorprende il fatto che vi siano pochi studi a riguardo: l'ALCHEMIST *trial* (117) prevede un braccio in cui pazienti affetti da NSCLC in stadio IB-IIIa (TNM VII) ALK-driven sono randomizzati alla sola osservazione o alla terapia con crizotinib in seguito al trattamento standard (chirurgia radicale più o meno eventuali chemioterapia e/o radioterapia adiuvanti); l'ALINA *trial* (118) invece confronta l'alectinib con lo standard di trattamento in pazienti con NSCLC in stadio IB-IIIa (TNM VII) con ALK riarrangiato e radicalmente resecati.

Infine sono in corso anche due studi (NCT04302025 e NCT03088930) relativi all'utilizzo di ALK-TKI nel setting neoadiuvante; questi ultimi comprendono anche braccia di arruolamento per portatori di alterazioni molecolari a carico di ROS1.

È importante sottolineare come il trattamento con TKI sia un trattamento duraturo e di conseguenza una delle principali limitazioni al loro utilizzo in adiuvante è proprio la persistenza a lungo termine dei loro effetti avversi in pazienti senza evidenza di malattia. Inoltre la terapia con tali farmaci è prona ad indurre fenomeni di pressione selettiva indotta dal farmaco, attraverso mutazioni e/o fenomeni epigenetici: un possibile approccio futuro potrebbe essere quello della terapia combinata con inibitori della trasduzione dei segnali di STAT3 e di Src in modo da ridurre il livello delle subpopolazioni di cellule tumorali staminali (119).

Infine va considerato che lo studio del genoma tumorale porterà all'individuazione di alterazioni molecolari molto rare, per le quali lo studio delle relative *target therapy* dovrà soddisfarsi dell'estrapolazione di risultati clinici senza dei *trials* formali, non fattibili data la rarità delle alterazioni riscontrate (119).

1.2.4 Immunoterapia

Al giorno d'oggi il trattamento di tipo immunoterapico nel contesto dell'adenocarcinoma polmonare si basa sull'utilizzo di *checkpoint-inhibitors*, in particolare di anticorpi monoclonali che agiscono sul *checkpoint* PD1-PDL1 .

Un trattamento di 16 cicli con atezolizumab è disponibile nei pazienti affetti da adenocarcinoma EGFR *wilde-type* negli stadi II-IIIa completamente resecati in seguito a 4 cicli di chemioterapia a base di platino. L'impiego dell'atezolizumab in questo setting è sostenuto dai risultati dello studio IMpower-010 (120), un trial di fase III in cui 1005 pazienti con NSCLC completamente resecato in stadio IB-IIIa (secondo la settima edizione del sistema TNM) sono stati randomizzati a ricevere atezolizumab per 12 mesi o la terapia di supporto dopo il trattamento chemioterapico adiuvante a base di platino. Lo studio ha dimostrato un prolungamento della DFS negli stadi II-IIIa trattati con atezolizumab sia con un'espressione tumorale di PD-L1 uguale o superiore 1% (HR 0.66, 95CI 0.50-0.88, p=0.003) sia negli stadi II-IIIa indipendentemente dal livello di espressione di PD-L1 (HR 0.79, 95CI 0.64-0.96, p=0.02). I dati di OS dell'IMpower-010 sono invece ancora immaturi.

Dal punto di vista della tollerabilità, durante lo studio si sono manifestati casi di tossicità severa (gradi 3 e 4) nell'11% dei pazienti trattati con atezolizumab e 4 pazienti sono deceduti per morte correlata al trattamento (120).

Basandoci sui dati preliminari dello studio PEARLS/KEYNOTE-091 (121) possiamo affermare che anche pembrolizumab per un anno sembra rappresentare un'opzione perseguibile in questo setting, indipendentemente dai livelli di espressione di PD-L1.

Nel setting neoadiuvante invece, i primi risultati dello studio *CheckMate816* mostrano un prolungamento dell'*Event Free Survival* (EFS) nei pazienti trattati con un'associazione di nivolumab e 3 cicli di chemioterapia a base di platino rispetto a quelli in cui la chemioterapia è stata associata al placebo (HR 0.63, 95% CI 0.43–0.91, P= 0.005) (122).

È interessante notare come una serie di studi preclinici e retrospettivi suggeriscano che le mutazioni attivanti EGFR determinino un'upregolazione dell'espressione di PD-L1 nel NSCLC, il che dovrebbe rappresentare un fattore predittivo positivo all'utilizzo di anticorpi monoclonali rivolti verso PD-L1 (123–128); inoltre studi su topi con adenocarcinoma polmonare EGFR mutato hanno mostrato un aumento di

sopravvivenza qualora venisse indotto nei topi un blocco del segnale PD1-PDL1, con aumento della funzionalità dei linfociti T effettori ed una diminuzione di citochine protumorigeniche nel microambiente tumorale (129). Nonostante le evidenze precliniche, i pazienti affetti da NSCLC EGFRmut mostrano una scarsa risposta all'immunoterapia.

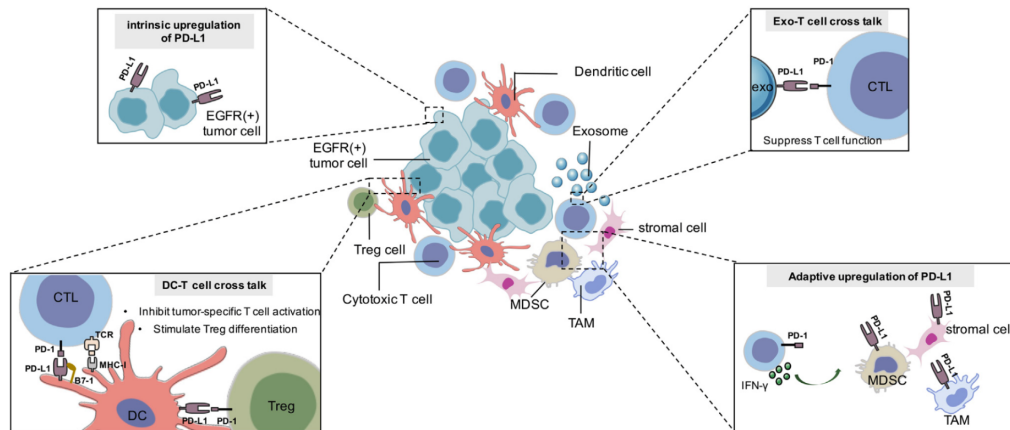


Figura 11. Interazione PD1-PDL1 in tumori con mutazione di EGFR. Tratto da M. Qiao et al., *Immune Checkpoint Inhibitors in EGFR-Mutated NSCLC: Dusk or Dawn?*, *Journal of Thoracic Oncology*. Volume 16 (2021).

Molti studi suggeriscono che nei tumori EGFRmut la possibile spiegazione di tale resistenza possa essere rappresentata dalle caratteristiche del microambiente tumorale di questi pazienti, a sua volta determinato da molteplici fattori in relazione tra loro attraverso complesse interazioni. Esistono inoltre evidenze precliniche e cliniche secondo cui un iniziale trattamento con TKI potrebbe favorire un'attività antitumorale del sistema immunitario (130–133), tuttavia data la complessità dei meccanismi coinvolti questo aspetto rimane ancora poco chiaro e richiede ulteriori ricerche prima di acquisire un significato clinico.

Nonostante la maggior parte dei pazienti con NSCLC EGFRmut abbia una cattiva risposta all'immunoterapia, esistono alcuni casi che hanno dimostrato outcome soddisfacenti: lo studio di questi casi permette di identificare dei sottogruppi di pazienti, che nonostante l'iperattivazione di EGFR potrebbe beneficiare dell'immunoterapia (134). Ad esempio *Chen et al.* hanno osservato che neoplasie con mutazioni rare di EGFR presentavano una maggior espressione di PD-L1 e un microambiente tumorale infiammato con numerosi linfociti T CD8+ infiltranti il

tumore, potenzialmente associati a miglior risposta al trattamento immunoterapico (135). Inoltre alcuni dati suggeriscono che l'efficacia dei *checkpoint inhibitors* sia maggiore in caso di mutazione L858R piuttosto che di Ex19del (136). Infine sembrerebbe che anche una storia di risposta inferiore ai sei mesi al trattamento con TKI rappresenti un fattore predittivo di prolungamento della DFS se successivamente vengono somministrati i *checkpoint inhibitors* (137).

Da sottolineare che tali osservazioni derivano da studi svolti solamente su forme avanzate della malattia e non nei primi stadi.

1.2.5 Radioterapia

I dati riguardanti il ruolo della radioterapia postoperatoria negli stadi precoci provengono da diverse metanalisi, delle quali la più recente è stata pubblicata nel 2016 (138). Tale metanalisi prende in considerazione 11 trial dei quali si sono andati ad analizzare OS e DFS da recidiva locale e a distanza. L'analisi mostra un peggioramento della sopravvivenza nei pazienti trattati con PORT (*Postoperative Radiotherapy*) con un aumento del rischio di morte del 18% (HR 1.18, 95CI 1.07-1.31, $p=0.001$), riducendo l'OS dal 58 al 53%. Il numero di recidive loco-regionali risulta invece minore nei pazienti trattati con radioterapia adiuvante. Tuttavia, essendo il decesso l'evento più osservato, i risultati finali sono attribuibili soprattutto alla sopravvivenza. Ciò fa pensare che l'aumento del rischio di morte sia attribuibile a meccanismi diversi dalla recidiva loco-regionale.

1.2.6 Selezione dei pazienti

La scelta di sottoporre un paziente ad un eventuale trattamento adiuvante si basa sugli eventuali fattori predittivi, sul rischio prognostico del paziente e sulle preferenze espresse da quest'ultimo. A sua volta, la stratificazione prognostica per il NSCLC ai primi stadi si basa al giorno d'oggi essenzialmente sulla stadiazione patologica e sul *performance status* del paziente, essendoci pochi altri fattori prognostici validati.

Questo approccio tuttavia aumenta il numero di pazienti che vengono sottoposti a trattamenti sistemici pur non beneficiandone, venendo quindi inutilmente esposti agli effetti avversi di suddette terapie.

Vi è quindi la necessità di stratificare al meglio dal punto di vista prognostico quei pazienti andati incontro a resezione chirurgica, cercando di individuare coloro che presentano un maggior rischio di recidiva.

In una pubblicazione del 2022, *Garinet et al.* (139) passano in rassegna quegli aspetti che in un prossimo futuro dovranno essere presi in considerazione al fine di una raffinata selezione del paziente da sottoporre a terapia adiuvante (Figura 12).

Tra questi fattori si annoverano dei parametri clinici, relativi al paziente (età, sesso, *performance status*, stato nutrizionale, comorbidità, sintomi alla diagnosi ed esposizione a fumo e alcool), fattori istopatologici relativi alla massa neoplastica (parametri T,N e M, istotipo, pattern di crescita, grado, *Spread Through Air Spaces -STAS-*, microinvasione pleurica, vasale e perineurale) e alterazioni molecolari rilevate nel tumore (alterazioni di EGFR, alterazioni di ALK e ROS1, iperespressione di PD-L1, alterazioni di KRAS e BRAF, alterazioni di MET, *Tumor mutation Burden*, il *circulating tumor DNA* e le alterazioni epigenetiche).

Si ritiene opportuno precisare:

- età: l'età avanzata rappresenta un fattore prognostico negativo nel caso in cui essa sia una controindicazione all'intervento chirurgico; tuttavia la DFS in seguito a resezione chirurgica risulta indipendente dall'età del paziente (140)
- sesso: il sesso maschile correla con peggior prognosi rispetto al sesso femminile (141)
- stato nutrizionale: BMI superiori a 25 correlano con una miglior sopravvivenza post-operatoria (fenomeno noto come "*obesity paradox*") (142)
- sintomi alla diagnosi: la presenza di sintomatologia sistemica (febbre, perdita di peso e astenia) è stata associata a peggior prognosi allo stadio I rispetto alla sintomatologia locale (tosse, dolore toracico e dispnea) (143)
- parametro N (coinvolgimento linfonodale): in caso di coinvolgimento di tipo N2, il riscontro di *skipping metastases* (invasione neoplastica di linfonodi N2 senza coinvolgimento di linfonodi N1) sembra avere significato prognostico positivo (144)
- istotipo: l'adenocarcinoma sembra mostrare una sopravvivenza peggiore rispetto al carcinoma squamoso (145)

- pattern di crescita: all'interno dell'adenocarcinoma, i sottotipi mucinoso invasivo, solido e micropapillare sono associati a peggior prognosi rispetto ai sottotipi lepidico, acinare e papillare (146).
- KRAS: mutazioni di KRAS sono associate a peggior prognosi solamente se riscontrate allo stadio I (147)
- BRAF: al giorno d'oggi il ruolo prognostico di BRAF rimane incerto
- *Tumor mutation burden*: l'eterogeneità genetica sembra essere associata a minori DFS e OS (148)
- epigenetica: l'ipermetilazione delle isole GpC nei promotori di geni oncosoppressori è stata associata a peggior prognosi in tumori resecati allo stadio I (149).

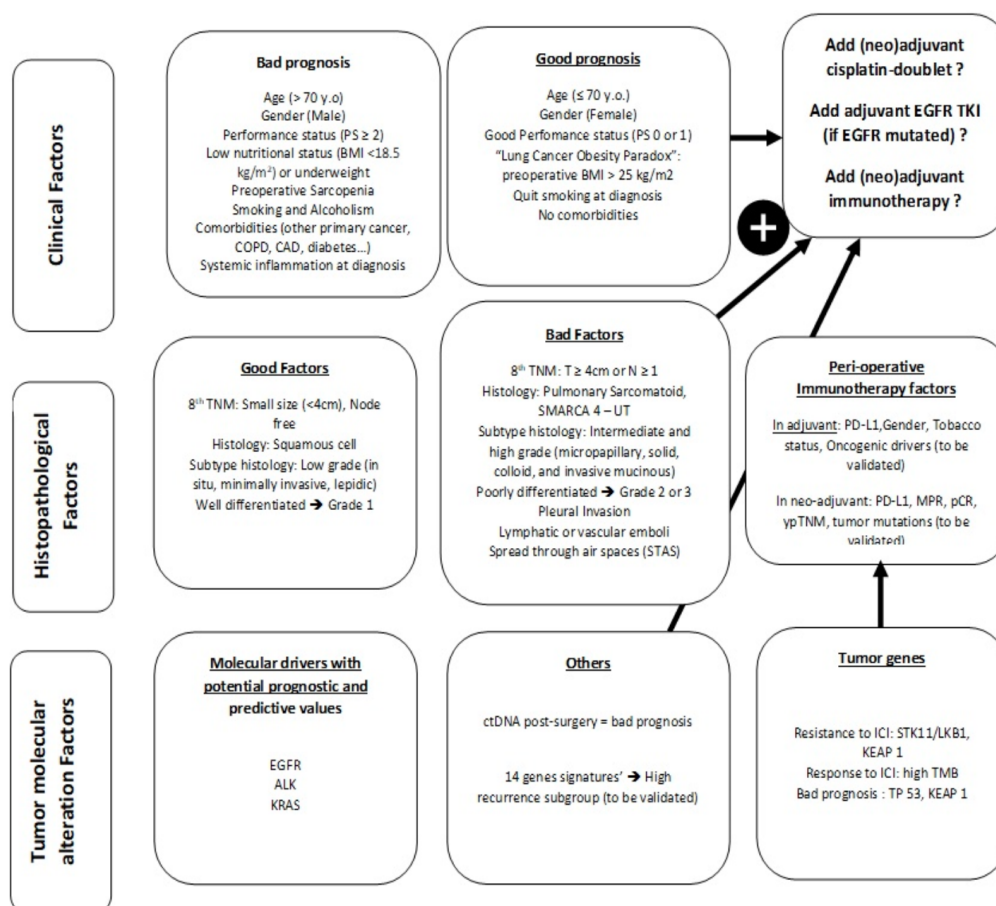


Figura 12. Riassunto dei principali fattori prognostici nei primi stadi di NSCLC. Tratto da Simon Garinet et al. *Updated Prognostic Factors in Localized NSCLC. Cancers* (2022).

