

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CARDIO–TORACO–VASCOLARI
E SANITÀ PUBBLICA

Direttore: Prof. Federico Rea

U.O. CHIRURGIA TORACICA

Responsabile: Prof. Federico Rea

TESI DI LAUREA

**ANALISI RETROSPETTIVA DI CORRELAZIONE FRA
METABOLISMO CELLULARE ED ESPRESSIONE DI
FENOTIPI E TARGET IMMUNO-TERAPICI
NELL'ADENOCARCINOMA DEL POLMONE**

Relatore: Prof. Andrea Zuin

Correlatore: Dr. Stefano Dal Moro

Laureanda: Camilla Frasson

ANNO ACCADEMICO: 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Le neoplasie polmonari	5
1.2 Epidemiologia del tumore polmonare	8
1.2.1 Incidenza	8
1.2.2 Prevalenza	8
1.2.3 Mortalità	9
1.2.4 Sopravvivenza	9
1.2.5 Situazione mondiale	9
1.3 Carcinogenesi e fattori di rischio	10
1.3.1 Esposizione al fumo	10
1.3.2 Familiarità del cancro polmonare	12
1.3.4 Fattori virali	13
1.3.5 Fattori immunitari	13
1.3.6 Altre patologie polmonari	14
1.3.7 Fattori ambientali e dovuti ad esposizione professionale	14
1.4 Adenocarcinoma polmonare	16
1.4.1 Definizione e sottoclassificazione	16
1.4.2 Aspetto macroscopico	17
1.4.3 Aspetto microscopico	18
1.4.4 Prognosi dell'adenocarcinoma polmonare	18
1.6 Caratteristiche molecolari degli adenocarcinomi polmonari	20
1.6.1 Malattia oncogene-addicted	20
1.6.1.1 Mutazioni di EGFR	20
1.6.1.2 Mutazioni di KRAS	22
1.6.1.3 Mutazioni di ALK	24

1.6.1.4 Mutazioni di ROS1	25
1.6.2 Malattia non oncogene addicted	26
1.6.2.1 Mutazioni di PDL1	26
1.7 Iter diagnostico/stadiativo della neoplasia polmonare	28
1.7.1 Tomografia Computerizzata (TC)	30
1.7.2 Tomografia a Emissione di Positroni (PET) e PET-TC	32
1.7.3 Classificazione TNM	34
1.8 Trattamento NSCLC non metastatico	37
1.8.1 Approccio Chirurgico	37
1.8.1.1 Cenni di anatomia polmonare funzionali alla chirurgia	38
1.8.1.2 Opzioni chirurgiche	39
1.8.2 Terapie adiuvanti post-chirurgiche	43
1.8.2.1 Chemioterapia con combinazioni a base di cisplatino	43
1.8.2.2 Radioterapia adiuvante (postoperative radiotherapy, PORT)	44
1.8.3 Terapie della malattia oncogene-addicted	44
1.8.3.1 Trattamento della malattia EGFR mutata	44
1.8.3.2 Trattamento della malattia ALK riarrangiata	46
1.8.3.3 Trattamento della malattia ROS1 riarrangiata	48
1.8.3.4 Trattamento della malattia KRAS mutata	48
1.8.4 Terapie della malattia non oncogene-addicted	49
1.8.4.1 Trattamento di prima linea: immunoterapia	50
1.8.4.2 Trattamento di prima linea: chemioterapia	51
2. SCOPO DELLO STUDIO:	53
3. MATERIALI E METODI:	55
4. RISULTATI:	57
4.1 Campione statistico e variabili	57
4.2 Analisi dei risultati	62
4.2.1 PET (SUVmax) - Modello di regressione lineare	63

4.2.2 pT \geq T2a -Modello di regressione logistica	66
4.2.3 pN (coinvolgimento linfonodale) - modello di regressione logistica	69
4.2.4 Curve di sopravvivenza e di recidiva	73
5. DISCUSSIONE	75
6. CONCLUSIONI	79
7. LIMITI DELLO STUDIO	81
8. BIBLIOGRAFIA	83

RIASSUNTO

Introduzione: L'adenocarcinoma polmonare è attualmente l'istotipo più frequente tra tutti i tumori polmonari. L'adenocarcinoma polmonare può essere caratterizzato da mutazioni clonali di EGFR, KRAS, ALK, ROS1 e può esprimere PD-L1: questi markers immunofenotipici sono target di terapie mirate e hanno valore prognostico. La PET-TC è l'esame gold-standard per la diagnosi di questa neoplasia ed è già noto che i valori di captazione da essa rilevati hanno un significato prognostico e predittivo della malignità nell'ambito dei tumori polmonari.

Scopo dello studio: L'obiettivo primario dello studio è stato l'individuazione, in particolare nell'adenocarcinoma del polmone, di eventuali correlazioni tra il metabolismo cellulare tumorale, rilevato alla PET preoperatoria, espresso come indice SUV che indica la captazione di ^{18}F -2-fluoro-2-desossiglucosio (^{18}F -FDG), e l'espressione di markers immunofenotipici, quali mutazioni di EGFR e KRAS, riarrangiamenti di ALK e ROS1 e l'espressione di PD-L1, per poter predire, a partire dal valore dell'indice SUV, i markers immunofenotipici caratterizzanti e quindi definire la prognosi e pianificare iter terapeutici mirati.

Materiali e metodi: In questo studio retrospettivo sono stati inclusi 156 pazienti con diagnosi di adenocarcinoma polmonare, sottoposti a PET-TC preoperatoria con valore di SUVmax determinato, il cui esame istologico definitivo comprendesse l'analisi di espressione dei geni PDL1, ALK, ROS1, EGFR, KRAS. Inoltre, sono stati valutati i follow up dei pazienti per raccogliere i dati sulla sopravvivenza a seguito dell'intervento chirurgico e sulle terapie seguite.

Risultati: Si sono condotte tre analisi. La prima, secondo un modello di regressione lineare, andava a cercare le correlazioni tra il valore di SUVmax e le altre variabili esaminate, riscontrando assenza di correlazioni statisticamente significative con le mutazioni di EGFR e KRAS e i riarrangiamenti di ALK e ROS1, endpoints primari dello studio, e invece presenza di correlazione positiva significativa con l'espressione di PD-L1 (anche se debole), l'indice mitotico, il pattern di crescita prevalentemente solido, la crescita neoplastica, l'infiltrato linfomonocitario, le metastasi linfonodali e l'estensione del tumore; inoltre è stata rilevata una

correlazione negativa significativa con il pattern di crescita prevalentemente lepidico (fattore protettivo).

La seconda, secondo un modello di regressione logistica, andava a cercare le correlazioni tra l'estensione del tumore, cioè $pT \geq T2a$ e le altre variabili esaminate, riscontrando presenza di correlazione positiva significativa con SUVmax, l'invasione della pleura ed il coinvolgimento metastatico linfonodale e correlazione negativa significativa con il pattern di crescita prevalentemente lepidico; non si è raggiunta una significatività statistica per le altre variabili analizzate (l'indice mitotico HPF, PDL1, ALK, ROS1, EGFR, KRAS, necrosi neoplastica, infiltrato linfomonocitario).

La terza, secondo un modello di regressione logistica, andava a cercare le correlazioni tra il coinvolgimento linfonodale, cioè $pN > N0$ e le altre variabili esaminate, riscontrando presenza di correlazione positiva significativa con SUVmax, l'indice mitotico, l'espressione di PD-L1 (anche se debole), il pattern di crescita prevalentemente solido, la necrosi neoplastica e le dimensioni del tumore maggiori di $pT \geq T2a$; non sono state evidenziate, infine, correlazioni statisticamente significative con le altre variabili oggetto di studio.

Conclusioni: I risultati di questo studio mostrano che, negli adenocarcinomi polmonari, il valore dell'indice SUV rilevato alla PET non è correlato ai markers immunofenotipici, cioè le mutazioni di EGFR e KRAS e i riarrangiamenti di ALK e ROS1; queste correlazioni, però, andrebbero indagate ulteriormente con un campione più numeroso. Tuttavia si sono osservate delle correlazioni tra l'indice SUV e l'espressione di PD-L1 e alcune caratteristiche istologiche dell'adenocarcinoma polmonare, come il pattern, la presenza di necrosi neoplastica e l'infiltrato linfomonocitario. Infine, si è trovata una correlazione significativa tra il valore di SUV e i parametri T e N della stadiazione TNM.

ABSTRACT

Background: Lung adenocarcinoma is currently the most common histological type of all lung cancers. Lung adenocarcinoma can be characterized by clonal mutations of EGFR, KRAS, ALK, ROS1 and can express PD-L1: these immunophenotypic markers are targets for targeted therapies and have prognostic value. PET-CT imaging is the gold-standard for the diagnosis of this pathology and it is already known that the uptake values detected by it have a prognostic value and predictive significance of malignancy in the context of lung tumors.

Aim Of The Study: The primary objective of the study was the identification, in particular in lung adenocarcinoma, of any correlations between tumor cell metabolism, detected on preoperative PET, expressed as SUV index, indicating the uptake of ^{18}F -2-fluoro-2-deoxyglucose (^{18}F -FDG), and the expression of immunophenotypic markers, such as EGFR and KRAS mutations, ALK and ROS1 rearrangements and PD-L1 expression, in order to predict, starting from the value of SUV, the characterizing immunophenotypic markers and therefore define the prognosis and plan targeted therapeutic options.

Materials and methods: This retrospective study included 156 patients diagnosed with lung adenocarcinoma, who underwent preoperative PET-CT with a determined SUVmax value, whose definitive histological examination included the expression analysis of the PDL1, ALK, ROS1, EGFR and KRAS genes. In addition, patient follow-ups were evaluated to collect data on survival and treatment following surgery.

Results: Three analyses were led. The first one, according to a linear regression model, aimed at looking for the correlations between SUVmax value and the other variables examined, finding the absence of statistically significant correlations between SUV index and EGFR and KRAS mutations and rearrangements of ALK and ROS1, primary endpoints of the study, while it was found that PD-L1 expression, mitotic index, predominantly solid growth pattern, neoplastic growth, lymphomonocyte infiltrate, lymph node metastasis and tumor size were positively correlated to SUV index; in addition, a significant negative correlation was found between SUVmax and the predominantly lepid growth pattern (protective factor).

The second analysis, according to a logistic regression model, aimed at looking for the correlations between tumor size, $pT \geq T2a$, and the other variables examined, finding the presence of a significant positive correlation between $pT \geq T2a$ and SUVmax, the pleural invasion and metastatic lymph node involvement; there was also a significant negative correlation with the predominantly lepid growth pattern; statistical significance was not achieved for the other variables analyzed (the mitotic index HPF, PDL1, ALK, ROS1, EGFR, KRAS, neoplastic necrosis, lymphomonocyte infiltrate).

The third analysis, according to a logistic regression model, aimed at looking for the correlations between metastatic lymph node involvement, $pN > N0$, and the other variables examined, finding the presence of a significant positive correlation between $pN > N0$ and SUVmax, the mitotic index, PD-L1 expression (although weak), predominantly solid growth pattern, neoplastic necrosis and tumor size greater than $pT \geq T2a$; no statistically significant correlations with the other variables studied were highlighted.

Conclusions: The results of this study show that, in lung adenocarcinomas, the SUV index value detected on PET is not related to immunophenotypic markers such as EGFR and KRAS mutations and ALK and ROS1 rearrangements; these correlations, however, should be further investigated with a larger sample. Statistically significant correlations were observed between the SUV index value and PD-L1 expression, as well as some histological characteristics of lung adenocarcinoma, such as the pattern of growth and the presence of neoplastic necrosis and lymphomonocyte infiltrate. Furthermore, significant correlations were found between SUV index value and T and N parameters of TNM staging.

1. INTRODUZIONE

1.1 LE NEOPLASIE POLMONARI

I tumori polmonari sono un gruppo eterogeneo di neoplasie benigne e maligne localizzate a livello dei polmoni. Il 95% delle neoplasie polmonari è rappresentato dal carcinoma del polmone. Questa neoplasia ha comportamento maligno, ed origina dai tessuti epiteliali che compongono i bronchi (di tutti gli ordini) e il parenchima polmonare.

Il carcinoma del polmone ha un'ampia varietà di presentazione: ciascun sottotipo può infatti differire per derivazione, presentazione clinica, tendenza alla metastatizzazione e approcci terapeutici. Più del 95% dei carcinomi polmonari sono riconducibili a quattro istotipi principali: carcinoma squamoso (CS), adenocarcinoma (ADC), carcinoma a grandi cellule (CGC) e carcinoma a piccole cellule o microcitoma. I primi tre vengono raggruppati nella definizione di NSCLC, o Non Small Cell Lung Carcinoma, perché si distinguono significativamente per presentazione clinica, trattamento e prognosi rispetto al microcitoma, o SCLC, Small Cell Lung Carcinoma [1, 2]. L'istotipo più frequente degli NSCLCs è l'adenocarcinoma polmonare [3].

Tra gli altri tipi di tumori polmonari, più rari dei carcinomi, troviamo le neoplasie polmonari benigne, che comprendono i papillomi, gli pneumocitomi e gli adenomi, e le altre neoplasie polmonari maligne, tra le quali il carcinoma sarcomatoide, altri tumori epiteliali, i tumori di derivazione dalle ghiandole salivari, i tumori neuroendocrini, i tumori da tessuto ectopico, i tumori mesenchimali, i linfomi e le neoplasie istiocitarie, le metastasi.

Tumore	Lesioni precursore	Varianti	Note
Papillomi	-	Squamoso esofitico Squamoso invertito Ghiandolare Misto squamoso e ghiandolare	Comportamento benigno
Pneumocitoma sclerosante (cd. emangioma sclerosante)	-	Pattern: sclerotico, papillare, solido, emorragico (spesso misti)	Comportamento benigno

Adenomi	-	Alveolare, Papillare Bronchiolare/tumore papillare ciliato muco nodulare, Cistoadenoma mucinoso A ghiandole mucinose	Comportamenti benigni
Adenocarcinoma	Iperplasia adenomatosa atipica (AAH); adenocarcinoma in situ (AIS) e minimamente invasivo (MIA) mucinoso e non mucinoso	Pattern lepidico, acinare, papillare, micro papillare, solido Mucinoso Fetale (basso/alto grado) Enterico Colloide	Importanza delle dimensioni: AAH \leq 5 mm AIS \leq 3 cm senza invasione stromale MIA \leq 3 cm con invasione stromale \leq 5 mm
Carcinoma squamocellulare	Displasia e carcinoma squamoso in situ	Cheratinizzante Non-cheratinizzante Basaloide	
Carcinoma a grandi cellule	-	-	Negativo per marcatori di differenziazione squamosa (p40, CK5/6), adenocarcinoma (TTF1, napsina) e neuroendocrini
Carcinoma sarcomatoide	-	A cellule fusate A cellule giganti A cellule fusate e giganti Pleomorfo (con componente convenzionale di NSCLC) accanto a componente a cellule fusate e/o giganti Carcinosarcoma (presenza di NSCLC convenzionale accanto a sarcoma: osteo/condro/leiomiio/radbd/angio- sarcoma) Blastoma	
Altri tumori epiteliali	-	Carcinoma linfoepiteliale Carcinoma con riarrangiamento NUT Tumore toracico indifferenziato con	

		deficit di SMARCA4	
Tumori di derivazione dalle ghiandole salivari	-	Adenomi Carcinoma muco epidermoide Carcinoma adenoide-cistico Mioepitelioma e carcinoma epiteliale/mioepiteliale Carcinoma ialinizzante a cellule chiare	
Tumori neuroendocrini	Iperplasia idiopatica diffusa delle cellule neuroendocrine (DIPNECH) (solo per alcuni carcinoidi periferici)	Carcinoide tipico Carcinoide atipico Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule Carcinoma a piccole cellule Carcinomi neuroendocrini combinati con NSCLC	Indice mitotico, necrosi e morfologia delle cellule sono i criteri classificativi Ki67 molto utile soprattutto nelle biopsie con artefatti
Tumori da tessuto ectopico	-	Melanoma Timoma Meningioma Tumori germinali	
Tumori mesenchimali	-	Amartoma Condroma PECOMA Tumore miofibroblastico infiammatorio Linfangioliomiomatosi Tumori vascolari (emangioendotelioma epitelioide, angiosarcoma, sarcoma di Kaposi) Tumore fibroso solitario Sarcoma sinoviale Blastoma pleuropolmonare Sarcoma intinale Sarcoma mixoide con traslocazione EWSR1-CREB1	
Linfomi e neoplasie istiocitarie	-	Marginale (MALT) Diffuso a grandi cellule Intravascolare Granulomatosi linfomatoide	