2. SCOPO DELLO STUDIO

La caratterizzazione molecolare dell'adenocarcinoma polmonare sta acquisendo progressivamente importanza non solo nelle forme avanzate di malattia, bensì anche negli stadi precoci. Il riscontro di determinate alterazioni permette infatti al paziente di accedere a trattamenti specifici prima riservati solo agli stadi metastatici e recentemente approvati anche nelle forme resecabili. Tuttavia i costi elevati, la durata dei trattamenti, i potenziali effetti avversi e lo sviluppo di cloni resistenti stressano la necessità di una miglior selezione dei pazienti candidabili al trattamento. Vi è quindi la necessità di identificare e validare dei fattori prognostici che permettano di stratificare in maniera efficace tali pazienti in termini di sopravvivenza e rischio di recidiva. Tra i fattori prognostici da prendere in considerazione si annoverano dei parametri clinici, relativi al paziente (età, sesso, performance status, stato nutrizionale, comorbidità, sintomi alla diagnosi e storia di attività voluttuarie), fattori istopatologici relativi alla massa neoplastica (parametri T, N e M, istotipo, pattern di crescita, grado, *Spread Through Air Spaces -STAS-*, microinvasione pleurica, vasale e perineurale) e alterazioni molecolari rilevate nel tumore.

Tra queste ultime si possono annoverare le alterazioni di EGFR, le alterazioni di ALK e ROS1, l'iperespressione di PD-L1, le alterazioni di KRAS e BRAF, le alterazioni di MET, il TMB (*Tumor mutation Burden*), il ctDNA (circulating tumor DNA) e le alterazioni epigenetiche (139).

In questo contesto, il nostro studio prende in considerazione le alterazioni di EGFR, ALK, ROS1 e l'iperespressione di PD-L1, con l'intento di valutarne il significato nei primi stadi di adenocarcinoma polmonare trattato chirurgicamente, confrontandoli con le più recenti evidenze in letteratura.

Per quanto riguarda le alterazioni di EGFR, diversi studi riportano outcome oncologici molto simili tra le forme mutate e quelle *wild-type*, nonostante vi siano ancora studi discordanti in letteratura (150).

I riarrangiamenti di ALK invece non sembrano essere fattori prognostici indipendenti, mentre i riarrangiamenti di ROS1 hanno ancora un ruolo sconosciuto. Infine, stando ai dati in letteratura, l'iperespressione di PD-L1 sembrerebbe essere associata a peggior prognosi.

Con il nostro studio riportiamo l'esperienza ottenuta in un centro di Chirurgia Toracica di ampio volume, quale la U.O.C. di Chirurgia Toracica dell'Azienda Ospedaliera di Padova, andando a valutare gli outcome oncologici dei pazienti affetti da adenocarcinoma in stadio precoce e sottoposti a intervento di segmentectomia o lobectomia. In particolare il nostro obiettivo primario è l'analisi della sopravvivenza (OS) nonché del rischio di recidiva dei pazienti operati e nel cui tumore è stata riscontrata una delle alterazioni tra le seguenti: alterazioni di EGFR, riarrangiamenti di ALK e ROS1, iperespressione di PD-L1.

Miriamo dunque a dare un contributo nella stratificazione del rischio dei pazienti operati e candidabili ai nuovi trattamenti adiuvanti disponibili.

3. MATERIALI E METODI

In questo studio retrospettivo monocentrico sono stati arruolati pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare nei primi stadi (da cT1a a cT2b) sottoposti ad intervento chirurgico di resezione segmentaria tipica (segmentectomia) o lobectomia presso l'U.O.C. di Chirurgia Toracica dell'Azienda Ospedaliera di Padova tra gennaio 2015 e settembre 2022.

Lo studio è stato condotto in accordo con la Dichiarazione di Helsinki e tutti i pazienti arruolati hanno dato il loro consenso all'utilizzo dei dati riportati nelle analisi. La consultazione delle cartelle cliniche è avvenuta mediante ricerca nei sistemi informatici dell'Azienda Ospedaliera (Galileo ed Oncosys) e delle cartelle cliniche cartacee presenti negli archivi ospedalieri e nell'archivio del reparto.

Raccolta dei dati del campione

Per ogni paziente sono stati consultati: la scheda anamnestica (da cui si sono potuti ottenere dati anagrafici quali età, sesso, altezza, peso, BMI, comorbidità quali diabete, ipertensione e BPCO, storia di patologia neoplastica pregressa ed eventuale trattamento, storia di abuso di alcool e di tabagismo, *Charlson Comorbidity Index*), prove di funzionalità respiratoria preoperatorie (di cui sono stati presi in considerazione i valori di FVC e sua percentuale rispetto al predetto, FEV1 e sua percentuale rispetto al predetto, DLCO/VA e sua percentuale rispetto al predetto), indagini radiologiche di stadiazione, specialmente TC e PET-TC (con particolare interesse a diametro maggiore della neoplasia e conseguente stadiazione del parametro cT, eventuale presenza di aspetto a *Ground Glass* della lesione, valore SUV della lesione e delle stazioni linfonodali), atto operatorio (da cui le informazioni riguardanti data e durata della procedura, tipo di resezione eseguita, tipo e numero di accessi chirurgici, esecuzione di linfadenectomia ilo mediastinica, presenza o meno di aderenze, completamento o meno della scissura, eventuale necessità di conversione dell'approccio chirurgico e la relativa causa).

Sono stati poi analizzati i referti degli esami istologici, da cui sono stati ottenuti dati relativi all'esecuzione di indagini biotiche preoperatorie e dell'analisi del pezzo operatorio (istotipo e altre caratteristiche istologiche della lesione come pattern di crescita, grading, numero di mitosi, necrosi, infiltrato linfomonocitario, STAS [*Spread Through Air Spaces*], invasione vascolare, invasione pleurica, invasione

perineurale, MIB1 [ubiquitina ligasi], numero, tipo ed eventuale localizzazione neoplastica dei linfonodi asportati, misura dei margini di resezione e stadiazione TNM patologica), i referti delle indagini molecolari relative alla ricerca delle alterazioni molecolari di EGFR (mutazioni puntiformi degli esoni 18, 19, 20 e 21, delezione in frame dell'esone 19), delle alterazioni molecolari di ALK e ROS1 e percentuale di espressione di PD-L1.

Per quanto riguarda eventuali trattamenti adiuvanti la ricerca è stata implementata nella piattaforma Oncosys (per valutare tipo del trattamento adiuvante - radioterapia, chemioterapia, immunoterapia o target therapy- con attenzione ai farmaci utilizzati, numero di cicli e durata del trattamento).

Infine si è presa visione dei referti delle visite di *follow-up* (con valutazione degli esami di imaging periodici) svolte presso l'ambulatorio di chirurgia toracica o dell'oncologia e che hanno permesso di rilevare la risposta radiologica ad eventuale terapia adiuvante, la comparsa di recidive con data, localizzazione, trattamento e risposta al trattamento delle eventuali recidive, status del *follow-up* (talvolta reperito attraverso contatto telefonico col paziente o con suoi famigliari).

Criteri di inclusione ed esclusione

I criteri di inclusione allo studio sono:

- pazienti affetti da adenocarcinoma primitivo del polmone
- pazienti con stadiazione clinica cT1-cT2b sulla base dell'VIII versione del sistema TNM
- pazienti operati con interventi di lobectomia o segmentectomia associata a linfadenectomia ilo-mediastinica
- pazienti operati tra l'1 gennaio 2015 e il 30 settembre 2022

I criteri di esclusione invece sono:

- pazienti affetti da neoplasie polmonari benigne
- pazienti affetti da metastasi polmonari
- pazienti affetti da carcinoma polmonare di altra istologia rispetto ad adenocarcinoma
- pazienti con stadiazione clinica superiore al cT2b
- pazienti operati con interventi di *wedge-resection* (resezione polmonare atipica)

- pazienti che hanno ricevuto trattamenti neoadiuvanti prima dell'intervento chirurgico.

Analisi statistica

Le variabili continue sono state sintetizzate con mediana e range interquartile, le variabili categoriche con numero assoluto e frequenza percentuale.

L'analisi di sopravvivenza è stata effettuata con lo stimatore di *Kaplan-Meier* per la *Overall Survival* (OS); per la *Disease Free Survival* (DFS), è stata invece indicata l'incidenza cumulativa considerando la morte come evento competitivo (*Cumulative Incidence Function*). Le curve di sopravvivenza sono state confrontate utilizzando il *Log-rank test*.

La forza dell'associazione tra la variabile e la OS è stata valutata mediante il modello di Cox univariabile. La significatività è stata fissata per $p \leq 0.05$.

4. RISULTATI

Caratteristiche del campione. La popolazione oggetto di questo studio è composta da 427 pazienti, di cui il 216 (51%) femmine e 211 (49%) maschi.

L'età mediana della popolazione è di 70 anni (IQR 63-75) e i soggetti con storia attuale o pregressa di abitudine tabagica sono 299 (70%).

Per quanto riguarda le comorbidità si sono riscontrati 47 pazienti affetti da diabete mellito (11%), 242 pazienti con ipertensione arteriosa (57%), 47 pazienti affetti da BPCO (11%) e 165 pazienti (39%) con storia pregressa di patologia neoplastica maligna, conseguentemente trattata in 161 casi (38%).

La popolazione di studio, secondo il *Charlson Comorbidity Index*, ha mostrato uno score mediano pari a 4 (IQR 3-5) (Tabella III).

VARIABILE	
Sesso <i>n</i> (%)	
Femmine	216 (51)
Maschi	211 (49)
Età in anni <i>mediana</i> (IQR)	
	70 (63-75)
<i>Sconosciuto</i>	4
Altezza in cm <i>mediana</i> (IQR)	
	166 (160-173)
Peso in kg <i>mediana</i> (IQR)	
	70 (61-82)
Comorbidità <i>n</i> (%)	
Diabete Mellito	47 (11)
Ipertensione Arteriosa	242 (57)
BPCO	47 (11)
Pregressa Neoplasia Maligna	165 (39)
Pregresso trattamento per neoplasia maligna	
	161 (38)
<i>Sconosciuto</i>	2
Charlson Comorbidity Index <i>mediana</i> (IQR)	
	4 (3-5)
Abitudine tabagica <i>n</i> (%)	
Attuale	255 (60)
Pregressa	43 (10)
Assente	129 (30)
Abuso d'alcool	
	74 (17)
<i>Sconosciuto</i>	1

Tabella III. Caratteristiche del campione

Valutazioni preoperatorie. Alla TC pre-operatoria, in 140 casi (33%) il nodulo d'interesse ha mostrato un aspetto *GGO* e i diametri maggiori di tali noduli avevano una dimensione mediana di 21 mm (IQR 14-30); sulla base della loro stadiazione clinica si suddividono in: cT1a per 30 pazienti (7%), cT1b per 150 pazienti (35%), cT1c per 146 pazienti (34%), cT2a per 14 pazienti (14%), cT2b per 40 pazienti (9,4%). Inoltre 213 pazienti (50%), sono stati sottoposti ad una procedura di campionamento istologico preoperatorio. Altre variabili preoperatorie sono riportate in Tabella IV.

VARIABILE	
Spirometria <i>mediana (IQR)</i>	
FVC	2.96 (2.40-3.63)
<i>sconosciuto</i>	21
FVC percentuale	101 (90-113)
<i>sconosciuto</i>	19
FEV1	2.34 (1.85-2.87)
<i>sconosciuto</i>	21
FEV1 percentuale	101 (86-113)
<i>sconosciuto</i>	19
DLCO/VA	14 (6-19)
<i>sconosciuto</i>	29
DLCO/VA percentuale	78 (65-90)
<i>sconosciuto</i>	25
Stadiazione clinica <i>n(%)</i>	
cT	
cT1a	30 (7)
cT1b	150 (35)
cT1c	146 (34)
cT2a	61 (14)
cT2b	40 (9.4)
cN	
cN0	393 (92)
cN1	21 (4.9)
cN2	11 (2.6)
cN3	1 (0.2)
<i>Sconosciuto</i>	1
cM0	427 (100)
Aspetto <i>GGO n(%)</i>	140 (33)
Diametro maggiore alla TC in mm <i>mediana (IQR)</i>	21 (14-30)
Istologia pre-operatoria <i>n(%)</i>	213 (50)

Tabella IV. Valutazioni pre-operatorie

Intervento. In 378 interventi (89%), la procedura è stata svolta tramite un accesso triportale, in 34 casi (8%) si è utilizzato invece un accesso biportale, in 10 casi (2%) monoportale e in 4 procedure (0.9%) è stato eseguito l'intervento con l'ausilio del robot (daVinci® Xi). Nella totalità delle procedure è stata eseguita la linfadenectomia ilo-mediastinica e in 6 casi (1.4%) è stato necessario convertire l'approccio toracoscopico a quello toracotomico per via dell'insorgenza di complicanze (aderenze o sanguinamento).

La mediana dei linfonodi asportati durante ciascuna procedura risulta pari a 9 (IQR 7-14).

Le varie tipologie di resezioni eseguite e altre variabili intraoperatorie sono riportate nelle Tabelle rispettivamente V e VI.

Tipo di resezione eseguita n(%)

Lobectomy		Segmentectomy	
LSD	140 (33)	Sinistra	
LM	26 (6)	s1, s2 e s3	23 (5)
LID	56 (13)	s4 e s5	11 (2.5)
LSS	72 (17)	s6	15 (3.5)
LIS	47 (11)	s8, s9 e s10	5 (1)
		s1 e s2	5 (1)
		s7 e s8	1 (0.2)
		Destra	
		s1 e/o s2	13 (3)
		s3	4(0.9)
		s6	4 (0.9)
		s8 e s9	1 (0.2)
		s9 e s10	1 (0.2)
		Sconosciuto	1

Tabella V. Tipo di resezioni eseguite (LSD=lobo superiore destro, LM=lobo medio, LID=lobo inferiore destro, LSS=lobo superiore sinistro, LIS=lobo inferiore sinistro, s=segmento).

VARIABILE

Tipo di accesso <i>n</i>(%)	
VATS uniportale	10 (2.3)
VATS biportale	34 (8)
VATS triportale	378 (89)
Robot	4 (0.9)
<i>Sconosciuto</i>	1
Aderenze <i>n</i>(%)	
	113 (27)
Conversione <i>n</i>(%)	
	6 (1.4)
Motivo di conversione <i>n</i>(%)	
Aderenze indissociabili	2 (0.5)
Sanguinamento minore (vasi minori)	2 (0.5)
Sanguinamento maggiore (vasi maggiori)	1 (0.2)
<i>Sconosciuto</i>	2
Durata intervento in minuti <i>mediana</i> (<i>IQR</i>)	
	120 (90-150)
Linfoadenectomia ilo-mediastinica <i>n</i>(%)	
	426 (100)
Linfonodi asportati <i>mediana</i> (<i>IQR</i>)	
	9 (7-14)
Linfonodi N1	3 (3-7)
Linfonodi N2	5 (3-7)
<i>Sconosciuto</i>	3

Tabella VI. Variabili intraoperatorie.

Anatomia patologica. All'esame istologico il pattern di crescita più rappresentato è stato quello acinare, riscontrato in 314 casi (74%), a seguire il lepidico e il solido in 45 casi (11%) ciascuno, il papillare in 13 casi (3.1%) e il mucinoso in 4 casi (0.9%).

La maggior parte dei reperti ha rivelato un grading G2, presente in 293 casi (70%). 108 casi erano invece G3 (26%) e i rimanenti 18 (4%) G1. La STAS (*Spread Through Air Spaces*) è stata identificata in 182 casi (43%), in prevalenza di tipo limitato (n=165, 39%).

L'invasione microscopica della pleura è stata rilevata in 242 analisi istologiche (60.6%); l'invasione vascolare invece in 104 casi (25%) e l'invasione perineurale in 8 casi (2.5%).

Dal punto di vista immunohistochimico la percentuale di espressione di MIB1 si distribuisce nella popolazione di riferimento con mediana pari al 20% (IQR 10-35). L'espressione di PD-L1 invece è risultata significativa (superiore all'1% delle cellule osservate) in 168 pazienti (39%).

Considerando le alterazioni molecolari oggetto dello studio, è stato osservato quanto riportato in Tabella VII:

ALTERAZIONE n(%)	
EGFRmut	98 (23)
Mutazione esone 18	8 (2)
Mutazione esone 19	49 (12)
Mutazione esone 20	6 (1.5)
Mutazione esone 21	34 (8.7)
Mutazione esoni 19 e 21	1 (0.3)
ALK+	24 (6.5)
ROS1+	31 (9.6)
PD-L1 \geq 1%	168 (39)

Tabella VII. Alterazioni molecolari riscontrate nelle neoplasie

Altre caratteristiche istopatologiche e immunoistochimiche sono riportate in Tabella VIII.

Pattern di crescita n(%)		Infiltrato linfomonocitario n(%)	
Papillare	13 (3.1)	<10%	177 (42)
Acinare	314 (74)	11-30%	180 (43)
Lepidico	45 (11)	>30%	64 (15)
Solido	45 (11)	<i>Sconosciuto</i>	6
Mucinoso	4 (0.9)		
<i>Sconosciuto</i>	6		
Grado n(%)		Fibrosi n(%)	
G1	18 (4)	<10%	199 (50)
G2	293 (70)	11-30%	120 (30)
G3	108 (26)	>30%	78 (20)
<i>Sconosciuto</i>	8	<i>Sconosciuto</i>	30
STAS n(%)		Invasione microscopica della pleura n(%)	
Assente	240 (57)	PL0	158 (40)
Limitata	165 (39)	PL1	216 (54)
Diffusa	15 (3.6)	PL2	26 (6.5)
<i>Sconosciuto</i>	7	<i>Sconosciuto</i>	27
Necrosi n(%)		Invasione vascolare n(%)	
<10 %	350 (83)	Assente	318 (74)
11-30 %	47 (11)	Presente	104 (25)
>30 %	23 (5.5)	<i>Sconosciuto</i>	5
<i>Sconosciuto</i>	7		
Mitosi n(%)		Invasione perineurale n(%)	
0-1/10 HPF	141 (48)	Assente	419 (97.5)
2-4/10 HPF	104 (36)	Presente	8 (2.5)
>4/10 HPF	46 (16)		
<i>Sconosciuto</i>	136		
MIB1 mediana (IQR)	20 (10-35)	Margine di resezione in mm mediana (IQR)	20 (14-37)
<i>Sconosciuto</i>	40	<i>Sconosciuto</i>	42

Tabella VIII. Variabili istopatologiche ed immunoistochimiche delle neoplasie riscontrate.

Sulla base dei referti istologici del pezzo operatorio, la stadiazione patologica è risultata essere come in Tabella IX e X:

STADIAZIONE PATOLOGICA *n*(%)

pT	
pT1a	56 (13)
pT1b	116 (27)
pT1c	33 (7.8)
pT2a	191 (45)
pT2b	19 (4.5)
Altro	10 (2.4)
<i>Sconosciuto</i>	2
pN	
pN0	381 (89)
pN1	23 (5.4)
pN2	22 (5.2)
<i>Sconosciuto</i>	1
pM	
pM0	426
<i>Sconosciuto</i>	1
N upstaging	30 (7.1)

Tabella IX. Stadiazione patologica dei parametri T, N e M.

STADIO TNM *n*(%)

IA1	63 (15)
IA2	86 (20)
IA3	24 (5.6)
IB	184 (43)
IIA	18 (4.2)
IIB	28 (6.6)
IIIA	20 (4.7)
IIIB	2 (0.5)
<i>Sconosciuto</i>	2

Tabella X. Stadio secondo l'VIII versione del sistema TNM.

Terapia adiuvante. 58 pazienti (13.6%) sono stati sottoposti a trattamento adiuvante in seguito all'intervento chirurgico: 10 pazienti (2.3%) sono stati sottoposti a radioterapia, 33 pazienti (7.7%) sono stati sottoposti a chemioterapia, 3 pazienti (0.7%) sono stati sottoposti ad immunoterapia e 12 pazienti (3.0%) sono stati sottoposti a target therapy. Maggiori dettagli circa i protocolli terapeutici sono riportati nelle Tabelle XI e XII.

Dei pazienti sottoposti a chemioterapia, 25 (5.8%) hanno completato tutti e 4 i cicli di chemioterapia adiuvante, mentre 8 (1.6%) di essi hanno svolto un numero minore di cicli per decesso o per chemiotossicità (Tabella XIV).

NUMERO CICLI CHEMIOTERAPIA CONVENZIONALE n(%)

1	1 (3)
2	2 (6)
3	5 (15)
4	22 (66)
5	1 (3)
6	1 (3)
<i>Sconosciuto</i>	1

Tabella XI. Numero di cicli di chemioterapia eseguiti.

Tra i pazienti sottoposti ad immunoterapia, un paziente (0.2%) è stato trattato con nivolumab, un altro (0.2%) con pembrolizumab e per un paziente dei tre non è stato invece possibile reperire il nome del farmaco.

Tra i pazienti che hanno ricevuto target therapy, un paziente (0.2%) ha assunto il gefitinib (50 mg/die per 28 giorni) e 11 pazienti (2.2%) l'osimertinib (80 mg/die).

I numeri dei pazienti che hanno sviluppato recidiva e/o sono deceduti suddivisi in base al tipo di terapia adiuvante a cui sono stati sottoposti sono riportati in Tabella XII.

TRATTAMENTO ADIUVANTE	PAZIENTI TRATTATI <i>n</i> (%)	PAZIENTI CON RECIDIVA <i>n</i>	PAZIENTI DECEDUTI <i>n</i>	OS <i>mediana</i>
Chemioterapia				
cisplatino + gemcitabina	15 (3.5)	9	2	43
cisplatino + vinorelbina	4 (0.9)	2	0	42
carboplatino + gemcitabina	3 (0.7)	2	2	25
carboplatino + vinorelbina	2 (0.4)	1	0	39
carboplatino + pemetrexed	3 (0.7)	3	1	13
<i>sconosciuto</i>	6	2	0	34
Radioterapia				
20 Gy	1 (0.2)	1	1	5
54 Gy	6 (1.4)	4	2	58
60 Gy	1 (0.2)	1	0	68
<i>sconosciuto</i>	2	2	0	24
Immunoterapia				
nivolumab	1 (0.2)	0	1	25
pembrolizumab	1 (0.2)	1	-	-
<i>sconosciuto</i>	1	1	1	29
Target therapy				
Gifitinib (50 mg/die per 28 gg)	1 (0.2)	1	1	18
Osimertinib (80 mg/die)	11 (2.6)	4	2	38

Tabella XII. Numero di pazienti che hanno sviluppato recidiva e/o deceduti sulla base del trattamento adiuvante a cui sono stati sottoposti.

Dei pazienti sottoposti a terapia adiuvante, 32 di essi (78%) non hanno mostrato evidenza di malattia al controllo clinico e strumentale post-trattamento; 8 di essi (20%) hanno mostrato una progressione della malattia e in un caso (2.4%) si è osservata invece stabilità di malattia.

Tra i pazienti che hanno interrotto il trattamento adiuvante per tossicità, un paziente (2.4%) ha interrotto l'osimertinib per via dell'insorgenza di tromboembolia polmonare, un paziente (2.4%) ha interrotto l'osimertinib per via di uno scompenso ascitico associato ad ematemesi e un paziente (2.4%) ha interrotto il trattamento con cisplatino e vinorelbina per l'insorgenza di neutropenia.

(Tabella XIII).

RISPOSTA ALLA TERAPIA ADIUVANTE n(%)

Non evidenza di malattia	32 (78)
Progressione	8 (20)
Stabilità	1 (2.4)
Interruzione del trattamento per tossicità	
TEP (Osimertinib)	1 (2.4)
scompenso ascitico ed ematemesi (Osimertinib)	1 (2.4)
neutropenia (cisplatino + vinorelbina)	1 (2.4)
<i>Sconosciuto</i>	14

Tabella XIII. Risposta clinica e strumentale alla terapia adiuvante.

Recidive di malattia. Durante il follow up clinico-strumentale a cui sono stati sottoposti i pazienti del campione in analisi, sono stati riscontrati 83 casi (19%) di recidiva, di cui 36 (8.4%) al polmone, 5 (1.1%) alla pleura e 4 (0.09%) a livello encefalico. Altre localizzazioni meno frequenti sono riportate in Tabella XIV.

RECIDIVE n

Pazienti con recidiva	83 (19%)
<i>Sconosciuto</i>	9
Localizzazione recidiva	
Polmone	36
Pleura	5
Linfonodi omolaterali	8
Linfonodi controlaterali	3
Mediastino	2
Encefalo	4
Ossa	1
Fegato	1
Cute	1
Polmone e osso	1
Polmone e diaframma	1
Osso e encefalo	1
<i>Sconosciuto</i>	19

Tabella XIV. Numero delle recidive e localizzazione.

Di questi pazienti che hanno sviluppato recidiva, 55 hanno ricevuto una terapia locoregionale e/o sistemica: 14 pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico, 11 pazienti hanno ricevuto una terapia chemioterapica, 6 pazienti sono stati sottoposti a radioterapia, 4 pazienti a immunoterapia, 5 a target therapy e 15 a

terapie di combinazione. I farmaci utilizzati e la composizione delle terapie combinate sono riportati in Tabella XV. La risposta clinico-strumentale al trattamento della recidiva è riportata in Tabella XVI.

TERAPIA DELLA RECIDIVA n(%)	
Chirurgia	14 (30%)
Chemioterapia	
Carboplatino + pemetrexed	4
Carboplatino + paclitaxel	2
Carboplatino + gemcitabina	1
Paclitaxel	1
Vinorelbina	2
Sconosciuto	1
Radioterapia	6 (1.4%)
Immunoterapia	4 (0.9%)
Durvalumab	1
Sconosciuto	3
Target Therapy	5 (1.1%)
Osimertinib	4
Alectinib	1
Combinazioni	15 (3.5%)
Chirurgia + pemetrexed + Pembrolizumab	1
Chirurgia + radioterapia	2
Chirurgia + osimertinib	2
Radioterapia + osimertinib	3
Radioterapia + carboplatino + pemetrexed	1
Radioterapia + carboplatino + paclitaxel	1
Carboplatino + pemetrexed + Pembrolizumab	1
Sconosciuto	4

Tabella XV. Approcci terapeutici utilizzati nelle recidive.

RISPOSTA ALLA TERAPIA DELLA RECIDIVA n(%)	
Non evidenza di malattia	20 (24%)
Progressione	23 (28%)
Stabilità	5 (6%)
Sconosciuto	8 (9.6%)

Tabella XVI. Risposta clinico-strumentale alla terapia delle recidive

Outcome oncologici

Dall'analisi con metodo *Kaplan-Meier* dei dati raccolti, l'OS per l'intera popolazione è risultata essere del 96% a 12 mesi, dell'89% a 36 mesi e dell'84% a 60 mesi (Figura 14).

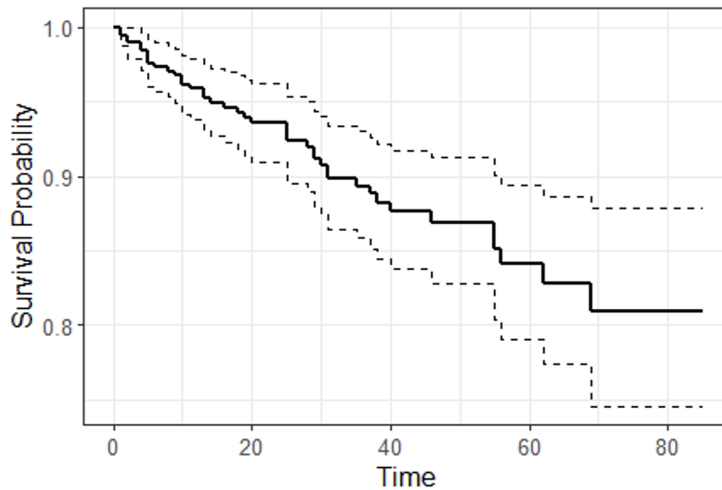


Figura 14. Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier per la popolazione in studio.

Suddividendo poi la popolazione sulla base della presenza o meno di almeno una alterazione molecolare tra quelle considerate, è emerso che i pazienti portatori di almeno una di esse (EGFR, ROS1, ALK o PD-L1) tendono a dimostrare una migliore sopravvivenza (HR 0.48, 95CI 0.22-1.04, $p=0.064$) sebbene l'analisi non sia risultata statisticamente significativa.

La sopravvivenza a 12, 36 e 60 mesi infatti è risultata rispettivamente 97%, 93% e 91% per le forme con alterazione, e 96%, 85% e 80% per le forme *wild-type*, con un *p-value* pari a 0.059 (Figura 15).

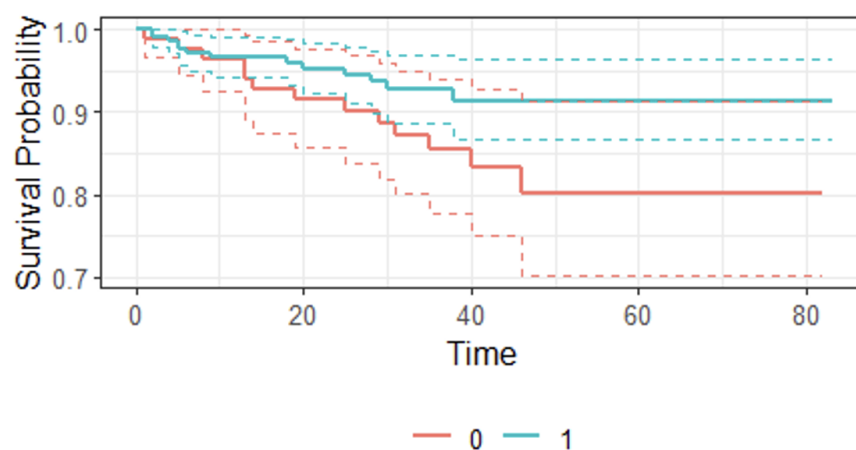


Figura 15. Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier. Linea azzurra: gruppo di pazienti con almeno una alterazione; Linea rossa: gruppo di pazienti senza alcuna alterazione.

Per quanto riguarda la ricorrenza di malattia, il *Gray's Test* mostra come i pazienti con almeno una alterazione notevole abbiano un'incidenza cumulativa di ricorrenza di malattia a 12, 36 e 60 mesi rispettivamente di 6.4%, 17% e del 29%. Per contro, pazienti *wild-type* presentano un'incidenza cumulativa di ricorrenza del 7.3% a 12 mesi, del 26% a 36 mesi e del 34% a 60 mesi (Figura 16).

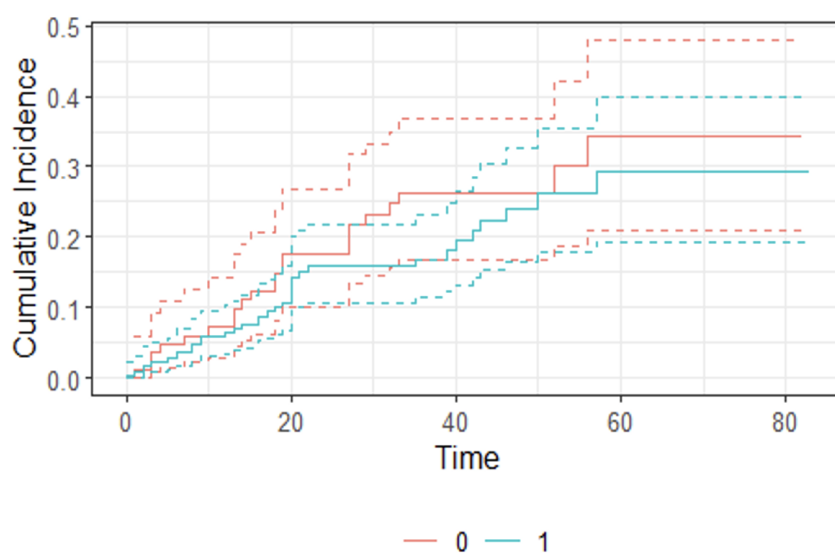


Figura 16. Curva dell'incidenza cumulativa di ricorrenza di malattia. Linea azzurra: gruppo di pazienti con almeno una alterazione; Linea rossa: gruppo di pazienti senza alcuna alterazione.

Per quanto riguarda le alterazioni di EGFR, la ridotta numerosità dei pazienti con EGFR mutato non avrebbe permesso di condurre un'analisi di sopravvivenza mantenendo la distinzione tra le 4 mutazioni ricercate negli esami istologici, di conseguenza la popolazione in studio è stata suddivisa in base ad EGFR mutato o EGFR *wild-type*. La curva *Kaplan-Meier* mette in evidenza come le differenze in termini di OS tra le due popolazioni emergano a partire dai 36 mesi, in favore delle forme EGFR mutate.

In particolare, l'OS nelle forme EGFR mutate risulta del 96%, 91% e 91% rispettivamente a 12, 36 e 60 mesi. Nelle forme EGFR *wild-type* invece l'OS risulta 96%, 88% e 81% rispettivamente a 12, 36 e 60 mesi (Figura 17).