		Istiocitosi a cellule di Langerhans Malattia di Erdheim-Chester	
Metastasi	-	-	

Tabella 1. Classificazione dei tumori polmonari secondo la V edizione della WHO - 2021

1.2 EPIDEMIOLOGIA DEL TUMORE POLMONARE

1.2.1 INCIDENZA

In Italia, nel 2020 sono stati stimati circa 41.000 nuovi casi di tumore del polmone (27.550 negli uomini e 13.300 nelle donne): è la seconda neoplasia più frequente negli uomini (15%) e la terza nelle donne (6%). La probabilità di sviluppare un cancro del polmone nel corso della vita è pari a 1:10 per gli uomini e 1:35 per le donne. Il cancro polmonare è il secondo tumore per frequenza nel sesso maschile, con percentuali pari al 14% nella fascia di età 50-69 anni e al 17% dopo i 70 anni. Nel sesso femminile invece la neoplasia è meno frequente e compare al terzo posto nelle donne con più di 70 anni (8%) mentre è al quarto posto nelle donne tra 50 e 69 anni (7%).

Il tumore del polmone mostra un trend d'incidenza in calo negli uomini (-1,7%), più evidente nella fascia 50-69 anni (-6,2%), invece è in aumento nelle donne (+3,4%), soprattutto nella fascia sopra i 70 anni, da ricondurre prevalentemente alla più frequente diffusione dell'abitudine tabagica nei soggetti di sesso femminile a partire dalla fine degli anni Ottanta.

L'età mediana in cui viene fatta la diagnosi di tumore polmonare è 70 anni (1/3 dei casi si riscontra in individui tra i 65 e i 74 anni) [4].

1.2.2 PREVALENZA

Nel 2020 in Italia sono stati stimati oltre 117.800 soggetti vivi con una pregressa diagnosi di cancro del polmone (77.200 uomini e 40.600 donne). Il 34% delle persone ha sviluppato la neoplasia da meno di 2 anni, il 23% da 2-5 anni, il 17% da 5-10 anni, mentre solo il 25% delle persone vive ha ricevuto una diagnosi di malattia da oltre 10 anni. La frazione di guarigione stimata per i pazienti con tumore polmonare diagnosticato in Italia nel 2000 è stata stimata essere pari al 8% negli uomini e 13% nelle donne [4].

1.2.3 MORTALITÀ

Il tumore del polmone causa circa un quarto di tutti i decessi per tumore.

Nel 2021, sono stimati 34.000 decessi per tumori del polmone (uomini = 23.100; donne = 10.900). Il carcinoma polmonare rappresenta la prima causa di morte per cancro negli uomini e la seconda nelle donne.

Si stima che, nei maschi, il tasso di mortalità per il tumore del polmone (che rappresenta oltre il 20% dei decessi per tumore nel sesso maschile) nel 2020 sia di 74,0/100.000, con una diminuzione rispetto al 2015 del 11,2%. Rispetto al 2015, il tasso di mortalità stimato per tumori del polmone nelle donne italiane per il 2020 è invece superiore del 5,2% (26,3/100.000) [4].

1.2.4 SOPRAVVIVENZA

La sopravvivenza a 5 anni dei pazienti con tumore del polmone in Italia è pari al 15% negli uomini e 19% nelle donne; in molti pazienti, purtroppo, la diagnosi di malattia si ha in stadio avanzato. La sopravvivenza condizionata, che esprime la probabilità di sopravvivere ulteriormente alla malattia essendo sopravvissuti per un periodo prefissato, è pari al 35% dei soggetti (33% uomini, 40% donne) vivi dopo 1 anno dalla diagnosi, e al 72% dei soggetti (73% uomini, 71% donne), vivi a 5 anni dalla diagnosi [4].

1.2.5 SITUAZIONE MONDIALE

Il tumore del polmone si è affermato come la forma più comune di cancro in tutto il mondo a partire dagli anni Ottanta, con incidenza (2,1 milioni di nuovi casi nel 2018) e mortalità (1,8 milioni di morti nel 2018) più elevate rispetto a tutti gli altri tumori [5].

Nei Paesi sviluppati si è osservata una riduzione dell'incidenza e della mortalità per cancro polmonare negli ultimi decenni, con un tasso di sopravvivenza a 5 anni del 20%. Nei Paesi in via di sviluppo, invece, si è osservato un aumento dell'incidenza del tumore del polmone e della mortalità correlata: infatti, in queste nazioni si hanno più della metà (58%) dei casi registrati globalmente e il tasso di sopravvivenza a 5 anni è del 10% [6, 7].

I maschi neri presentano la più alta incidenza di tumore del polmone rispetto alle altre razze; seguono i maschi caucasici, i nativi americani, gli asiatici e gli abitanti

delle isole del Pacifico e infine i maschi latini. Per quanto riguarda le donne, l'incidenza del cancro al polmone è più alta tra le donne caucasiche, poi tra le donne nere, a seguire le native americane, le asiatiche e abitanti delle isole del Pacifico e le latine. I trend di mortalità per tumore polmonare in base alla razza sono identici a quelli dell'incidenza [8, 9].

Queste tendenze sono dovute, secondo i risultati di alcuni studi, oltre che a differenze biologiche tra le razze, anche a differenze nell'uso del tabacco e l'esposizione ad esso, nello stato socioeconomico e nella possibilità di accesso alle cure [10, 11, 12].

Inoltre si è visto che i pazienti di razza nera spesso ricevono la diagnosi di cancro polmonare in stadi più avanzati del tumore [13].

1.3 CARCINOGENESI E FATTORI DI RISCHIO

Secondo numerosi studi epidemiologici, i principali fattori coinvolti nella carcinogenesi del tumore del polmone sono:

- esposizione al fumo
- storia familiare di cancro
- fattori virali
- fattori immunitari
- altre patologie polmonari
- fattori ambientali e occupazionali

1.3.1 ESPOSIZIONE AL FUMO

Il fumo di sigaretta rappresenta il principale fattore di rischio modificabile per l'insorgenza del cancro polmonare, ad oggi ritenuto responsabile per l'85-90% dei casi [14].

Il rischio relativo di sviluppare cancro polmonare nei fumatori (considerati *in toto*) rispetto ai non fumatori è pari a 14, mentre quello dei forti fumatori (oltre le 20 sigarette al giorno) è pari a 20. Per coloro che smettono di fumare, il rischio si riduce progressivamente nel corso dei 10-15 anni successivi, con un vantaggio significativo in termini di sopravvivenza per chi smette di fumare prima dei 40 anni [15]. Il rischio relativo di sviluppare un tumore polmonare è in stretta relazione con alcuni fattori fra cui: il numero di sigarette fumate al giorno, la durata (in anni) dell'abitudine al fumo e il contenuto di catrame delle sigarette [16]. Il pack-year è

un'unità di misura che viene utilizzata per definire quanto una persona ha fumato nel corso di un lungo periodo di tempo. Si calcola moltiplicando il numero di pacchetti di sigarette fumate al giorno per il numero di anni che una persona ha fumato [17].