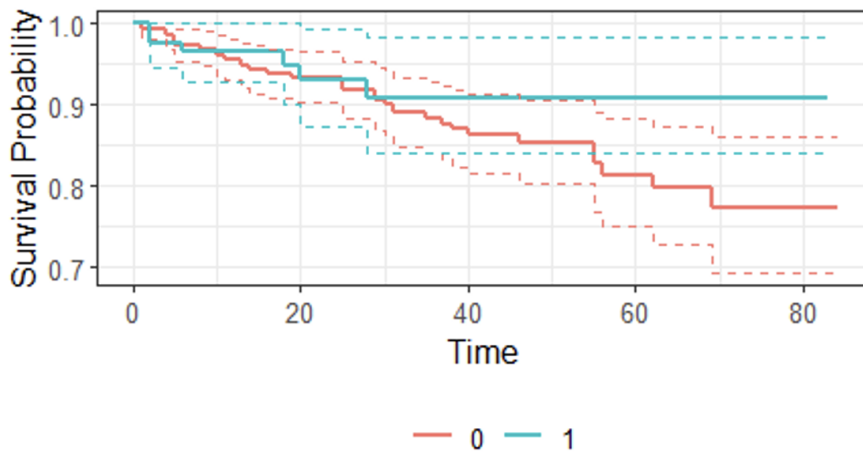


Figura 17. Curva di sopravvivenza *Kaplan-Meier*. Linea azzurra: gruppo di pazienti con EGFR mutato; linea rossa: gruppo di pazienti con EGFR *wild-type*.

L'HR valutata con il modello Cox è risultato pari a 0.63 (HR 0.63, 95CI 0.26-1.50, $p=0.3$).

I risultati dell'analisi mediante *Grey's test* dell'incidenza cumulativa di ricorrenza di malattia a 12, 36 e 60 mesi sono riportati in Figura 18 e Tabella XVII.

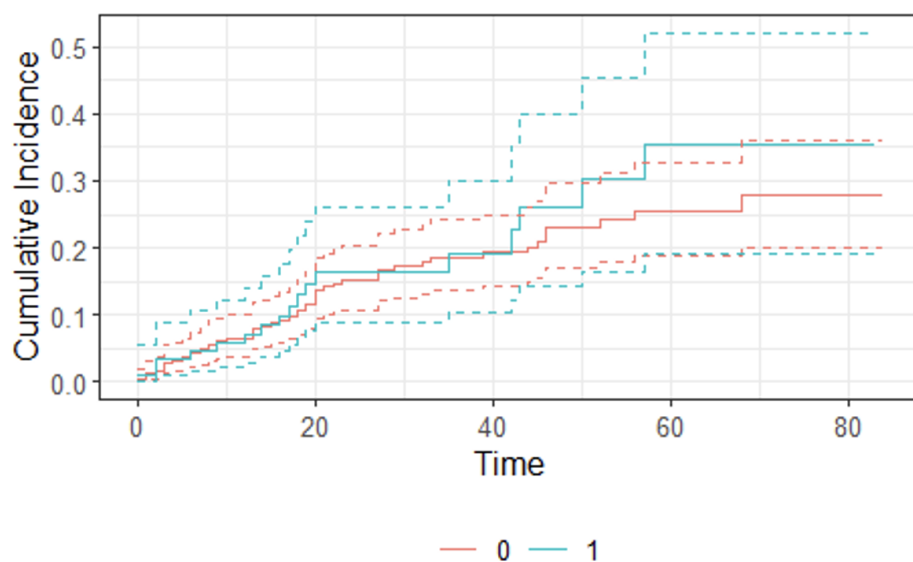


Figura 18. Curva dell'incidenza cumulativa del rischio di recidiva. Linea azzurra: gruppo di pazienti con EGFR mutato; linea rossa: gruppo di pazienti con EGFR wild-type.

ALTERAZIONE	12 mesi	36 mesi	60 mesi
EGFR			
wt	6.5% (3.9%-10%)	19% (14%-24%)	26% (19%-33%)
mut	7.1% (2.9%-14%)	19% (10%-30%)	35% (19%-52%)

Tabella XVII. Incidenze cumulative a 12, 36 e 60 mesi.

I risultati maggiormente significativi sono stati ottenuti dall'analisi della variabile "espressione di PD-L1". Essendo il livello di espressione di PD-L1 una variabile continua e non prestandosi le variabili continue ad analisi di sopravvivenza, i pazienti sono stati dicotomizzati in due gruppi sulla base dell'espressione di PD-L1 maggiore/uguale o inferiore all'1%.

La curva *Kaplan-Meier* mostra un divario tra i due gruppi già a partire dai 12 mesi, con un outcome migliore nei pazienti con espressione di PD-L1 maggiore o uguale all'1%.

In particolare: per il gruppo di pazienti con $PD-L1 \geq 1\%$ l'OS è risultata pari al 97%, 94% e 92% rispettivamente a 12, 36 e 60 mesi; per il gruppo di pazienti con $PD-L1 < 1\%$ l'OS è del 95%, 85% e 82% rispettivamente a 12, 36 e 60 mesi (Figura 19).

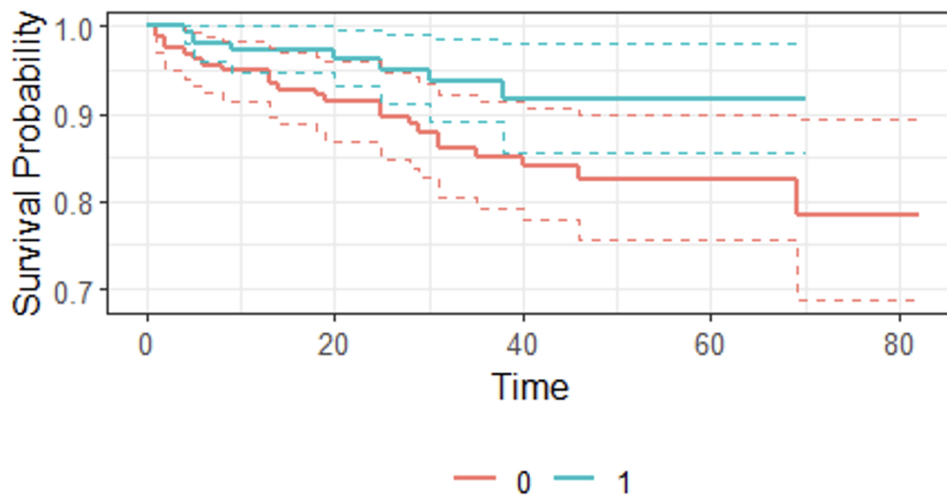


Figura 19. Curva di sopravvivenza *Kaplan-Meier*. Linea azzurra: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$; linea rossa: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $< 1\%$.

L'HR valutato con modello Cox è risultato 0.44 con un *p-value* di 0.049, raggiungendo quindi la significatività statistica (HR 0.44, 95CI 0.20-1.00, $p=0.049$).

I tassi di incidenza di ricorrenza appaiono invece più omogenei tra i due gruppi, con una maggiore discordanza a 36 mesi (Figura 20 e Tabella XVIII).

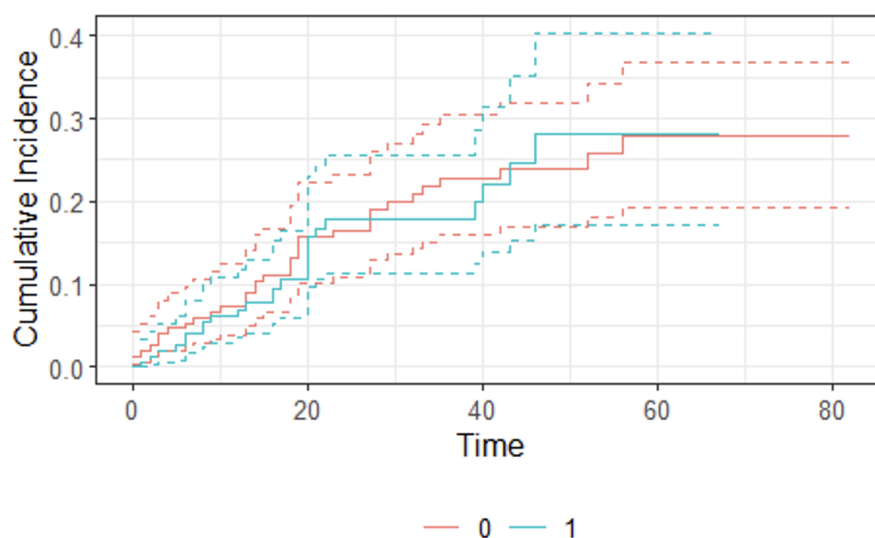


Figura 20. Curva dell'incidenza di ricorrenza di malattia. Linea azzurra: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$; Linea rossa: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $< 1\%$.

ALTERAZIONE	12 mesi	36 mesi	60 mesi
PDL1			
$\geq 1\%$	7.4% (3.9%-12%)	23% (16%-30%)	28% (19%-37%)
$< 1\%$	6.9% (3.5%-12%)	18% (11%-26%)	28% (17%-40%)

Tabella XVIII. Incidenze cumulative a 12, 36 e 60 mesi.

Per quanto riguarda i riarrangiamenti di ALK e ROS1, tutti gli eventi di interesse sono all'interno del gruppo dei pazienti senza traslocazione, mentre all'interno del gruppo dei pazienti portatori di alterazione non si riscontra nessun evento (per esempio, nessun paziente con traslocazione di ALK è deceduto). Di conseguenza, non è possibile effettuare analisi di sopravvivenza per i pazienti portatori di tali riarrangiamenti.

Sono inoltre state eseguite le analisi di sopravvivenza e di ricorrenza escludendo i dati relativi a pazienti con stadiazione patologica superiore al IIB e ai pazienti che sono stati sottoposti a qualsiasi tipologia di trattamento adiuvante. I 370 pazienti rimanenti mostrano un'OS del 96% a 12 mesi, del 92% a 36 mesi e dell'86% a 60 mesi (Figura 21), leggermente più alta di quanto osservato in tutta la popolazione oggetto di studio.

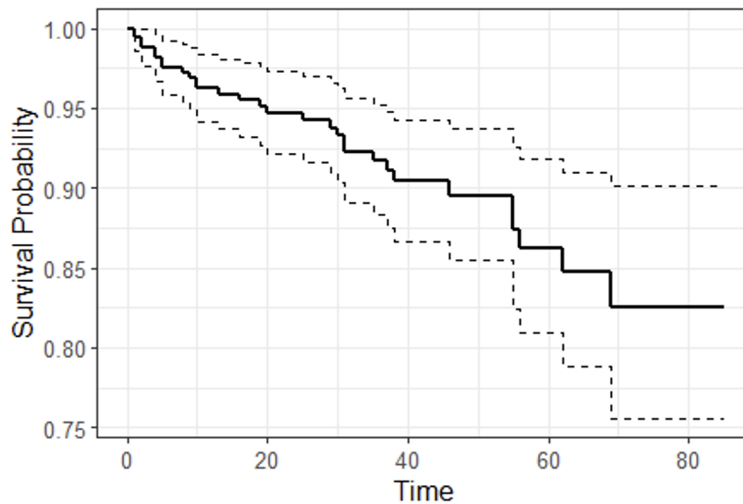


Figura 21. Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier per la popolazione in studio, escludendo gli stadi patologici superiori al IIB e i pazienti sottoposti a terapie adiuvanti.

L'OS stratificata per alterazione molecolare notevole (Figura 22 e tabella XIX) mostra delle differenze più consistenti rispetto a quelle riportate per l'intera popolazione e l'HR valutato con modello di Cox risulta dello 0.40 (HR 0.40, 95CI 0.15-1.05, $p=0.062$).

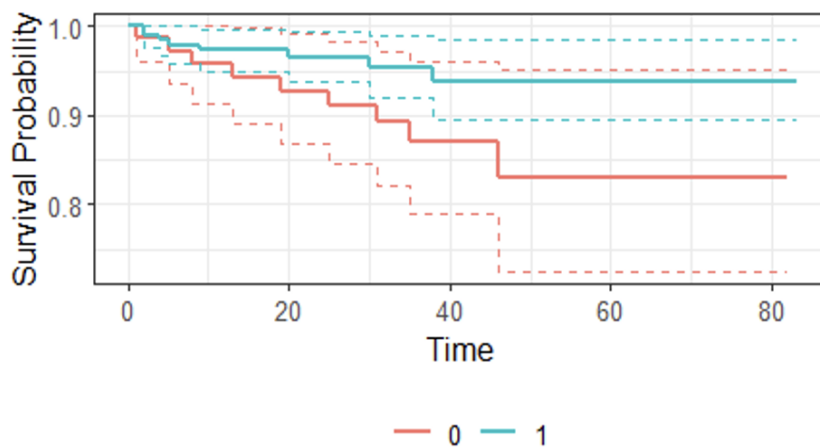


Figura 22. Curva di sopravvivenza Kamplan-Meier. Linea azzurra: gruppo di pazienti con almeno una alterazione; Linea rossa: gruppo di pazienti senza alcuna alterazione.

ALTERAZIONE	12 mesi	36 mesi	60 mesi
Alterazione notevole			
Assente	96% (91%-100%)	87% (79%-96%)	83% (72%-95%)
Presente	97% (95%-100%)	95% (92%-99%)	94% (89%-99%)

Tabella XIX. Tassi di sopravvivenza a 12, 36 e 60 mesi.

I risultati del Grey's test mostrano dei tassi di incidenza di ricorrenza del 3.5%, 11% e 18% rispettivamente a 12, 36 e 60 mesi per i pazienti portatori di almeno una alterazione molecolare considerata e dei tassi del 4.4%, 17% e 22% per i non portatori di tali alterazioni (figura 23).

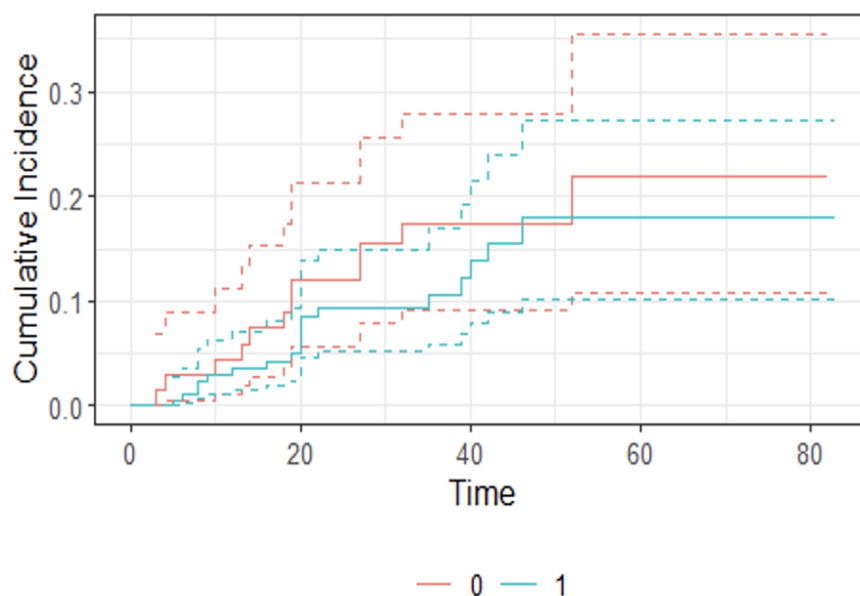


Figura 23. Curva dell'incidenza cumulativa di ricorrenza di malattia. Linea azzurra: gruppo di pazienti con almeno una alterazione; Linea rossa: gruppo di pazienti senza alcuna alterazione.

Stratificando invece l'OS per la mutazione di EGFR, si ottengono sopravvivenze del 97% a 12 mesi, del 95% a 36 mesi e del 95% a 60 mesi per i pazienti con mutazione, mentre si osservano sopravvivenze del 96% a 12 mesi, del 91% a 36 mesi e dell'83% a 60 mesi per i pazienti senza mutazione (Figura 24).

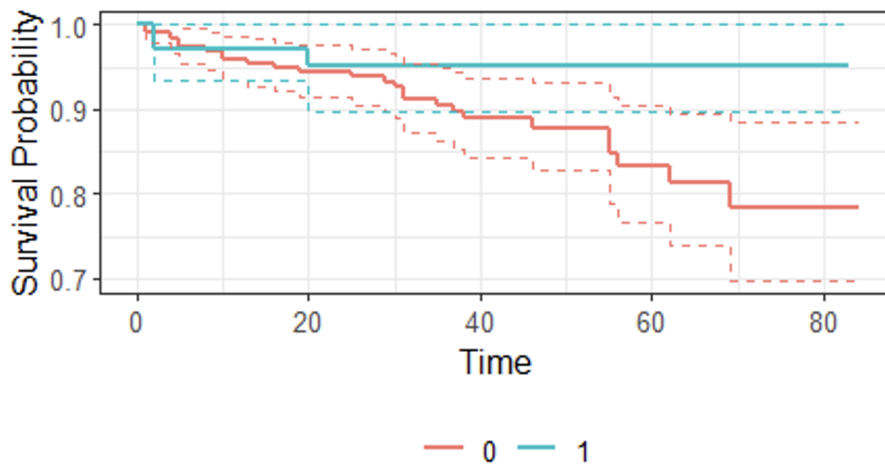


Figura 24. Curva di sopravvivenza Kamplan-Meier. Linea azzurra: gruppo di pazienti con EGFR mutato; linea rossa: gruppo di pazienti con EGFR wild-type.

I tassi di incidenza di ricorrenza risultano invece come riportato in Figura 25 e tabella XX.

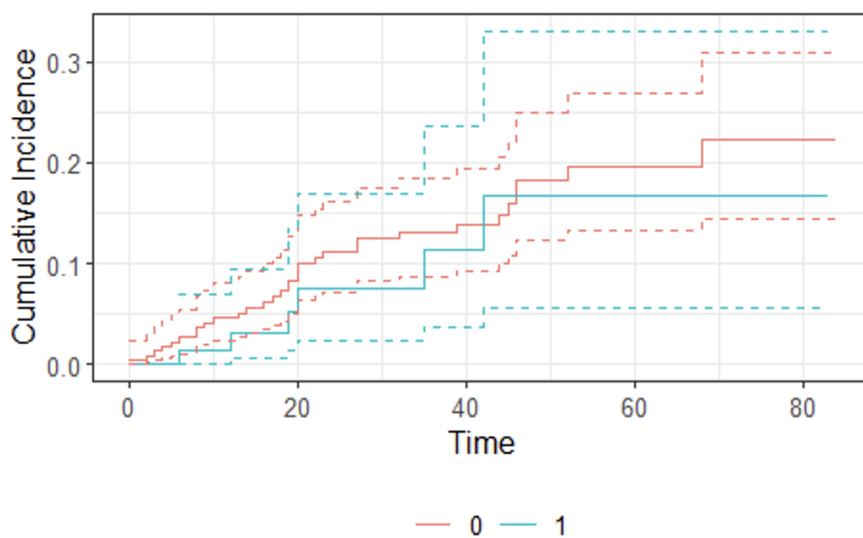


Figura 25. Curva dell'incidenza cumulativa del rischio di recidiva. Linea azzurra: gruppo di pazienti con EGFR mutato; linea rossa: gruppo di pazienti con EGFR wild-type.

ALTERAZIONE	12 mesi	36 mesi	60 mesi
EGFR			
wt	4.6% (2.4%-8.0%)	13% (8.7%-18%)	20% (13%-27%)
mut	3.1% (0.57%-9.6%)	11% (3.7%-24%)	17% (5.6%-33%)

Tabella XX. Incidenze cumulative a 12, 36 e 60 mesi.

EGFRmut: Outcome oncologici	Stadi I-III	Stadi I-IIB non sottoposti a terapie adiuvanti
OS		
1 anno	96% (93%-100%)	97% (93%-100%)
3 anni	91% (84%-98%)	95% (90%-100%)
5 anni	91% (84%-98%)	95% (90%-100%)
CIF		
1 anno	7.1% (2.9%-14%)	3.1% (0.57%-9.6%)
3 anni	19% (10%-30%)	11% (3.7%-24%)
5 anni	35% (19%-52%)	17% (5.6%-33%)

Tabella XXI. Confronto tra gli outcome oncologici dei pazienti EGFRmut in stadio I-III e in stadio I-IIB.

Infine, per quanto riguarda l'espressione di PD-L1, l'OS a 12, 36 e 60 mesi è rispettivamente del 98%, 95% e 93% nei pazienti con espressione maggiore/uguale all'1% e del 95%, 89% e 87% nei pazienti con espressione inferiore all'1% (Figura 2).

L'HR è risultato pari a 0.49 con un p-value dello 0.15 (HR 0.49, 95CI 0.19-1.29, p=0.15).

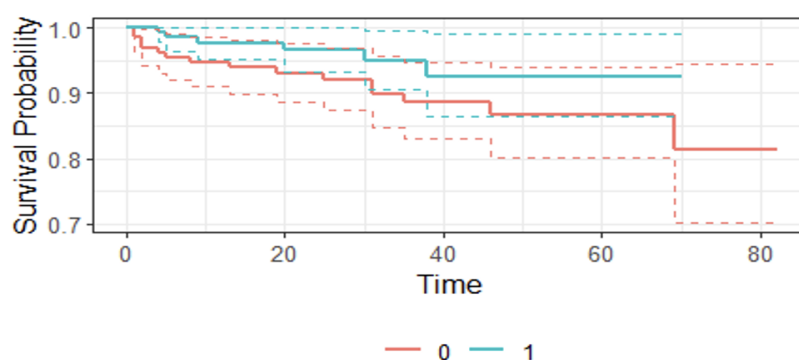


Figura 25. Curva di sopravvivenza Kaplan-Meier. Linea azzurra: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$; linea rossa: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $< 1\%$.

Per quanto riguarda la ricorrenza di malattia, il *Gray's Test* mostra come i pazienti con PD-L1 \geq 1% abbiano un'incidenza cumulativa di ricorrenza di malattia a 12, 36 e 60 mesi rispettivamente di 4.9%, 12% e del 22%. Per contro, pazienti con PD-L1<1% presentano un'incidenza cumulativa di ricorrenza del 4.0% a 12 mesi, del 15% a 36 mesi e del 19% a 60 mesi (Figura 21).

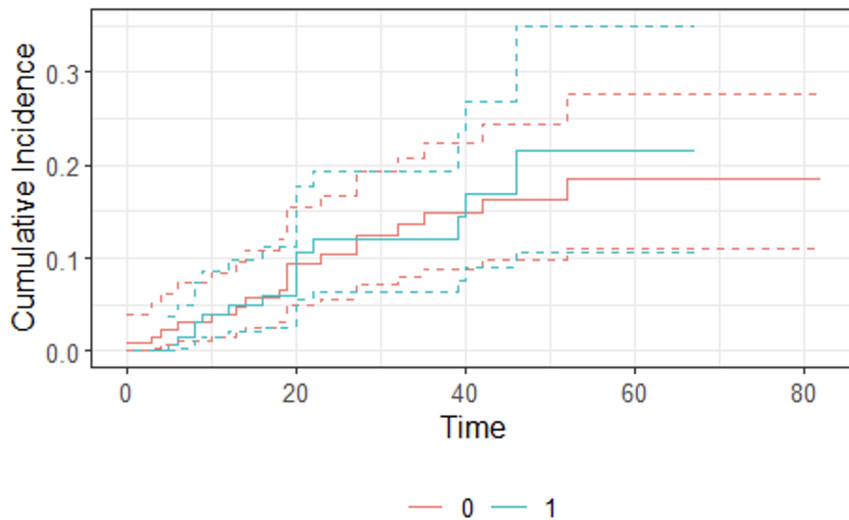


Figura 21. Curva dell'incidenza di ricorrenza di malattia. Linea azzurra: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1 \geq 1%; Linea rossa: gruppo di pazienti con espressione di PD-L1<1%.

	PD-L1 \geq 1%: Outcome oncologici	Stadi I-III	Stadi I-IIB non sottoposti a terapie adiuvanti
OS			
	1 anno	97% (95%-100%)	98% (91%-99%)
	3 anni	94% (89%-99%)	95% (91%-100%)
	5 anni	92% (86%-98%)	93% (87%-99%)
CIF			
	1 anno	6.9% (3.5%-12%)	4.9% (2.0%-9.8%)
	3 anni	18% (11%-26%)	12% (6.4%-19%)
	5 anni	28% (17%-40%)	22% (11%-35%)

Tabella XXII. Confronto tra gli outcome oncologici dei pazienti con PD-L1 \geq 1% in stadio I-III e in stadio I-IIB.

DISCUSSIONE

Il tumore del polmone continua ad essere un *silent killer* di estrema rilevanza in quanto prima causa di morte per patologia oncologica nel mondo. L'adenocarcinoma (ADC) rappresenta una quota rilevante delle neoplasie non a piccole cellule del polmone (circa il 40%) (31). La sopravvivenza a 5 anni negli ADC si attesta oggi al 79% nello stadio I, al 50% nello stadio II, al 27% nello stadio III e al 6% nello stadio IV (151). La notevole differenza di aspettativa di vita tra i primi stadi e gli avanzati (dal 79% al 6%) rende quanto mai attuale la ricerca oncologica in questo campo. Infatti, nonostante la resezione chirurgica rimanga il *gold standard* nel trattamento del NSCLC in stadio iniziale, il concetto di trattamento multimodale della malattia e la discussione nei gruppi oncologici multidisciplinari ha permesso negli ultimi anni un incremento delle opzioni terapeutiche disponibili nei pazienti affetti da neoplasia polmonare.

In tal senso, l'introduzione della *target therapy* e dell'immunoterapia rappresentano due novità di assoluta rilevanza. Le alterazioni della genetica del cancro infatti si sono dimostrate delle *pathways* oncologiche targettabili che hanno consentito di migliorare la ricorrenza e la sopravvivenza di questi pazienti. Inizialmente il ruolo di queste terapie è stato discusso in forme avanzate e localmente avanzate in grandi *trial* che hanno dimostrato l'efficacia della terapia mirata in NSCLC in termini di sopravvivenza e ricorrenza, nonché tossicità e tollerabilità del farmaco.

Nel corso degli ultimi anni tuttavia il paradigma di trattamento è in costante evoluzione: se infatti fino a pochi anni fa la resezione polmonare (lobectomia e più di recente la non inferiore segmentectomia) rimaneva un indiscutibile *upfront treatment*, di recente si sono affacciati nel panorama oncologico anche dei *trials* e delle RCTs di trattamento combinato che promettono di cambiare ancora la gestione di questa neoplasia. La ricerca routinaria di mutazioni genetiche mediante le tecniche di NGS e di marcatori immunoistochimici ha portato alla nascita di una nuova direttrice di ricerca scientifica nei tumori *early stages* che mira a documentare se queste alterazioni abbiano un qualche ruolo nella sopravvivenza o nella ricorrenza della malattia considerando negli studi stadi di malattia sempre più precoce.

In tal senso, questo studio vuole apportare un contributo nel dirimere il ruolo di queste mutazioni nelle forme tumorali di ADC iniziale e candidati a resezione

chirurgica potenzialmente radicale alla valutazione cTNM e con stadiazione patologica da IA fino al IIIB. Gli studi attualmente disponibili su questo argomento abbracciano infatti uno *staging* patologico includendo anche la malattia localmente avanzata (IIB - IIIA). Nel discutere i risultati del presente studio, è mandatorio ricordare che la differenza di stadio di malattia tra diverse esperienze potrebbe giocare un ruolo di confondente nel confronto tra outcomes in letteratura.

Caratteristiche del campione

Nel nostro campione, l'adenocarcinoma polmonare si conferma essere una neoplasia che colpisce generalmente una popolazione adulta-anziana (età mediana 70 anni) con una lieve prevalenza femminile (51%) in linea con altri studi (150,152–154)

Il 70% dei pazienti del nostro campione riporta in anamnesi una storia attuale o pregressa di abitudine tabagica, riconosciuta tra i principali fattori di rischio per il carcinoma polmonare, ma solitamente associata più strettamente all'istotipo squamoso piuttosto che all'adenocarcinoma (7,151).

Solamente 45 pazienti del nostro campione (circa il 10%) sono stati caratterizzati da un pN pari a N1, N2 o N3 mentre il restante 90% è stato sottoposto ad una resezione di tipo R0 senza coinvolgimento linfonodale (pN0). Questo è importante da considerare nei seguenti confronti con le altre esperienze in letteratura.

Nel nostro studio sono state analizzate nel pannello mutazionale le alterazioni di EGFR, ALK e ROS1 ed è stata valutata l'espressione immunoistochimica di PD-L1. La scarsa percentuale dei riarrangiamenti di ALK e ROS1 non ha permesso la costruzione di un adeguato modello di ricorrenza e sopravvivenza, motivo per cui non sono state incluse nelle analisi statistiche e non vengono discusse.

Invece, 98 pazienti (23%) hanno mostrato una mutazione in EGFR (in un caso la mutazione era doppia, sugli esoni 19 e 21), in linea con la letteratura esistente, che le attesta a circa il 15% dei pazienti caucasici affetti da adenocarcinoma (40) e più in generale nel 20% dei pazienti affetti da NSCLC (155).

Chow et al. (154) riportano invece percentuali più elevate: in particolare sono state riscontrate mutazioni di EGFR nel 37% in un totale di 647 pazienti affetti da adenocarcinoma in stadi I-III. Questa differenza è probabilmente dovuta alla maggior multietnicità che contraddistingue i centri Americani rispetto al nostro. Infatti nel campione del suddetto studio i pazienti non caucasici erano 276 (43%).

Sempre *Chow et al.* hanno riscontrato 15 pazienti (2%) con mutazione dell'esone 18, 84 pazienti (13%) con mutazione dell'esone 19, 19 pazienti (4.4%) con mutazione dell'esone 20, 115 pazienti (18%) con mutazione dell'esone 21 e 5 pazienti (1.2%) con mutazioni più rare che non sono state specificate nello studio. Nella nostra esperienza abbiamo rilevato 8 pazienti (2%) con mutazione dell'esone 18, 49 pazienti (12%) con alterazioni dell'esone 19, 6 pazienti (1.5%) con mutazione dell'esone 20, 34 pazienti (8.7%) con mutazione dell'esone 21 e un paziente (0.3%) con mutazione combinata degli esoni 19 e 21.

Nel complesso, la sopravvivenza ottenuta a 1, 3 e 5 anni risulta rispettivamente del 96%, 89% e 84%. Il dato ottenuto è simile a quanto presente in letteratura per lo stadio I di adenocarcinoma polmonare (151,156). Il nostro studio non prevedeva l'analisi della sopravvivenza stratificata per stadio, ma lo stadio maggiormente diagnosticato (83.6%) è risultato tuttavia lo stadio I. Si tratta quindi di un dato concorde ad esperienze già esistenti.

Ruolo prognostico di EGFR. Per quanto riguarda le mutazioni di EGFR, nel nostro campione queste non sembrano avere ruolo determinante nell'OS né considerando gli stadi da I a III (HR 0.63, 95CI 0.26-1.50, $p=0.3$), né considerando gli stadi da I a IIB ed escludendo i pazienti sottoposti a terapie adiuvanti. Nonostante infatti l'OS si sia dimostrata superiore nei pazienti mutati in entrambe le sottopopolazioni (I-III e I-IIB senza terapie adiuvanti), non è mai stata raggiunta una tendenza alla significatività (si intenda con tendenza una $p<0.1$).

In termini di DFS invece i nostri pazienti affetti da malattia in stadio I-III con mutazione di EGFR hanno mostrato un'incidenza cumulativa di ricorrenza superiore del 9% a 5 anni rispetto al gruppo EGFR *wild-type*, comportamento non confermato negli stadi I-IIB non sottoposti a terapie adiuvanti.

In letteratura vi sono altre esperienze, simili alla nostra, in cui non è emerso in maniera significativa un ruolo prognostico delle mutazioni di EGFR quando valutate in analisi univariate (63,154,157–159).

Tra queste esperienze, *Ito et al.* (157,158) hanno riscontrato in due di esse un aumentato rischio di recidiva dei pazienti EGFRmut solo se lo stato mutazionale veniva considerato in combinazione con lo stadio patologico e il sottotipo istologico (in particolare il solido ed il micropapillare), raccomandando quindi una valutazione integrata nella pratica clinica.

In altri lavori su pazienti affetti da adenocarcinoma in stadio precoce invece è emerso un ruolo protettivo delle mutazioni di EGFR in termini di OS e DFS, rispettivamente nelle pubblicazioni di *Aokage et al.* (160) e *Yotsokura et al.* (152). Tali differenze potrebbero essere imputabili al maggior numero di pazienti sottoposti a terapie adiuvanti che sono stati inclusi nei campioni di tali studi rispetto al nostro.

In una metanalisi del 2020 *Suda et al.* (153) hanno invece descritto un chiaro ruolo prognostico positivo delle mutazioni di EGFR sia in termini di DFS (HR, 0.894, 95CI 0.814-0.980, $p=0.017$) che di OS (HR, 0.729, 95CI 0.642- 0.829; $p<0.001$). Bisogna però sottolineare che i criteri di inclusione non si limitavano agli adenocarcinomi polmonari ma includevano anche altri istotipi, nonché alcuni pazienti in stadio IV che sono stati sottoposti a chirurgia e questo potrebbe aver modificato il peso complessivo delle mutazioni di EGFR.