Il fumo di sigaretta è un aerosol complesso di componenti sia gassosi che particolati; il fumo può essere attivo (inalato proprio nell'atto di fumare la sigaretta, detto anche *mainstream smoke*), il quale è la principale forma di esposizione al fumo da parte del fumatore, oppure passivo (*sidestream smoke*, detto anche "*second-hand smoke*", SHS), causato dalla sigaretta che brucia, il quale è la principale fonte del fumo di tabacco ambientale (ETS, *environmental tobacco smoke*). Il fumo di sigaretta è costituito da più di 7000 composti chimici organici ed inorganici, tra i quali 70 sono stati riconosciuti come cancerogeni, tra cui idrocarburi policiclici aromatici (benzene), N-nitrosammine, ammine aromatiche, carbammato di etile, cloruro di vinile, ossido di etilene, nichel, cromo, cadmio, radon, bismuto, polonio-210, arsenico e idrazina [18]. Queste sostanze presenti nel fumo di tabacco richiedono un'attivazione metabolica per raggiungere il potenziale cancerogeno, attraverso la fase I cancerogena-attivante, da parte di alcuni enzimi (es. citocromo P450, mono-ossigenasi), che sono codificati dai geni del citocromo P450, famiglia 1, sottofamiglia A, membro 1 (CYP1A1). Gli enzimi di fase II (trasferasi) contrastano gli enzimi di fase I, inibendo la formazione di radicali liberi e catalizzando la conversione di intermedi reattivi in coniugati inattivi tramite reazioni di coniugazione. Se questi metaboliti non sono inattivati, si legano al DNA e formano addotti del DNA, che possono essere rimossi tramite i processi di riparazione del genoma, restaurando il DNA normale, oppure le cellule con DNA danneggiato vanno in apoptosi; se il sistema di riparazione fallisce, si possono avere delle mutazioni permanenti: se ciò avviene a livello dei geni oncosoppressori (mutazione inattivante) oppure degli oncogeni (mutazione attivante) si può avere lo sviluppo di cancro polmonare. Il bilancio tra i prodotti della fase I e quelli della fase II determina il rischio individuale di sviluppare il cancro del polmone [19].

L'abitudine al fumo si ripercuote anche sui non fumatori che vivono oppure che vengono a contatto con i fumatori, tramite il fumo passivo: studi collaborativi europei e metanalisi evidenziano che i non fumatori esposti al fumo passivo presentano un aumento del rischio di sviluppare un tumore polmonare compreso tra il 20% ed il 50% (1,34 OR) rispetto ai non fumatori non esposti a fumo passivo

[20, 21, 22].

L'associazione causale che è stata stabilita tra il fumo passivo e il tumore polmonare spiega circa 1,6% di tutti i cancri del polmone [23].

Globalmente, si stima che il fumo di tabacco ambientale sia responsabile di circa 22000 morti per cancro polmonare all'anno [24].

Un'indagine demoscopica, relativa all'abitudine al fumo degli italiani effettuata da Doxa per l'anno 2021 su incarico dell'Istituto Superiore di Sanità e in collaborazione con l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri ha rilevato che la prevalenza dei fumatori in Italia è del 26,2% (stima di 11,3 milioni) di cui il 25,7% sono maschi (5,5 milioni) e il 26,7% sono femmine (5,8 milioni).

Attualmente rimane maggiore la percentuale di uomini fumatori rispetto a quella di donne fumatrici, anche se quest'ultima è in aumento; infatti, la differenza percentuale tra fumatori e fumatrici diminuisce progressivamente di anno in anno. L'età media dei soggetti fumatori è di 45.3 anni, ma più del 70% di questi dichiara di avere iniziato a fumare tra i 15 e i 20 anni [25]. La teoria più confermata è quella secondo cui le femmine sono più suscettibili dei maschi ai carcinogeni del tabacco: le fumatrici hanno un'espressione più alta dei geni CYP1A1 nei polmoni rispetto ai maschi, risultando in una maggiore attivazione delle sostanze cancerogene [26]; questa maggiore espressione potrebbe essere indotta da ormoni [27]. Inoltre, le donne mostrano spesso polimorfismi degli enzimi di fase II, responsabili della disintossicazione, principalmente una delezione nel gene della glutatione S-transferasi, che ne determina una minore attività o la completa disattivazione: ciò potrebbe favorire l'accumulo di radicali liberi e metaboliti cancerogeni [28]. Diversi studi hanno riportato una frequenza più alta di mutazioni in oncosoppressori e oncogeni tra le donne, come p53 (TP53) e V-Ki-ras2, omologo dell'oncogene virale del sarcoma di ratto di Kirsten (KRAS): questo spiega una maggiore predisposizione alle aberrazioni molecolari tra le donne come effetti dei cancerogeni del fumo di tabacco [29].

1.3.2 FAMILIARITÀ DEL CANCRO POLMONARE

Numerosi studi hanno dimostrato la presenza di familiarità per il tumore del polmone. Una metanalisi comprendente 32 studi ha rilevato un aumento del doppio del rischio di tumore polmonare negli individui con una storia familiare positiva per cancro del polmone: questo aumento del rischio associato alla storia familiare era

presente anche nei non fumatori, come dimostrato da Matakidou e colleghi [30].

Nello specifico, Cassidy e colleghi [31] hanno dimostrato un aumento significativo del rischio di tumore polmonare negli individui con una storia familiare di insorgenza precoce (prima dei 60 anni di età) di cancro del polmone.

Schwartz e colleghi hanno indagato i geni coinvolti nell'assorbimento, nel metabolismo e nell'accumulo del tabacco o di altri agenti cancerogeni nei tessuti polmonari, individuando alcuni marcatori molecolari che indicano suscettibilità genetica alle sostanze cancerogene che agiscono sui polmoni, tra cui i polimorfismi di geni che codificano enzimi coinvolti nella attivazione e coniugazione dei composti del fumo di tabacco, come il CYP1A1, la glutatione S-transferasi (GSTs), l'eossido idrolasi 1 microsomiale (mEH/EPHX1), la mieloperossidasi (MPO) e la NAD(P)H chinina ossidoreduttasi 1 (NQO1) [32].

Bailey-Wilson e colleghi [33], utilizzando metodi di family linkage, hanno riportato la prima associazione del cancro familiare del polmone con una regione sul cromosoma 6q23-25, individuando un importante locus di suscettibilità al cancro del polmone: anche una lieve esposizione al fumo aumenta notevolmente il rischio di tumore negli individui con questa predisposizione ereditaria; se alla storia familiare positiva si associa l'abitudine tabagica, l'effetto di questa ereditarietà è associato ad un aumento di 3 volte del rischio di tumore dei polmoni.

1.3.3 FATTORI VIRALI

Si è ipotizzato che l'HPV abbia un ruolo nella carcinogenesi del carcinoma polmonare: ci sono studi che hanno riportato una prevalenza di infezione da HPV nei casi di adenocarcinoma polmonare compresa tra 9%-42%, anche se altri studi indicano una percentuale inferiore [34].

1.3.4 FATTORI IMMUNITARI

Differenze tra individui nella risposta immunitaria sono state comprovate da vari studi e determinano una diversa predisposizione allo sviluppo del cancro polmonare.

La risposta immunitaria è generalmente più forte nelle donne: ciò è stato attribuito ad alcuni geni localizzati sui cromosomi sessuali e ai miRNA, che codificano per proteine coinvolte nella regolazione dell'immunità innata ed acquisita; inoltre ci sono differenze nella composizione del microbioma, nell'espressione di PD-L1

(programmed death ligand 1), ipoteticamente modulata dagli estrogeni, e nella proporzione degli infiltrati intratumorali di cellule immunitarie [35, 36]

1.3.5 ALTRE PATOLOGIE POLMONARI

Ci sono molte patologie non maligne polmonari che sono state associate ad un aumento del rischio di cancro polmonare:

- la broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO), che condivide con il tumore dei polmoni il principale fattore di rischio, cioè il fumo di sigaretta [37];
- l'enfisema [37];
- la presenza di un'ostruzione delle vie aeree, in particolare nelle donne che non hanno mai fumato [38];
- la bronchite cronica [39];
- la polmonite [40];
- la tubercolosi [40]
- numerose patologie che causano fibrosi interstiziale polmonare che sono state associate con un aumento del rischio di carcinoma polmonare, come ad esempio la fibrosi polmonare idiopatica (CFA, cryptogenic fibrosing alveolitis) [41];
- altre patologie che inducono fibrosi generalizzata come la sclerodermia [42].