Anche *Saw et al.* (161) hanno riscontrato un ruolo protettivo in termini di OS delle mutazioni di EGFR in stadio precoce, seppur considerando pazienti affetti da NSCLC e non specificatamente da adenocarcinoma. Maggiori dettagli e confronti con le esperienze di letteratura sono riportati in Tabella XXIII.

Autore	Anno	Numero pazienti	Neoplasia	Stadio	Alterazione	Follow up mediano	OS	HR per OS	DFS	HR per DFS
<i>Chow et al. (154)</i>	2022	593	ADC	I-III	EGFRmut	25 mesi	IA: 91% a 3 anni (p=0.84) IB-III: 91% a 3 anni (p=0.09)	-	IA: 90% a 3 anni (p=0.33) IB-III: 74% a 3 anni (p=0.33)	-
<i>Aokage et al. (160)</i>	2021	489	ADC	IA3-IIIa	EGFRmut	88.4 mesi	89.1% a 3 anni 80.6% a 5 anni	HR 0.66, 95CI 0.485-0.913, p=0.010	75.6% a 3 anni 65% a 5 anni	HR 0.836 95CI 0.634-1.101, p=0.203
<i>Galvez et al. (159)</i>	2020	282	ADC	I-III	EGFRmut	-	-	-	59% a 5 anni (p>0.99)	-
<i>Ito et al. (158)</i>	2018	394	ADC	IA1-IIa	EGFRmut	50.4 mesi	88.7% a 5 anni	HR 1.630, 95CI 0.787-3.432, p=0.2	85.7% a 5 anni	HR 1.992, 95CI 1.005-3.982, p=0.048
<i>Ito et al. (157)</i>	2020	1155	ADC	IA1-IIIa	EGFRmut	34.8 mesi	93.2% a 5 anni	-	90.8 a 5 anni	-
<i>Yotsukura et al. (152)</i>	2017	341	ADC	I-II	EGFRmut	36 mesi	99.0% a 3 anni 92.5% a 5 anni (p=0.086)	-	94.7% a 3 anni; 92.3% a 5 anni (p=0.033)	HR 0.731, 95CI 0.285-1.872, p=0.514
<i>Suda et al. (153)</i>	2020	5214	NSCLC	I-IV	EGFRmut	-	-	HR 0.729, 95CI 0.642-0.829, p<0.01	-	HR 0.894, 95CI 0.814-0.980, p=0.017
<i>He et al. (63)</i>	2019	4353	NSCLC	I-III	EGFRmut	-	-	-	-	HR 0.93, 95CI 0.74-1.17, p<0.001
<i>Saw et al. (161)</i>	2021	723	NSCLC	IA-IIIa	EGFRmut	46 mesi	95.5% a 2 anni 77.7% a 5 anni (p=0.004)	-	70.2% a 2 anni 59.3% a 5 anni (p=0.70)	-
<i>Nostra esperienza</i>	2023	427	ADC	I-III	EGFRmut	-	91% a 3 anni 91% a 5 anni (p=0.3)	HR 0.63, 95CI 0.26-1.50, p=0.3	81% a 3 anni 65% a 5 anni	-

Tabella XXIII. Outcome oncologici dei pazienti affetti da neoplasia ai primi stadi presentanti mutazioni di EGFR riportati nei principali studi disponibili in letteratura.

Ruolo prognostico di PD-L1. La prevalenza dei pazienti affetti da adenocarcinoma del polmone che overesprimono il marcatore immunoistochimico PD-L1 rimane poco chiara in letteratura, per via del fatto che il *cut-off* per considerare PD-L1 come overespresso varia da studio a studio ed è calcolato in modo differente.

Nella nostra esperienza abbiamo settato tale *cut-off* al valore di 1% riscontrando così 168 pazienti (38%) positivi.

In termini di outcome oncologici specifici per alterazione molecolare, obiettivo primario dello studio, il risultato maggiormente significativo è stato proprio ottenuto dall'analisi delle sopravvivenze stratificate sulla base dell'espressione di PD-L1.

Nella nostra esperienza un'espressione di PD-L1 superiore all'1% si è associata ad una migliore OS a 12, 36 e 60 mesi considerando gli stadi da I a III. In particolare l'HR valutato con modello di regressione di Cox è risultato statisticamente significativo per la sopravvivenza (HR 0.44, 95CI 0.20-1.00, p=0.049), suggerendo perciò un ruolo protettivo nella totalità del campione. La DFS non si è invece rivelata differente in dipendenza dell'espressione di PD-L1.

Procedendo poi all'esclusione dei pazienti con stadio superiore al IIB e di tutti i pazienti sottoposti a terapie adiuvanti (chemioterapia convenzionale, immunoterapia, radioterapia o terapia *target*) l'OS mantiene un HR protettivo nei pazienti con espressione di PD-L1 superiore all'1% senza però risultare statisticamente significativo.

È possibile che pazienti con neoplasie nelle forme iniziali, traggiate ad *upfront-surgery*, con burden radiologico di malattia in stadio iniziale possano non aver beneficiato dell'eventuale ruolo protettivo di PD-L1. Questo perché la resezione radicale, specialmente in pazienti N0 (375 pazienti, pari all'88%) potrebbe aver mascherato il ruolo di PD-L1 e quindi spiegare la perdita di significatività statistica che si osserva considerando solamente i pazienti avviati ad *upfront surgery* e osservati negli anni dopo l'intervento mediante *follow-up* radiologico.

In tal senso quindi il nostro studio sembra nuovamente confermare l'importanza della resezione chirurgica come *upfront gold standard treatment*.

La significatività potrebbe anche essere stata viziata dal calo della numerosità campionaria (da 427 pazienti in stadio IA-IIIB ed eventuale trattamento adiuvante a 370 pazienti dopo la selezione della sottopopolazione IA-IIB).

Considerando PD-L1, la letteratura presenta ancora dei dati controversi e pochi sono gli studi disponibili in tal senso. Inoltre, un gran numero di questi studi si concentrano su stadi patologici da localmente avanzati ad avanzati.

Tuminello et al. (83) ed *Azuma et al.* (162), evidenziano un ruolo prognostico negativo in termini di OS dell'espressione di PD-L1 agli stadi I-III, tuttavia i diversi criteri di selezione (NSCLC invece che adenocarcinoma) e le diverse metodiche utilizzate per quantificare l'espressione di PD-L1 potrebbero inficiare il confronto con i nostri risultati.

Nel 2020, uno studio di *Teramoto et al.* (163) ha riscontrato un significato prognostico bifasico dell'espressione di PD-L1 nelle forme localizzate e localmente avanzate di NSCLC. In particolare nello stadio I è emersa una DFS a 5 anni del 94.1% e del 75.1% rispettivamente in caso di elevata espressione di PD-L1 e di bassa espressione di quest'ultimo. Al contrario, negli stadi II e III i pazienti con elevata espressione di PD-L1 mostrano una maggior tendenza allo sviluppo di recidive. Il *cut-off* utilizzato in questo studio per discernere tra elevata e bassa espressione di PD-L1 corrisponde ad una percentuale di espressione del 50%.

Gli autori ipotizzano che negli stadi più precoci l'espressione di PD-L1 potrebbe essere indotta dall'attività antitumorale dei linfociti T che, attraverso il rilascio di interferone gamma, ne aumentano trascrizione, traduzione ed esposizione sulla membrana cellulare. Ad un certo punto della storia naturale della neoplasia il ruolo immunosoppressore di PD-L1 prenderebbe però il sopravvento favorendo l'*escape* della malattia dal sistema immunitario.

Sembra quindi emergere un ruolo differente dell'espressione di PD-L1 tra forme localizzate e forme localmente avanzate di adenocarcinoma, associato inoltre ad un ruolo determinante delle terapie adiuvanti (164).

È interessante infine considerare quello che potrebbe essere il ruolo combinato di PD-L1 e EGFR negli stadi precoci: *Saw et al.* (85) hanno constatato come percentuali di espressione di PD-L1 superiori all'1% si siano associate ad outcome inferiori indipendentemente dallo stato mutazionale di EGFR, seppur non raggiungendo la significatività statistica per quanto riguarda il dato dell'OS nel gruppo di controllo (pazienti con EGFR *wild-type*). I loro risultati sono inoltre in linea con altre esperienze riportate in letteratura (83,165).

Lo studio del ruolo combinato di queste due variabili potrebbe quindi divenire una valida linea di ricerca per esperienze future.

Autore	Anno	Numero pazienti	Neoplasia	Stadio	Alterazione	Follow up mediano	OS	HR per OS	DFS	HR per DFS
<i>Teramoto et al. (163)</i>	2020	228	NSCLC	I-III	High-PD-L1	53 mesi	-	-	-	HR 1.31, 95CI 0.701-1.826, p=0.614
<i>Tuminello et al. (83)</i>	2019	2439	NSCLC	I-III	High-PD-L1	-	-	HR 1.79, 95CI 1.09-2.93, p<0.05	-	-
<i>Azuma et al. (162)</i>	2014	164	NSCLC	I-III	High-PD-L1	55.6 mesi	55.9 mesi (p=0.039)	HR 1.602, 95CI 1.078-2.380, p=0.039	-	-
<i>Nostra esperienza</i>	2023	427	ADC	I-III	PD-L1≥1%	-	94% a 3 anni 92% a 5 anni p=0.043	HR 0.44, 95CI 0.20-1.00, p=0.049	82% a 3 anni 72% a 5 anni	-

Tabella XXV. Outcome oncologici dei pazienti affetti da neoplasia ai primi stadi presentanti espressione di PD-L1 riportati nei principali studi disponibili in letteratura

LIMITI DELLO STUDIO

Dobbiamo sottolineare alcuni limiti di questo studio: innanzitutto la sua natura retrospettiva rende necessaria l'implementazione dell'evidenza scientifica mediante l'implementazione del campione e lo studio in campioni più ampi con i medesimi criteri di inclusione. Inoltre, la selezione di solo istologia di ADC potrebbe aver reso difficilmente comparabili gli studi di letteratura sui NSCLC per l'esclusione degli altri istotipi. Inoltre, i fattori di confondimento potrebbero aver giocato un ruolo nella analisi scientifica, mitigando o enfatizzando il ruolo degli outcomes che abbiamo descritto in questo studio.

Inoltre per la sporadicità dei riarrangiamenti di ALK e ROS1 non è stato possibile stimare un modello adeguato per la valutazione di sopravvivenza e ricorrenza. Per questo motivo, nel caso in cui queste alterazioni fossero dei cofattori legati al nostro outcome, il loro ruolo potrebbe essere stato sottostimato.

6. CONCLUSIONI

Nonostante le numerose esperienze presenti in letteratura riguardanti il ruolo delle mutazioni di EGFR e dell'espressione di PD-L1 nei pazienti affetti da NSCLC in stadio resecabile e conseguentemente trattate chirurgicamente, il nostro è uno dei primi studi che va a valutare il significato di suddette variabili negli adenocarcinomi *early stage*.

Attraverso il nostro studio monocentrico abbiamo messo in evidenza il ruolo di PD-L1, il quale è risultato protettivo in modo statisticamente significativo negli stadi I-III, nonostante non si sia associato a minori tassi di recidiva di malattia e nonostante abbia perso di significatività in seguito all'analisi condotta in una sottopopolazione del campione affetta da malattia in stadio particolarmente precoce (I-IIB) e non sottoposta a terapie adiuvanti.

Sono pertanto necessari ulteriori studi che vadano a confrontare gli outcome oncologici in pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare esprimente PD-L1 nei singoli stadi precoci, valutando inoltre la possibile interazione di questo marcatore con le terapie adiuvanti a cui tale categoria di pazienti risulta candidabile.

Per quanto riguarda le mutazioni di EGFR, queste non sembrano avere ruolo determinante nella sopravvivenza, nonostante l'OS si sia dimostrata superiore nei pazienti mutati in entrambe le sottopopolazioni (non è mai stata raggiunta la significatività statistica).

Alla luce di questo, il nostro studio, nonostante i limiti sopracitati, sembra confermare l'indicazione chirurgica resettiva a scopo terapeutico in pazienti affetti da adenocarcinoma polmonare in stadio iniziale, con l'obiettivo di raggiungere alla valutazione anatomopatologica la radicalità della resezione (R0 e pN0). Possiamo quindi supporre che le alterazioni molecolari nella malattia localizzata abbiano un ruolo non determinante in termini di sopravvivenza e ricorrenza di malattia in quanto "sovrastato" dall'effetto radicale dell'atto chirurgico.

In termini economici infine, nel contesto della stratificazione prognostica degli ADCs in forma localizzata, la profilazione molecolare estesa andrebbe limitata all'ambito della ricerca, essendo essa una metodica dispendiosa e non mostrando, stando ai risultati discussi, evidente significato in termini di outcome oncologico.

BIBLIOGRAFIA

1. AIOM e ARITUM. I numeri del cancro 2022 [Internet]. Disponibile su: https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2022/12/2022_AIOM_NDC-web.pdf
2. Cancer today [Internet]. [citato 22 aprile 2023]. Disponibile su: <http://gco.iarc.fr/today/home>
3. Visbal AL, Williams BA, Nichols FC, Marks RS, Jett JR, Aubry MC, et al. Gender differences in non-small-cell lung cancer survival: an analysis of 4,618 patients diagnosed between 1997 and 2002. *Ann Thorac Surg.* luglio 2004;78(1):209–15; discussion 215.
4. Cancer Over Time [Internet]. [citato 22 maggio 2023]. Disponibile su: <https://gco.iarc.fr/overtime>
5. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. Epidemiology of lung cancer: looking to the future. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 maggio 2005;23(14):3175–85.
6. Jha P, Ramasundarahettige C, Landsman V, Rostron B, Thun M, Anderson RN, et al. 21st-century hazards of smoking and benefits of cessation in the United States. *N Engl J Med.* 24 gennaio 2013;368(4):341–50.
7. Robbins, Contran. *Le Basi Patologiche delle Malattie.* In: 8^a ed. Edra;
8. Gharibvand L, Shavlik D, Ghamsary M, Beeson WL, Soret S, Knutsen R, et al. The Association between Ambient Fine Particulate Air Pollution and Lung Cancer Incidence: Results from the AHSMOG-2 Study. *Environ Health Perspect.* marzo 2017;125(3):378–84.
9. Raaschou-Nielsen O, Andersen ZJ, Beelen R, Samoli E, Stafoggia M, Weinmayr G, et al. Air pollution and lung cancer incidence in 17 European cohorts: prospective analyses from the European Study of Cohorts for Air Pollution Effects (ESCAPE). *Lancet Oncol.* agosto 2013;14(9):813–22.
10. Jameson, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Loscalzo. *Harrison. Principi di Medicina Interna.* In: 20^a ed. CEA;
11. Hinton J, Cerra-Franco A, Shiue K, Shea L, Aaron V, Billows G, et al. Superior vena cava syndrome in a patient with locally advanced lung cancer with good response to definitive chemoradiation: a case report. *J Med Case Reports.* 20 ottobre 2018;12(1):301.
12. Bergman PJ. Paraneoplastic Hypercalcemia. *Top Companion Anim Med.* 1 novembre 2012;27(4):156–8.
13. Shibli-Rahhal A, Van Beek M, Schlechte JA. Cushing's syndrome. *Clin Dermatol.* 1 luglio 2006;24(4):260–5.