1.3.6 FATTORI AMBIENTALI E DOVUTI AD ESPOSIZIONE PROFESSIONALE

Molte sostanze di origine ambientale e/o lavorativa (asbesto, radon, nichel, silicio, cromo, arsenico, berillio, cloruro di vinile, idrocarburi aromatici policiclici, clorometilene e altri), sono riconosciuti carcinogeni polmonari, che possono, come nel caso dell'amianto o del radon, potenziare il loro effetto cancerogeno in presenza di fumo di tabacco.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), attraverso l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (AIRC), ha classificato l'amianto e il radon nel Gruppo 1, gruppo in cui sono elencate le sostanze (tra cui anche il fumo di sigaretta) per le quali vi è un'evidenza sufficiente di cancerogenicità, sulla base di

studi epidemiologici condotti sull'uomo. Con amianto o asbesto si indica una classe di minerali fibrosi, costituiti da silicato idrato, presenti in natura, la cui resistenza alla trazione è ideale per una varietà di scopi, in particolare nelle costruzioni e per l'isolamento [43]. Le patologie causate dall'asbesto possono coinvolgere la pleura, il parenchima polmonare oppure entrambi [43]. Mentre lo sviluppo dell'asbestosi è direttamente associato all'intensità e alla durata dell'esposizione all'asbesto, lo sviluppo di patologie maligne da asbesto si può avere anche per esposizioni a dosi più basse e occasionali. Non è chiaro se esista un livello soglia sicuro per l'esposizione all'amianto che non aumenti il rischio di malignità [43]. Il radon provoca circa 21.000 decessi all'anno per cancro ai polmoni ed è la seconda causa più importante di tumore polmonare dopo il fumo [44]. Il radon è un gas radioattivo invisibile e inodore che risulta dal decadimento naturale dell'uranio e del toron nel suolo e nella roccia. La concentrazione del gas radon in un ambiente è variabile e dipende da due fattori: la ricchezza della fonte di radon e il grado di ventilazione dell'aria attorno alla fonte. Ci sono degli studi caso-controllo che hanno dimostrato che il rischio di cancro polmonare cresce dell'11% per ogni aumento di 100 Beq/m³ della concentrazione di radon nell'aria. Anche in questo caso, l'associazione di esposizione al radon e al fumo di sigaretta aumenta notevolmente il rischio di cancro polmonare [45, 46].

L'esposizione al particolato fine e all'inquinamento atmosferico è stata classificata dalla IARC (International Agency for the Research on Cancer) come cancerogena per l'uomo. Lo studio AHSMOG-2 ha valutato l'associazione tra polveri sottili (PM_{2.5}) e tumore polmonare in soggetti non-fumatori, identificando un aumento del rischio di insorgenza di tumore al polmone pari al 22% per ogni aumento di 10-µg/m³ di PM_{2.5} nell'ambiente [47]. L'aria ambientale, particolarmente nelle aree urbane densamente popolate, contiene una grande varietà di composti carcinogeni per l'uomo. I combustibili fossili e i derivati dalla loro combustione, utilizzati per la generazione di energia e per i trasporti, sono la fonte della maggior parte dei composti, organici ed inorganici, ossidanti e acidi che contribuiscono in modo importante all'inquinamento delle aree urbane [48].

Le particelle con diametro <10 µm (PM₁₀) sono quelle di maggiore interesse per il cancro polmonare perché possono essere inalate e quindi penetrare nei polmoni e avere qui un effetto cancerogeno. Recentemente si è cominciato a considerare come standard il PM_{2,5} (particelle con diametro <2,5 µm) [49]. Due studi di coorte hanno

suggerito che vi sia un aumento del 19% del rischio di tumore polmonare per ogni aumento di $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ nell'esposizione media a lungo termine a sostanza fine particolata [50, 51].

1.4 ADENOCARCINOMA POLMONARE

1.4.1 DEFINIZIONE E SOTTOCLASSIFICAZIONE

L'adenocarcinoma polmonare è un tumore maligno epiteliale con differenziazione ghiandolare ed eventuale produzione di mucina [52]. L'adenocarcinoma costituisce circa 50% di tutte le diagnosi di carcinoma del polmone: in molte parti del mondo, l'incidenza dell'adenocarcinoma sta aumentando costantemente rispetto all'incidenza degli altri tipi di carcinoma polmonare, che invece sta diminuendo [53]. L'incidenza è leggermente maggiore nei maschi, tuttavia si ha molto spesso nelle femmine, relativamente giovani, ed è frequente anche nei non fumatori. I sottotipi principali dell'adenocarcinoma polmonare sono: acinare, solido, lepidico, papillare, micropapillare, misto; poi l'adenocarcinoma può essere mucinoso o meno, in base appunto alla produzione di mucina [52]. Nell'ultima classificazione si è tenuto conto dell'eterogeneità dei modelli di crescita dell'adenocarcinoma invasivo del polmone con l'introduzione della sottotipizzazione secondo lo schema predominante. Questi modelli si trovano spesso in combinazione all'interno dello stesso tumore, pertanto, l'adenocarcinoma polmonare è ora classificato in base all'architettura più rappresentata nell'area della sezione trasversale di preparati istologici (cosiddetto pattern predominante) [54].

Più nello specifico, secondo la classificazione del 2015 dell'OMS, l'adenocarcinoma del polmone si può presentare come [52, 55]:

1. Lesione pre-invasiva:
 - iperplasia adenomatosa atipica;
 - adenocarcinoma in situ (<3cm) (non mucinoso, mucinoso, misto mucinoso/non mucinoso).
2. Adenocarcinoma minimamente invasivo (non mucinoso, mucinoso, misto mucinoso/non mucinoso).
3. Adenocarcinoma invasivo:
 - prevalentemente lepidico;
 - prevalentemente acinare;

- prevalentemente papillare;
 - prevalentemente micropapillare;
 - prevalentemente solido con produzione di mucina.
4. Varianti dell'adenocarcinoma invasivo:
- adenocarcinoma mucinoso invasivo;
 - adenocarcinoma colloide;
 - adenocarcinoma fetale (alto o basso grado);
 - adenocarcinoma enterico.

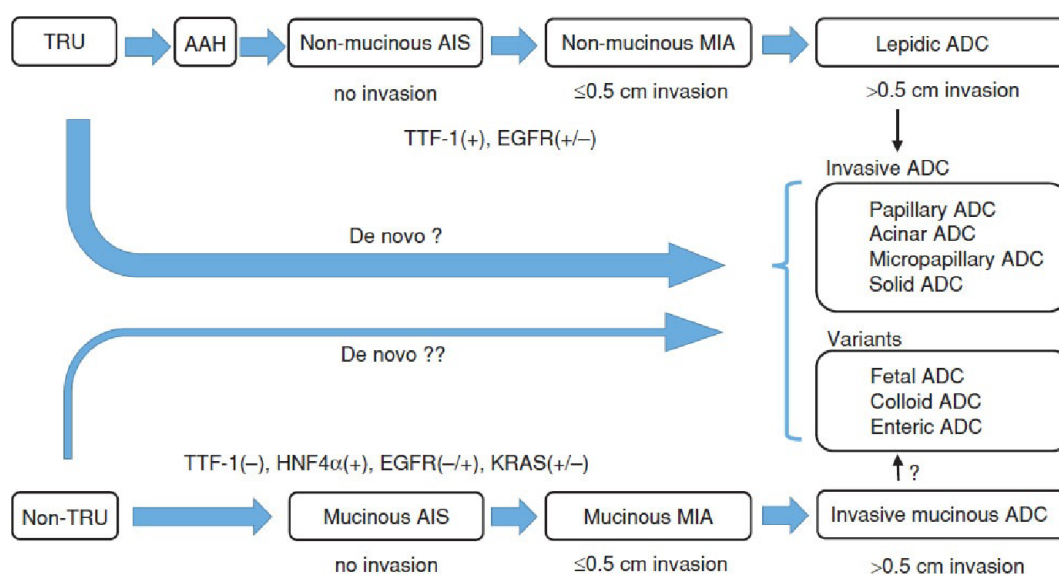


Figura 1: Tappe della progressione ad adenocarcinoma. AAH, atypical adenomatous hyperplasia; AIS, adenocarcinoma in situ; MIA, minimally invasive adenocarcinoma; ADC, adenocarcinoma; TRU, terminal respiratory unit.

1.4.2 ASPETTO MACROSCOPICO

La maggior parte degli adenocarcinomi polmonari si sviluppa in periferia, mentre solo circa il 13% sono centrali. [56].