14. Cuesta M, Thompson CJ. The syndrome of inappropriate antidiuresis (SIAD). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 1 marzo 2016;30(2):175–87.
15. Benedek TG. Paraneoplastic digital clubbing and hypertrophic osteoarthropathy. *Clin Dermatol.* 1 gennaio 1993;11(1):53–9.
16. Kesner VG, Oh SJ, Dimachkie MM, Barohn RJ. Lambert-Eaton Myasthenic Syndrome. *Neurol Clin. maggio* 2018;36(2):379–94.
17. Venkatraman A, Opal P. Paraneoplastic cerebellar degeneration with anti-Yo antibodies – a review. *Ann Clin Transl Neurol.* 2016;3(8):655–63.
18. Beckles MA, Spiro SG, Colice GL, Rudd RM. Initial Evaluation of the Patient With Lung Cancer*: Symptoms, Signs, Laboratory Tests, and Paraneoplastic Syndromes. *Chest.* 1 gennaio 2003;123(1, Supplement):97S-104S.
19. Lung Cancer Incidence and Mortality with Extended Follow-up in the National Lung Screening Trial. *J Thorac Oncol.* ottobre 2019;14(10):1732–42.
20. De Koning HJ, Van Der Aalst CM, De Jong PA, Scholten ET, Nackaerts K, Heuvelmans MA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med.* 6 febbraio 2020;382(6):503–13.
21. The National Lung Screening Trial Research Team. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N Engl J Med.* 4 agosto 2011;365(5):395–409.
22. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, Senan S, Waller DA, Vansteenkiste J, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* 1 luglio 2017;28(suppl_4):iv1–21.
23. Maconachie R, Mercer T, Navani N, McVeigh G, Guideline Committee. Lung cancer: diagnosis and management: summary of updated NICE guidance. *BMJ.* 28 marzo 2019;364:11049.
24. Almeida FA, Salam S, Mehta AC, Yuhico L, Sarda Y, Choi H, et al. Sampling Utility of the Convex Probe Endobronchial Ultrasound Visible Intrapulmonary Lesion. *J Bronchol Interv Pulmonol.* ottobre 2018;25(4):290–9.
25. Kuijvenhoven JC, Livi V, Morandi L, Cancellieri A, Annema JT, Trisolini R. The expanding role of endobronchial ultrasound in patients with centrally located intrapulmonary tumors. *Lung Cancer Amst Neth.* agosto 2019;134:194–201.
26. Korevaar DA, Colella S, Spijker R, Bossuyt PM, Konge L, Clementsen PF, et al. Esophageal Endosonography for the Diagnosis of Intrapulmonary Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Respir Int Rev Thorac Dis.* 2017;93(2):126–37.

27. Trisolini R, Natali F, Fois A. Up-to date role of interventional pulmonology in the diagnosis and staging of non-small-cell lung cancer. *Shanghai Chest* [Internet]. 31 ottobre 2017 [citato 23 aprile 2023];1(6). Disponibile su: <https://shc.amegroups.com/article/view/3933>
28. Detterbeck FC. The eighth edition TNM stage classification for lung cancer: What does it mean on main street? *J Thorac Cardiovasc Surg.* gennaio 2018;155(1):356–9.
29. Organisation mondiale de la santé, Centre international de recherche sur le cancer, curatori. *Thoracic tumours*. 5th ed. Lyon: International agency for research on cancer; 2021. (World health organization classification of tumours).
30. Rossi G, Pelosi G, Barbareschi M, Graziano P, Cavazza A, Papotti M. Subtyping Non–Small Cell Lung Cancer: Relevant Issues and Operative Recommendations for the Best Pathology Practice. *Int J Surg Pathol.* agosto 2013;21(4):326–36.
31. Kuhn E, Morbini P, Cancellieri A, Damiani S, Cavazza A, Comin CE. Adenocarcinoma classification: patterns and prognosis. *Pathologica.* marzo 2018;110(1):5–11.
32. Yotsukura M, Asamura H, Motoi N, Kashima J, Yoshida Y, Nakagawa K, et al. Long-Term Prognosis of Patients With Resected Adenocarcinoma In Situ and Minimally Invasive Adenocarcinoma of the Lung. *J Thorac Oncol.* 1 agosto 2021;16(8):1312–20.
33. Hanna NH, Robinson AG, Temin S, Baker S, Brahmer JR, Ellis PM, et al. Therapy for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer With Driver Alterations: ASCO and OH (CCO) Joint Guideline Update. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 marzo 2021;39(9):1040–91.
34. de Scordilli M, Michelotti A, Bertoli E, De Carlo E, Del Conte A, Bearz A. Targeted Therapy and Immunotherapy in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer: Current Evidence and Ongoing Trials. *Int J Mol Sci.* 29 giugno 2022;23(13):7222.
35. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol.* febbraio 2001;2(2):127–37.
36. Wells A. EGF receptor. *Int J Biochem Cell Biol.* giugno 1999;31(6):637–43.
37. De Luca A, Carotenuto A, Rachiglio A, Gallo M, Maiello MR, Aldinucci D, et al. The role of the EGFR signaling in tumor microenvironment. *J Cell Physiol.* marzo 2008;214(3):559–67.
38. da Cunha Santos G, Shepherd FA, Tsao MS. EGFR mutations and lung cancer. *Annu Rev Pathol.* 2011;6:49–69.
39. Shigematsu H, Gazdar AF. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. *Int J Cancer.* 15 gennaio 2006;118(2):257–

62.

40. AIOM. Linee guida NEOPLASIE DEL POLMONE [Internet]. 2021. Disponibile su: https://www.iss.it/documents/20126/8403839/LG%20149_Polmone_agg2021

41. Jimeno A, Hidalgo M. Pharmacogenomics of epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors. *Biochim Biophys Acta*. dicembre 2006;1766(2):217–29.

42. Sakurada A, Shepherd FA, Tsao MS. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in lung cancer: impact of primary or secondary mutations. *Clin Lung Cancer*. maggio 2006;7 Suppl 4:S138-144.

43. Malapelle U, Sirera R, Jantus-Lewintre E, Reclusa P, Calabuig-Fariñas S, Blasco A, et al. Profile of the Roche cobas® EGFR mutation test v2 for non-small cell lung cancer. *Expert Rev Mol Diagn*. marzo 2017;17(3):209–15.

44. Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, et al. Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med*. marzo 2005;2(3):e73.

45. Balak MN, Gong Y, Riely GJ, Somwar R, Li AR, Zakowski MF, et al. Novel D761Y and common secondary T790M mutations in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas with acquired resistance to kinase inhibitors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 novembre 2006;12(21):6494–501.

46. Bean J, Riely GJ, Balak M, Marks JL, Ladanyi M, Miller VA, et al. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor kinase inhibitors associated with a novel T854A mutation in a patient with EGFR-mutant lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 novembre 2008;14(22):7519–25.

47. Costa DB, Schumer ST, Tenen DG, Kobayashi S. Differential responses to erlotinib in epidermal growth factor receptor (EGFR)-mutated lung cancers with acquired resistance to gefitinib carrying the L747S or T790M secondary mutations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 marzo 2008;26(7):1182–4; author reply 1184-1186.

48. Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song Y, Hyland C, Park JO, et al. MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science*. 18 maggio 2007;316(5827):1039–43.

49. Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med*. gennaio 2005;2(1):e17.

50. Zhu CQ, da Cunha Santos G, Ding K, Sakurada A, Cutz JC, Liu N, et al. Role of KRAS and EGFR as biomarkers of response to erlotinib in National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group Study BR.21. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 settembre 2008;26(26):4268–75.

51. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, Franklin WA, Dziadziuszko R, Thatcher N, et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib in a phase III placebo-controlled study in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 novembre 2006;24(31):5034–42.
52. Yoneda K, Imanishi N, Ichiki Y, Tanaka F. Treatment of Non-small Cell Lung Cancer with EGFR-mutations. *J UOEH*. 2019;41(2):153–63.
53. Douillard JY, Shepherd FA, Hirsh V, Mok T, Socinski MA, Gervais R, et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 febbraio 2010;28(5):744–52.
54. Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, et al. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 ottobre 2005;23(28):6829–37.
55. Li AR, Chitale D, Riely GJ, Pao W, Miller VA, Zakowski MF, et al. EGFR mutations in lung adenocarcinomas: clinical testing experience and relationship to EGFR gene copy number and immunohistochemical expression. *J Mol Diagn JMD*. maggio 2008;10(3):242–8.
56. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 settembre 2005;23(25):5900–9.
57. Sasaki H, Shimizu S, Endo K, Takada M, Kawahara M, Tanaka H, et al. EGFR and erbB2 mutation status in Japanese lung cancer patients. *Int J Cancer*. 1 gennaio 2006;118(1):180–4.
58. Riely GJ, Politi KA, Miller VA, Pao W. Update on epidermal growth factor receptor mutations in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 dicembre 2006;12(24):7232–41.
59. Kosaka T, Yatabe Y, Onozato R, Kuwano H, Mitsudomi T. Prognostic implication of EGFR, KRAS, and TP53 gene mutations in a large cohort of Japanese patients with surgically treated lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. gennaio 2009;4(1):22–9.
60. Yoshida K, Yatabe Y, Park JY, Shimizu J, Horio Y, Matsuo K, et al. Prospective validation for prediction of gefitinib sensitivity by epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. gennaio 2007;2(1):22–8.

61. Renaud S, Schaeffer M, Voegeli AC, Legrain M, Guérin E, Meyer N, et al. Impact of EGFR mutations and KRAS amino acid substitution on the response to radiotherapy for brain metastasis of non-small-cell lung cancer. *Future Oncol Lond Engl*. gennaio 2016;12(1):59–70.
62. Mizuno T, Yatabe Y, Kuroda H, Sakakura N, Sakao Y. Impact of the oncogenic status on the mode of recurrence in resected non-small cell lung cancer. *Jpn J Clin Oncol*. ottobre 2016;46(10):928–34.
63. He Q, Xin P, Zhang M, Jiang S, Zhang J, Zhong S, et al. The impact of epidermal growth factor receptor mutations on the prognosis of resected non-small cell lung cancer: a meta-analysis of literatures. *Transl Lung Cancer Res*. aprile 2019;8(2):124–34.
64. Khadela A, Postwala H, Rana D, Dave H, Ranch K, Boddu SHS. A review of recent advances in the novel therapeutic targets and immunotherapy for lung cancer. *Med Oncol Northwood Lond Engl*. 18 aprile 2023;40(5):152.
65. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2 agosto 2007;448(7153):561–6.
66. Paik JH, Choi CM, Kim H, Jang SJ, Choe G, Kim DK, et al. Clinicopathologic implication of ALK rearrangement in surgically resected lung cancer: a proposal of diagnostic algorithm for ALK-rearranged adenocarcinoma. *Lung Cancer Amst Neth*. giugno 2012;76(3):403–9.
67. Chaft JE, Dagogo-Jack I, Santini FC, Eng J, Yeap BY, Izar B, et al. Clinical outcomes of patients with resected, early-stage ALK-positive lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. agosto 2018;122:67–71.
68. Liu Y, Ye X, Yu Y, Lu S. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase rearrangement in patients with completely resected lung adenocarcinoma. *J Thorac Dis*. ottobre 2019;11(10):4258–70.
69. Addeo A, Tabbò F, Robinson T, Buffoni L, Novello S. Precision medicine in ALK rearranged NSCLC: A rapidly evolving scenario. *Crit Rev Oncol Hematol*. 1 febbraio 2018;122:150–6.
70. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med*. 4 dicembre 2014;371(23):2167–77.
71. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, Wu YL, Paz-Ares L, Wolf J, 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 Lond Engl*. 4 marzo 2017;389(10072):917–29.
72. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim DW, et al. Alectinib

versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 31 agosto 2017;377(9):829–38.

73. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, Felip E, Soo RA, Camidge DR, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol.* dicembre 2018;19(12):1654–67.

74. Roskoski R. ROS1 protein-tyrosine kinase inhibitors in the treatment of ROS1 fusion protein-driven non-small cell lung cancers. *Pharmacol Res.* 1 luglio 2017;121:202–12.

75. Acquaviva J, Wong R, Charest A. The multifaceted roles of the receptor tyrosine kinase ROS in development and cancer. *Biochim Biophys Acta BBA - Rev Cancer.* 1 gennaio 2009;1795(1):37–52.

76. Charest A, Wilker EW, McLaughlin ME, Lane K, Gowda R, Coven S, et al. ROS Fusion Tyrosine Kinase Activates a SH2 Domain-Containing Phosphatase-2/Phosphatidylinositol 3-Kinase/Mammalian Target of Rapamycin Signaling Axis to Form Glioblastoma in Mice. *Cancer Res.* 2 agosto 2006;66(15):7473–81.

77. Zhu Q, Zhan P, Zhang X, Lv T, Song Y. Clinicopathologic characteristics of patients with ROS1 fusion gene in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Transl Lung Cancer Res.* giugno 2015;4(3):300–9.

78. Shaw AT, Ou SHI, Bang YJ, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 20 novembre 2014;371(21):1963–71.

79. Dziadziuszko R, Krebs MG, De Braud F, Siena S, Drilon A, Doebele RC, et al. Updated Integrated Analysis of the Efficacy and Safety of Entrectinib in Locally Advanced or Metastatic ROS1 Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 aprile 2021;39(11):1253–63.

80. Boussiotis VA. Molecular and Biochemical Aspects of the PD-1 Checkpoint Pathway. *N Engl J Med.* 3 novembre 2016;375(18):1767–78.

81. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer.* maggio 2014;50(7):1361–9.

82. Lizée G, Overwijk WW, Radvanyi L, Gao J, Sharma P, Hwu P. Harnessing the power of the immune system to target cancer. *Annu Rev Med.* 2013;64:71–90.

83. Tuminello S, Sikavi D, Veluswamy R, Gamarra C, Lieberman-Cribbin W, Flores R, et al. PD-L1 as a prognostic biomarker in surgically resectable non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Transl Lung Cancer Res.* agosto 2020;9(4):1343–60.

84. Ilie M, Hofman V, Dietel M, Soria JC, Hofman P. Assessment of the PD-L1

status by immunohistochemistry: challenges and perspectives for therapeutic strategies in lung cancer patients. *Virchows Arch Int J Pathol.* maggio 2016;468(5):511–25.

85. Saw SPL, Ng WP, Zhou S, Lai GGY, Tan AC, Ang MK, et al. PD-L1 score as a prognostic biomarker in asian early-stage epidermal growth factor receptor-mutated lung cancer. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. gennaio 2023;178:139–49.

86. Ball D, Mai GT, Vinod S, Babington S, Ruben J, Kron T, et al. Stereotactic ablative radiotherapy versus standard radiotherapy in stage 1 non-small-cell lung cancer (TROG 09.02 CHISEL): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* aprile 2019;20(4):494–503.

87. Li C, Wang L, Wu Q, Zhao J, Yi F, Xu J, et al. A meta-analysis comparing stereotactic body radiotherapy vs conventional radiotherapy in inoperable stage I non-small cell lung cancer. *Medicine (Baltimore).* 21 agosto 2020;99(34):e21715.

88. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 luglio 2008;26(21):3552–9.

89. Burdett S, Pignon JP, Tierney J, Tribodet H, Stewart L, Le Pechoux C, et al. Adjuvant chemotherapy for resected early-stage non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2 marzo 2015;(3):CD011430.

90. NSCLC Meta-analysis Collaborative Group. Preoperative chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual participant data. *Lancet Lond Engl.* 3 maggio 2014;383(9928):1561–71.

91. Zhang Y, Hu X, Liu D, Wang R, Sun X, Peng Z, et al. Effectiveness of neoadjuvant chemotherapy on the survival outcomes of patients with resectable non-small-cell lung cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Surg Oncol.* settembre 2021;38:101590.

92. Brunelli A, Falcoz PE, D'Amico T, Hansen H, Lim E, Massard G, et al. European guidelines on structure and qualification of general thoracic surgery. *Eur J Cardio-Thorac Surg Off J Eur Assoc Cardio-Thorac Surg.* maggio 2014;45(5):779–86.

93. von Meyenfheldt EM, Gooiker GA, van Gijn W, Post PN, van de Velde CJH, Tollenaar RAEM, 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 Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* luglio 2012;7(7):1170–8.

94. Camposilvan I, Akhtar-Danesh N, Schneider L, Finley CJ. The effect of surgeon volume on procedure selection in non-small cell lung cancer surgeries. *J Thorac Cardiovasc Surg.* settembre 2015;150(3):507–13.

95. Nagasaka M, Gadgeel SM. Role of chemotherapy and targeted therapy in early-stage non-small cell lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* gennaio 2018;18(1):63–70.

96. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Non-small cell lung cancer. 2017. Report No.: Version 8.2017-7.
97. Wu YL, John T, Grohe C, Majem M, Goldman JW, Kim SW, et al. Postoperative Chemotherapy Use and Outcomes From ADAURA: Osimertinib as Adjuvant Therapy for Resected EGFR-Mutated NSCLC. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. marzo 2022;17(3):423–33.
98. Zhang SS, Ou SHI. Deconstructing ADAURA: It is Time to Forgo Adjuvant Platinum-Based Chemotherapy in Resected IB-IIIa EGFR+ NSCLC (Except with RB Alterations?) When Adopting Adjuvant Osimertinib. *Lung Cancer Auckl NZ*. 2022;13:23–31.
99. Liu SY, Bao H, Wang Q, Mao WM, Chen Y, Tong X, et al. Genomic signatures define three subtypes of EGFR-mutant stage II-III non-small-cell lung cancer with distinct adjuvant therapy outcomes. *Nat Commun*. 8 novembre 2021;12(1):6450.
100. Hamada C, Tanaka F, Ohta M, Fujimura S, Kodama K, Imaizumi M, et al. Meta-analysis of postoperative adjuvant chemotherapy with tegafur-uracil in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1 agosto 2005;23(22):4999–5006.
101. Yue D, Xu S, Wang Q, Li X, Shen Y, Zhao H, et al. Erlotinib versus vinorelbine plus cisplatin as adjuvant therapy in Chinese patients with stage IIIa EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EVAN): a randomised, open-label, phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. novembre 2018;6(11):863–73.
102. Zhong WZ, Wang Q, Mao WM, Xu ST, Wu L, Shen Y, 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*. gennaio 2018;19(1):139–48.
103. He J, Su C, Liang W, Xu S, Wu L, Fu X, et al. Icotinib versus chemotherapy as adjuvant treatment for stage II-IIIa EGFR-mutant non-small-cell lung cancer (EVIDENCE): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Respir Med*. settembre 2021;9(9):1021–9.
104. Feng S, Wang Y, Cai K, Wu H, Xiong G, Wang H, et al. Randomized Adjuvant Chemotherapy of EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer Patients with or without Icotinib Consolidation Therapy. *PloS One*. 2015;10(10):e0140794.
105. Tagrisso film coated tablets: EU summary of product characteristics [Internet]. 2020. Disponibile su: <https://www.ema.europa.eu/>
106. Lamb YN. Osimertinib: A Review in Previously Untreated, EGFR Mutation-Positive, Advanced NSCLC. *Target Oncol*. settembre 2021;16(5):687–95.
107. Lamb YN, Scott LJ. Osimertinib: A Review in T790M-Positive Advanced Non-

Small Cell Lung Cancer. *Target Oncol.* agosto 2017;12(4):555–62.

108. Tagrisso film coated tablets: US prescribing information [Internet]. 2022. Disponibile su: www.tagrisso.com

109. Wu YL, Tsuboi M, He J, John T, Grohe C, Majem M, et al. Osimertinib in Resected EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 29 ottobre 2020;383(18):1711–23.

110. Herbst RS, Wu YL, John T, Grohe C, Majem M, Wang J, et al. Adjuvant Osimertinib for Resected EGFR-Mutated Stage IB-III A Non-Small-Cell Lung Cancer: Updated Results From the Phase III Randomized ADAURA Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 aprile 2023;41(10):1830–40.

111. Jie GL, Lu HL, Liu SY, Zhang JT, Zhong WZ, Yang X, et al. 359P The role of adjuvant targeted therapy for postoperative EGFR mutant non-small cell lung cancer: A network meta-analysis. *Ann Oncol.* 1 novembre 2020;31:S1379.

112. Tsuboi M, Herbst RS, John T, Kato T, Majem M, Grohé C, et al. Overall Survival with Osimertinib in Resected *EGFR* -Mutated NSCLC. *N Engl J Med.* 4 giugno 2023;NEJMoa2304594.

113. Tsutani Y, Goldman JW, Dacic S, Yatabe Y, Majem M, Huang X, et al. Adjuvant Osimertinib vs. Placebo in Completely Resected Stage IA2-IA3 EGFR-Mutated NSCLC: ADAURA2. *Clin Lung Cancer.* 8 febbraio 2023;S1525-7304(23)00020-7.

114. Tsuboi M, Weder W, Escriu C, Blakely C, He J, Dacic S, et al. Neoadjuvant osimertinib with/without chemotherapy versus chemotherapy alone for EGFR-mutated resectable non-small-cell lung cancer: NeoADAURA. *Future Oncol Lond Engl.* novembre 2021;17(31):4045–55.

115. Lu S, Casarini I, Kato T, Cobo M, Özgüroğlu M, Hodge R, et al. Osimertinib Maintenance After Definitive Chemoradiation in Patients With Unresectable EGFR Mutation Positive Stage III Non-small-cell Lung Cancer: LAURA Trial in Progress. *Clin Lung Cancer.* luglio 2021;22(4):371–5.

116. Gomatou G, Syrigos N, Kotteas E. Osimertinib Resistance: Molecular Mechanisms and Emerging Treatment Options. *Cancers.* 30 gennaio 2023;15(3):841.

117. Sands J, Mandrekar SJ, Oxnard GR, Kozono DE, Hillman SL, Dahlberg SE, et al. ALCHEMIST: Adjuvant targeted therapy or immunotherapy for high-risk resected NSCLC. *J Clin Oncol.* 20 maggio 2020;38(15_suppl):TPS9077–TPS9077.

118. Solomon BJ, Ahn JS, Barlesi F, Dziadziuszko R, Nishio M, Shaw AT, et al. ALINA: A phase III study of alectinib versus chemotherapy as adjuvant therapy in patients with stage IB–III A anaplastic lymphoma kinase-positive (ALK+) non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol.* 20 maggio 2019;37(15_suppl):TPS8569–TPS8569.

119. Friedlaender A, Addeo A, Russo A, Gregorc V, Cortinovis D, Rolfo CD. Targeted Therapies in Early Stage NSCLC: Hype or Hope? *Int J Mol Sci*. 31 agosto 2020;21(17):6329.
120. Felip E, Altorki N, Zhou C, Csósz T, Vynnychenko I, Goloborodko O, et al. Adjuvant atezolizumab after adjuvant chemotherapy in resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl*. 9 ottobre 2021;398(10308):1344–57.
121. O'Brien M, Paz-Ares L, Marreaud S, Dafni U, Oselin K, Havel L, et al. Pembrolizumab versus placebo as adjuvant therapy for completely resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (PEARLS/KEYNOTE-091): an interim analysis of a randomised, triple-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. ottobre 2022;23(10):1274–86.
122. Forde PM, Spicer J, Lu S, Provencio M, Mitsudomi T, Awad MM, et al. Neoadjuvant Nivolumab plus Chemotherapy in Resectable Lung Cancer. *N Engl J Med*. 26 maggio 2022;386(21):1973–85.
123. Lin K, Cheng J, Yang T, Li Y, Zhu B. EGFR-TKI down-regulates PD-L1 in EGFR mutant NSCLC through inhibiting NF- κ B. *Biochem Biophys Res Commun*. 17 luglio 2015;463(1–2):95–101.
124. Lastwika K, Wilson W, Dennis PA. Abstract 4981: PI3K/AKT/mTOR pathway activation drives expression of the immune inhibitory ligand PD-L1 in NSCLC. *Cancer Res*. 15 aprile 2013;73(8_Supplement):4981.
125. Chen N, Fang W, Zhan J, Hong S, Tang Y, Kang S, et al. Upregulation of PD-L1 by EGFR Activation Mediates the Immune Escape in EGFR-Driven NSCLC: Implication for Optional Immune Targeted Therapy for NSCLC Patients with EGFR Mutation. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. giugno 2015;10(6):910–23.
126. Zhang N, Zeng Y, Du W, Zhu J, Shen D, Liu Z, et al. The EGFR pathway is involved in the regulation of PD-L1 expression via the IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway in EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Int J Oncol*. ottobre 2016;49(4):1360–8.
127. Yokogami K, Wakisaka S, Avruch J, Reeves SA. Serine phosphorylation and maximal activation of STAT3 during CNTF signaling is mediated by the rapamycin target mTOR. *Curr Biol CB*. 13 gennaio 2000;10(1):47–50.
128. Shostak K, Chariot A. EGFR and NF- κ B: partners in cancer. *Trends Mol Med*. giugno 2015;21(6):385–93.
129. Akbay EA, Koyama S, Carretero J, Altabef A, Tchaicha JH, Christensen CL, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov*. dicembre 2013;3(12):1355–63.
130. Lin A, Wei T, Meng H, Luo P, Zhang J. Role of the dynamic tumor

microenvironment in controversies regarding immune checkpoint inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) with EGFR mutations. *Mol Cancer*. 16 settembre 2019;18(1):139.

131. Santaniello A, Napolitano F, Servetto A, De Placido P, Silvestris N, Bianco C, et al. Tumour Microenvironment and Immune Evasion in EGFR Addicted NSCLC: Hurdles and Possibilities. *Cancers*. 24 settembre 2019;11(10):1419.

132. Soo RA, Lim SM, Syn NL, Teng R, Soong R, Mok TSK, et al. Immune checkpoint inhibitors in epidermal growth factor receptor mutant non-small cell lung cancer: Current controversies and future directions. *Lung Cancer Amst Neth*. gennaio 2018;115:12–20.

133. Matsumoto Y, Koh Y. Tumor immune microenvironment of EGFR-mutant non-small-cell lung cancer and its impact on therapeutic efficacy. *Immunotherapy*. maggio 2020;12(7):431–7.

134. Qiao M, Jiang T, Liu X, Mao S, Zhou F, Li X, et al. Immune Checkpoint Inhibitors in EGFR-Mutated NSCLC: Dusk or Dawn? *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. agosto 2021;16(8):1267–88.

135. Chen K, Cheng G, Zhang F, Zhu G, Xu Y, Yu X, et al. PD-L1 expression and T cells infiltration in patients with uncommon EGFR-mutant non-small cell lung cancer and the response to immunotherapy. *Lung Cancer Amst Neth*. aprile 2020;142:98–105.

136. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, Mhanna L, Cortot AB, Mezquita L, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 1 agosto 2019;30(8):1321–8.

137. Yoshida H, Kim YH, Ozasa H, Nagai H, Sakamori Y, Tsuji T, et al. Nivolumab in non-small-cell lung cancer with EGFR mutation. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 1 marzo 2018;29(3):777–8.

138. Burdett S, Ryzewska L, Tierney J, Fisher D, Parmar MK, Arriagada R, et al. Postoperative radiotherapy for non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 11 ottobre 2016;10(10):CD002142.

139. Garinet S, Wang P, Mansuet-Lupo A, Fournel L, Wislez M, Blons H. Updated Prognostic Factors in Localized NSCLC. *Cancers*. 9 marzo 2022;14(6):1400.

140. Shewale JB, Corsini EM, Correa AM, Brown EL, Leon-Novelo LG, Nyitray AG, et al. Time trends and predictors of survival in surgically resected early-stage non-small cell lung cancer patients. *J Surg Oncol*. settembre 2020;122(3):495–505.

141. Cerfolio RJ, Bryant AS, Scott E, Sharma M, Robert F, Spencer SA, et al. Women With Pathologic Stage I, II, and III Non-small Cell Lung Cancer Have Better Survival Than Men. *Chest*. dicembre 2006;130(6):1796–802.

142. Alifano M, Daffré E, Iannelli A, Brouchet L, Falcoz PE, Le Pimpec Barthes F, et al. The Reality of Lung Cancer Paradox: The Impact of Body Mass Index on Long-Term Survival of Resected Lung Cancer. A French Nationwide Analysis from the Epithor Database. *Cancers*. 12 settembre 2021;13(18):4574.
143. Pasini F, Pelosi G, Valduga F, Durante E, De Manzoni G, Zaninelli M, et al. Late events and clinical prognostic factors in stage I non small cell lung cancer. *Lung Cancer*. agosto 2002;37(2):171–7.
144. Riquet M, Assouad J, Bagan P, Foucault C, Le Pimpec Barthes F, Dujon A, et al. Skip Mediastinal Lymph Node Metastasis and Lung Cancer: A Particular N2 Subgroup With a Better Prognosis. *Ann Thorac Surg*. gennaio 2005;79(1):225–33.
145. Travis WD, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, International Association for the Study of Lung Cancer, International Academy of Pathology, curatori. Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart. Lyon : Oxford: IARC Press, Oxford University Press (distributore); 2004. 344 p. (World Health Organization classification of tumours).
146. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, Sima CS, Gerald WL, Kris MG, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol*. maggio 2011;24(5):653–64.
147. Izar B, Zhou H, Heist RS, Azzoli CG, Muzikansky A, Scribner EEF, et al. The Prognostic Impact of KRAS, Its Codon and Amino Acid Specific Mutations, on Survival in Resected Stage I Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. settembre 2014;9(9):1363–9.
148. Owada-Ozaki Y, Muto S, Takagi H, Inoue T, Watanabe Y, Fukuhara M, et al. Prognostic Impact of Tumor Mutation Burden in Patients With Completely Resected Non-Small Cell Lung Cancer: Brief Report. *J Thorac Oncol*. agosto 2018;13(8):1217–21.
149. Sandoval J, Mendez-Gonzalez J, Nadal E, Chen G, Carmona FJ, Sayols S, et al. A Prognostic DNA Methylation Signature for Stage I Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 10 novembre 2013;31(32):4140–7.
150. Nishii T, Yokose T, Miyagi Y, Daigo Y, Isaka T, Furumoto H, et al. Prognostic value of EGFR mutations in surgically resected pathological stage I lung adenocarcinoma. *Asia Pac J Clin Oncol*. ottobre 2017;13(5):e204–11.
151. Wang BY, Huang JY, Chen HC, Lin CH, Lin SH, Hung WH, et al. The comparison between adenocarcinoma and squamous cell carcinoma in lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. gennaio 2020;146(1):43–52.
152. Yotsukura M, Yasuda H, Shigenobu T, Kaseda K, Masai K, Hayashi Y, et al. Clinical and pathological characteristics of EGFR mutation in operable early-stage lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. luglio 2017;109:45–51.

153. Suda K, Mitsudomi T, Shintani Y, Okami J, Ito H, Ohtsuka T, et al. Clinical Impacts of EGFR Mutation Status: Analysis of 5780 Surgically Resected Lung Cancer Cases. *Ann Thorac Surg*. 1 gennaio 2021;111(1):269–76.
154. Chow OS, Villena-Vargas J, Nasar A, Sun B, Harrison S, Lee B, et al. Outcomes After Surgical Resection of Early-stage Lung Adenocarcinomas With Epidermal Growth Factor Receptor Mutations. *Ann Thorac Surg*. settembre 2022;114(3):905–10.
155. Shigematsu H, Lin L, Takahashi T, Nomura M, Suzuki M, Wistuba II, et al. Clinical and Biological Features Associated With Epidermal Growth Factor Receptor Gene Mutations in Lung Cancers. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2 marzo 2005;97(5):339–46.
156. Hattori A, Matsunaga T, Fukui M, Takamochi K, Suzuki K. Prognosis of epidermal growth factor receptor-mutated stage I lung adenocarcinoma with radiologically solid features. *Eur J Cardiothorac Surg*. 24 marzo 2022;61(4):769–77.
157. Ito M, Miyata Y, Tsutani Y, Ito H, Nakayama H, Imai K, et al. Positive EGFR mutation status is a risk of recurrence in pN0–1 lung adenocarcinoma when combined with pathological stage and histological subtype: A retrospective multi-center analysis. *Lung Cancer*. marzo 2020;141:107–13.
158. Ito M, Miyata Y, Kushitani K, Yoshiya T, Kai Y, Tsutani Y, et al. Increased risk of recurrence in resected *EGFR* -positive pN0M0 invasive lung adenocarcinoma: Recurrent risk of *EGFR* mutation in LAD. *Thorac Cancer*. dicembre 2018;9(12):1594–602.
159. Galvez C, Jacob S, Finkelman BS, Zhao J, Tegtmeyer K, Chae YK, et al. The role of EGFR mutations in predicting recurrence in early and locally advanced lung adenocarcinoma following definitive therapy. *Oncotarget*. 26 maggio 2020;11(21):1953–60.
160. Aokage K, Miyoshi T, Wakabayashi M, Ikeno T, Suzuki J, Tane K, et al. Prognostic influence of epidermal growth factor receptor mutation and radiological ground glass appearance in patients with early-stage lung adenocarcinoma. *Lung Cancer*. ottobre 2021;160:8–16.
161. Saw SPL, Zhou S, Chen J, Lai G, Ang MK, Chua K, et al. Association of Clinicopathologic and Molecular Tumor Features With Recurrence in Resected Early-Stage Epidermal Growth Factor Receptor–Positive Non–Small Cell Lung Cancer. *JAMA Netw Open*. 5 novembre 2021;4(11):e2131892.
162. Azuma K, Ota K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Harada T, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*. ottobre 2014;25(10):1935–40.
163. Teramoto K, Igarashi T, Kataoka Y, Ishida M, Hanaoka J, Sumimoto H, et al. Biphasic prognostic significance of PD-L1 expression status in patients with early- and

locally advanced-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother.* aprile 2021;70(4):1063–74.

164. Tang WF, Ye HY, Tang X, Su JW, Xu KM, Zhong WZ, et al. Adjuvant immunotherapy in early-stage resectable non-small cell lung cancer: A new milestone. *Front Oncol.* 26 gennaio 2023;13:1063183.

165. Ma J, Chi D, Wang Y, Yan Y, Zhao S, Liu H, et al. Prognostic value of PD-L1 expression in resected lung adenocarcinoma and potential molecular mechanisms. *J Cancer.* 2018;9(19):3489–99.