Le caratteristiche macroscopiche della maggior parte degli adenocarcinomi periferici sono: raggrinzimento della pleura, compattezza e colorito grigio-marrone della superficie di taglio; si possono avere necrosi centrale ed emorragia, mentre le cavitazioni sono molto rare; inoltre, gli adenocarcinomi periferici possono occasionalmente diffondersi alla pleura [52]. Gli adenocarcinomi centrali spesso mostrano una crescita endobronchiale polipoide. [57]. Gli adenocarcinomi mucinosi hanno una consistenza gelatinosa. [52]. Ci sono anche casi di estesa infiltrazione carcinomatosa linfatica ed embolismo di cellule tumorali nei capillari linfatici, chiamata "linfangite carcinomatosa" [52].



Figura 2: Aspetto macroscopico dell'adenocarcinoma polmonare. A→ superficie pleurica; B→ superficie di taglio.

1.4.3 ASPETTO MICROSCOPICO

L'adenocarcinoma del polmone è solitamente composto da cellule epiteliali cuboidali o colonnari, con nuclei uniformi e rotondi e citoplasma che può essere regolare oppure vacuolizzato. Le cellule sono disposte in diversi pattern di crescita: lepidico, acinare o ghiandolare, papillare, micropapillare, solido. Come già descritto precedentemente, gli adenocarcinomi dei polmoni sono divisi in quattro categorie istologiche basate sul pattern di crescita e sull'estensione dell'area di invasione: le lesioni pre-invasive, che includono l'iperplasia adenomatosa atipica e l'adenocarcinoma in situ; l'adenocarcinoma minimamente invasivo; l'adenocarcinoma invasivo; le varianti dell'adenocarcinoma invasivo [58].

1.4.4 PROGNOSI DELL'ADENOCARCINOMA POLMONARE

Le lesioni pre-invasive, cioè l'iperplasia adenomatosa atipica e l'adenocarcinoma in situ, e l'adenocarcinoma minimamente invasivo presentano una overall survival del 100% [59].

Figura 3: Disease-free survival per i pazienti con diversi sottotipi di adenocarcinoma. I sottotipi con prognosi favorevole includono l'adenocarcinoma in situ (AIS), adenocarcinoma minimamente invasivo (MIA), adenocarcinoma lepidico (LPA), seguiti poi dall'adenocarcinoma acinare (Aci), mentre l'adenocarcinoma papillare (Pap), l'adenocarcinoma solido (solid) e l'adenocarcinoma micropapillare (MP) sono considerati avere una prognosi peggiore. [Y].

1.6 CARATTERISTICHE MOLECOLARI DEGLI ADENOCARCINOMI POLMONARI

La presenza o meno di alterazioni molecolari “driver” negli adenocarcinomi polmonari consente di distinguere la malattia oncogene-addicted dalla malattia non oncogene-addicted, le quali presentano caratteristiche ed approcci terapeutici differenti.

1.6.1 MALATTIA ONCOGENE-ADDICTED

La biologia del tumore può essere influenzata da alterazioni genetiche dei cloni cellulari, costituendone il principale “driver” oncogenetico. Queste non sono presenti in tutti gli adenocarcinomi polmonari, ma quando presenti possono essere utilizzate come target terapeutico specifico. Attualmente, le mutazioni che sono state individuate sono [70]:

- KRAS (20-30%).
- EGFR (10-15% dei pazienti caucasici e fino al 40% dei pazienti asiatici).
- BRAF (2-4%).
- ALK (3-7%).
- ROS1 (1-2%).
- RET (1-2%).
- NTRK (0.5-1%).
- HER2 (1-2%).
- MET (2-4%).

1.6.1.1 MUTAZIONI DI EGFR

Il gene EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR), anche noto come RBB, ErbB-1, HER1, è un gene localizzato sul braccio corto del cromosoma 7 (7p11.2) e codifica per il recettore del fattore di crescita epidermico (Epidermal Growth Factor, EGF), una proteina transmembrana che funge da recettore per le proteine, ligandi extracellulari, facenti parte della famiglia dei fattori di crescita epidermici

(Epidermal Growth Factor Family, EGF family) [71, 72]. L'EGFR fa parte della famiglia dei recettori ErbB, un sottogruppo di 4 recettori tirosin-chinasici: EGFR (ErbB-1), HER2/neu (ErbB-2), Her 3 (ErbB-3) and Her 4 (ErbB-4) [73]. EGFR è attivato dal legame con specifici ligandi, tra cui l'EGF (Epidermal Growth Factor) e il TGF α (Transforming Growth Factor α), che determina il passaggio del recettore dalla forma inattiva monomericamente alla forma attiva omodimerica (a volte anche eterodimerica con un altro recettore della famiglia ErbB) [74]. La dimerizzazione di EGFR stimola la sua intrinseca attività intracellulare tirosin-chinasica, determinando l'autofosforilazione dei residui tirosinici al dominio C-terminale intracitoplasmatico [75, 76]. Questa autofosforilazione provoca l'attivazione a valle di altre proteine che si associano alle tirosine fosforilate attraverso i propri domini SH2, le quali a loro volta avviano numerose cascate di trasduzione del segnale, principalmente le vie MAPK/ERK, PI3K-AKT-mTOR e JNK, che portano alla sintesi del DNA e alla proliferazione, migrazione ed adesione cellulare; inoltre mediano l'angiogenesi e l'inibizione dell'apoptosi [77].

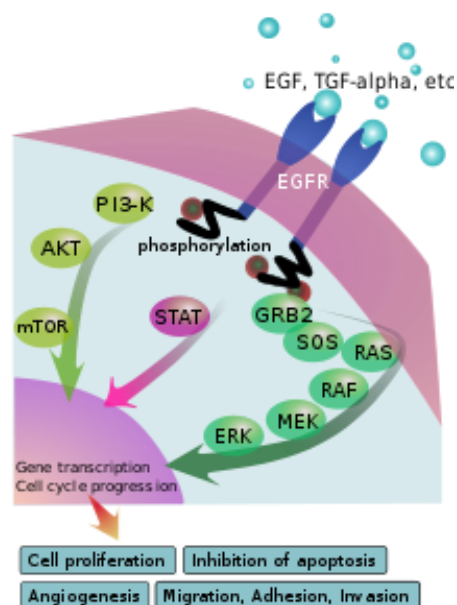


Figura 4: Cascata del signalling di EGFR.

L'espressione e overespressione di EGFR è stata riscontrata frequentemente negli adenocarcinomi polmonari. Nei NSCLCs, in particolare nell'adenocarcinoma, le mutazioni di EGFR sono limitate ai primi quattro esoni (esoni 18, 19, 20, 21) del dominio tirosin-chinasico; si tratta di tre tipi di mutazioni (delezioni, inserimenti e

mutazioni puntiformi missenso) che si raggruppano attorno alla tasca per il legame con l'ATP del TKD di EGFR, destabilizzando la conformazione inattiva e determinando un'attivazione costitutiva dell'attività tirosin-chinasica del recettore [78, 79, 80].

È noto che nell'adenocarcinoma polmonare le delezioni nell'esone 19 e le mutazioni puntiformi nell'esone 21, che determinano un'attivazione costitutiva del recettore, hanno prognosi favorevole poiché determinano responsività agli inibitori delle tirosin-chinasi; tuttavia, la prognosi di altre mutazioni non comuni non è chiara [81]. Infine, le mutazioni di EGFR si sono riscontrate più spesso in pazienti di sesso femminile con adenocarcinoma, di età relativamente giovane (<60 anni), non fumatori [82, 83].

1.6.1.2 MUTAZIONI DI KRAS

KRAS (Kirsten Rat Sarcoma Virus) è un proto-oncogene localizzato sul braccio corto del cromosoma 12 (12p12.1) e fa parte della famiglia dei geni RAS, che codificano per delle GTPasi legate alla membrana, che passano dallo stato attivo, legato alla guanosina trifosfato (GTP) allo stato inattivo, legato alla guanosina difosfato (GDP) [84].

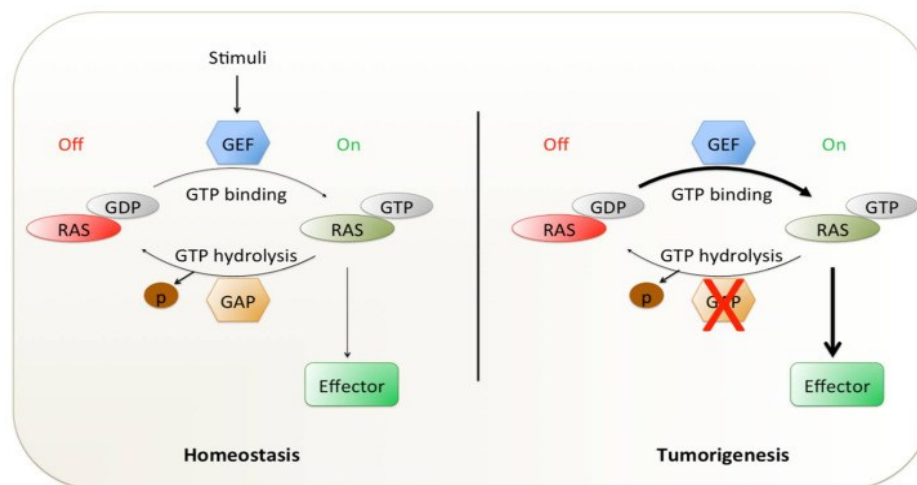


Figura 5: Meccanismo di funzionamento di RAS in condizioni di omeostasi e di tumorigenesi.

L'attivazione della segnalazione RAS è strettamente controllata dai fattori regolatori che promuovono lo scambio GDP-GTP (fattori di scambio dei nucleotidi guaninici; GEF) o influenzano la sua attività GTPasica (proteine attivanti la GTPasi; GAP). GEF e GAP si legano a una o entrambe le tasche di legame su RAS (note come regioni switch I e switch II) [85, 86].

Questo processo collega i recettori della superficie cellulare a monte come EGFR, il recettore del fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR) e i recettori del fattore di crescita epidermico umano 2–4 (HER2–4/ERBB2–4) alle vie a valle (RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR e RALGDS-RA) che promuovono vari processi: proliferazione cellulare, differenziazione ed inibizione dell'apoptosi. Le mutazioni oncogeniche nelle proteine RAS compromettono la loro capacità di idrolisi GTP, con conseguente accumulo di RAS attivo legato a GTP (Figura 1) e iperattivazione delle cascate di segnalazione a valle che portano alla proliferazione e sopravvivenza cellulare incontrollate [87; 88; 89, 90, 91, 92].

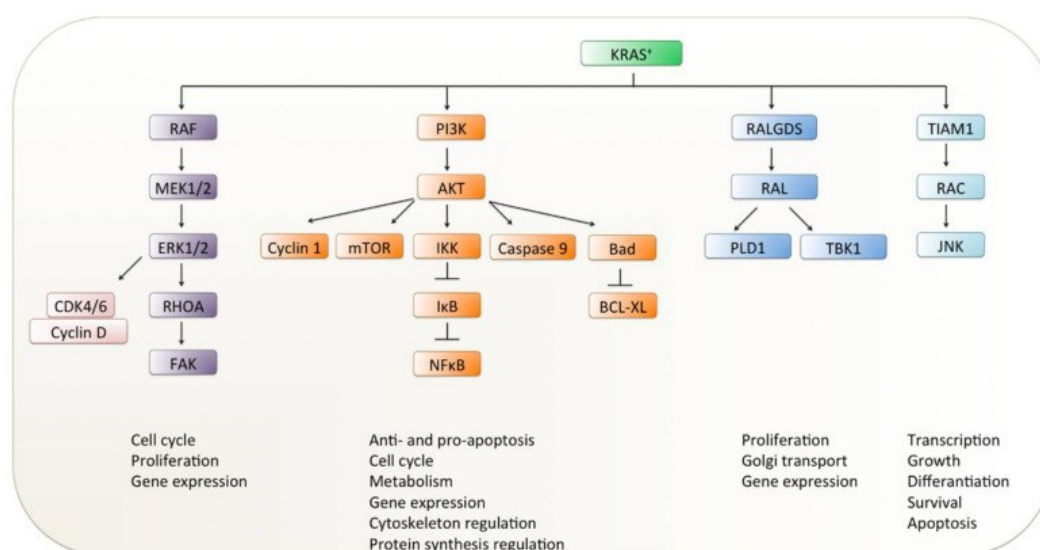


Figura 6: Effettori delle cascate di signalling attivate da KRAS.

Nei NSCLCs, le mutazioni di KRAS sono presenti in circa un terzo dei casi; la maggior parte delle mutazioni di KRAS si trovano nei codoni 12 e 13 (raramente nel codone 61) e includono G12C, G12V e G12D: queste mutazioni provocano la perdita dell'attività intrinseca della GTPasi, la persistenza del legame a GTP e, di conseguenza, la disregolazione dei segnali di proliferazione cellulare [93, 94, 95]. Le mutazioni di KRAS sono più frequenti nelle popolazioni dei Paesi Occidentali (23-33% dei casi) e nei fumatori da lungo tempo (20-44%) rispetto ai non fumatori (6-10%) [96]. Le mutazioni di transizione di KRAS (G→A) sono più comuni nei pazienti con adenocarcinoma e senza storia di fumo, mentre le mutazioni di trasversione (G→T o G→C) sono

associati all'esposizione al tabacco. Questa osservazione suggerisce che la mutazione KRAS nei NSCLCs dei non fumatori potrebbe non essere causato dall'esposizione al fumo passivo [97]. Le mutazioni di KRAS non sembrano avere alcuna predilezione per sesso o età, anche se è stato segnalato che le giovani donne mostrano una maggiore suscettibilità alla mutazione di trasversione G12C. Questa mutazione è la singola mutazione più frequente tra i fumatori, suggerendo una maggiore suscettibilità alla cancerogenesi del tabacco nelle donne rispetto agli uomini [98]. L'impatto prognostico delle mutazioni di KRAS nel NSCLC non è chiaro. Diversi studi e metanalisi hanno dimostrato che i tumori che presentano mutazioni clonali di KRAS hanno una prognosi peggiore e una risposta ridotta o assente ai TKI dell'EGFR [99, 100, 101].

1.6.1.3 MUTAZIONI DI ALK

ALK è un gene costituito da 30 esoni, localizzato sul braccio lungo del cromosoma 2 (2p23.2–p23.1) e codifica per la chinasi del linfoma anaplastico (ALK dall'inglese Anaplastic Lymphoma Kinase), conosciuta anche come recettore tirosin-chinasico ALK (ALK tyrosine kinase receptor) o CD246, che è un recettore tirosin chinasico transmembrana che appartiene alla superfamiglia dei recettori tirosin chinasicici insulinici [102]. ALK svolge un ruolo essenziale nello sviluppo del cervello, ma è anche espresso in cellule differenziate come neuroni e cellule gliali. Il legame di questo recettore con i propri ligandi porta all'attivazione della cascate di signalling di MAPK, PI3K/mTOR, JAK-STAT: in condizioni di iperattivazione, l'attività di queste vie porta ad un aumento della proliferazione e del metabolismo cellulare, alla migrazione, sopravvivenza e prevenzione dell'apoptosi [103]. Negli adenocarcinomi ALK può essere mutato: in particolare si possono verificare riarrangiamenti cromosomici, con traslocazioni e fusioni con altri geni (in particolare EML4) che determinano un'iperattivazione del recettore tirosin chinasico [104]. La maggior parte delle alterazioni sono riarrangiamenti cromosomici che provocano la formazione di geni di fusione attraverso piccole inversioni all'interno del cromosoma 2. I punti di interruzione per le traslocazioni dei geni ALK sono tipicamente situati tra gli esoni 19–20 o tra gli esoni 20–21

[105]. Diverse varianti di fusione EML4-ALK sono state identificate; differiscono nel punto di rottura tra i due geni [106]. I geni con cui più raramente si fonde ALK nei NSCLCs sono: TFG, KIF5B, KLC1, STRN, TPR, HIP1, GCC2, DCTN1, SQSTM1, LMO7, BIRC6, PHACTR1 e PTPN3 [107, 108].

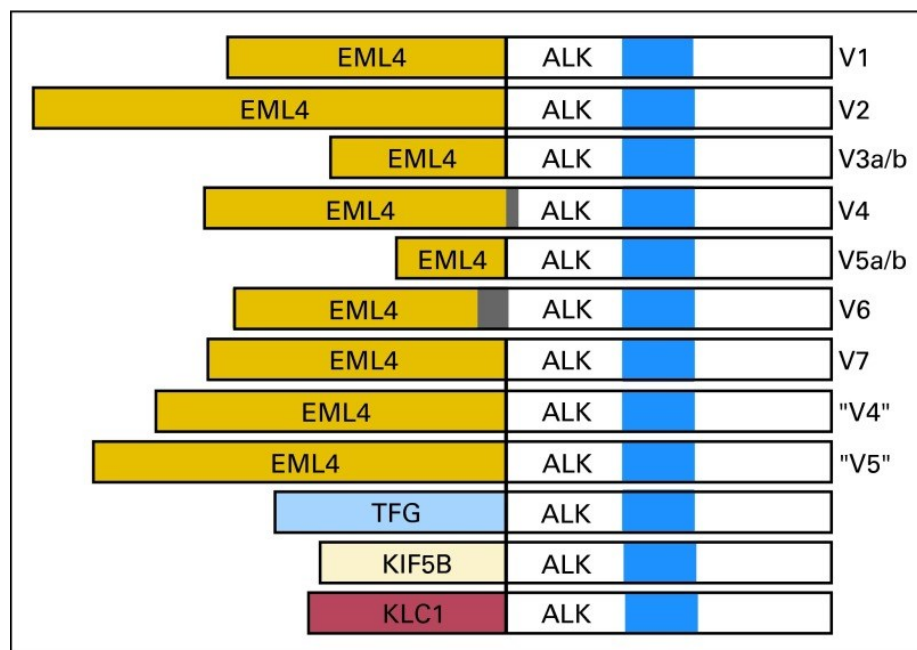


Figura 7: Principali riarrangiamenti genici di ALK.

I ligandi di ALK sono stati identificati nel 2014: FAM150A (AUG β) e FAM150B (AUG α), due piccoli peptidi secreti che attivano fortemente la segnalazione di ALK [109, 110]. Le traslocazioni ALK sono state riscontrate più frequentemente nei pazienti con adenocarcinoma a pattern prevalentemente solido, con età compresa tra la quarta e quinta decade di vita, con anche mutazioni di EGFR, non fumatori oppure fumatori occasionali. È stato dimostrato che i NSCLC ALK-positivi hanno un comportamento clinico altamente aggressivo e la tendenza a trovarsi in uno stadio clinico più avanzato alla diagnosi rispetto a pazienti con il gene wild-type [111, 112, 113]. Numerosi studi hanno dimostrato che la presenza di riarrangiamenti di ALK è un fattore predittivo di risposta ai trattamenti con TKI [114].

1.6.1.4 MUTAZIONI DI ROS1

ROS1 è un proto-oncogene, localizzato sul cromosoma 6 (6q22.1) [115] e codifica per un recettore transmembrana con un dominio tirosin-chinasico C-terminale

intracellulare [116]. ROS1 presenta molte somiglianze strutturali e funzionali con ALK [117]. ROS1 è un recettore tirosin chinasi orfano, poiché non ne sono ancora stati identificati i ligandi; di conseguenza, poco si sa sulla sua funzione: sappiamo che attiva una cascata di signalling intracellulare, per portare informazioni al nucleo [118]. La disregolazione dell'attività della chinasi ROS1 attraverso l'acquisizione di alcune fusioni geniche porta all'attivazione delle cascate di signalling di vie oncogeniche come PI3K-Akt, mTOR, RAS-MAPK/ERK, VAV3, SHP-1 e SHP-2, che influiscono in modo variabile sulla differenziazione, proliferazione, crescita e sopravvivenza della cellula [116, 118, 119, 120].

Le fusioni del gene ROS1 con altri geni, tramite traslocazioni cromosomiche, sono state identificate per la prima volta nella linea cellulare di glioblastoma umano U-118 MGROS1 e, successivamente, nel cancro del polmone nel 2007 [121]. La loro frequenza complessiva nei NSCLCs varia dallo 0,9% al 2,6%, con tassi simili in Asia, Europa e Nord America e una prevalenza mondiale stimata nell'1,9% [122]. Finora, diversi modelli di fusione sono stati descritti. CD74-ROS1 è stato il primo riarrangiamento ROS1 identificato in NSCLC ed è di gran lunga il più frequentemente riportato, costituito dal 32% di tutte le fusioni di ROS1 [122, 123]. Altre traslocazioni comuni includono SLC34A2-ROS1 (~ 17%), tropomiosina 3 (TPM3-ROS1; ~15%), syndecan 4 (SDC4-ROS1; ~11%), ezrin (EZR-ROS1; ~6%) e FIG-ROS1 (~3%) [119, 124]. Dal punto di vista epidemiologico, ROS1 è più frequente negli individui relativamente più giovani, nelle femmine e nei non fumatori; inoltre, si trovano spesso riarrangiamenti di ROS1 negli stadi più avanzati degli NSCLCs e, tra i vari istotipi degli NSCLCs, è più frequente nell'adenocarcinoma [124]. I pazienti con NSCLCs con mutazioni di ROS1 generalmente sviluppano una resistenza nei confronti dei TKIs [122].

1.6.2 MALATTIA NON ONCOGENE-ADDICTED

Gli NSCLCs non oncogene-addicted non presentano mutazioni oncogenetiche clonali “driver” suscettibili di terapie a bersaglio molecolare, però spesso esprimono PD-L1.

1.6.2.1 ESPRESSIONE DI PD-L1

PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1), detto anche CD274 (Cluster of Differentiation 274) oppure B7-H1 (B7 homolog 1) è una proteina transmembrana

codificata dal gene CD274, la quale svolge un ruolo nella risposta immunitaria acquisita: il legame di PD-L1 al suo recettore PD-1 sui linfociti T trasmette un segnale che inibisce la produzione di IL-2 e la proliferazione dei linfociti, i quali sono processi mediati dal TCR, portando così ad un'inibizione della risposta immunitaria [125].

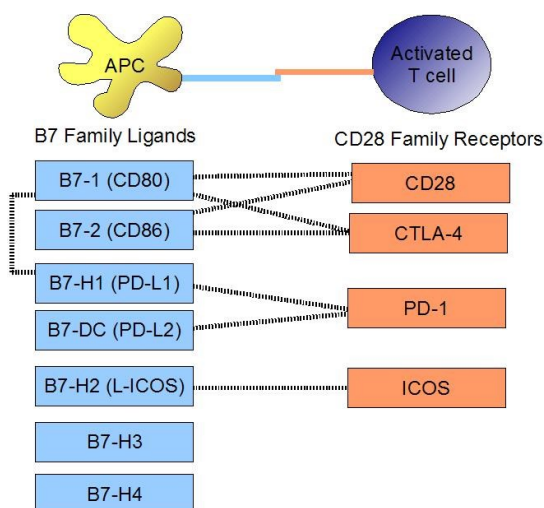


Figura 8: Schema rappresentativo della famiglia dei ligandi B7 e della famiglia dei recettori CD28.

Fisiologicamente PDL1 è espresso sotto stimolazione da parte dell'interferone gamma ($\text{IFN-}\gamma$) dai linfociti T e B, dalle cellule NK, dai macrofagi, dalle cellule dendritiche mieloidi, dalle cellule epiteliali, dalle cellule endoteliali vascolari; infatti, il gene che codifica per PDL1 presenta nella regione del promotore un IRF-1 (Interferon Regulatory Factor), che quando si lega all'interferone attiva la trascrizione. Spesso PD-L1 è espresso costitutivamente nelle cellule tumorali perché conferisce un vantaggio selettivo ai cloni che lo esprimono, in quanto, sopprimendo la reazione immunitaria contro le cellule tumorali, ne permette la proliferazione [126, 127].

Numerosi studi hanno dimostrato la presenza di un'alta espressione di PD-L1 nei NSCLCs [128] e hanno riportato per ogni tipo istologico le percentuali di frequenza di espressione di PD-L1. Janzic et al. hanno riferito che i casi PD-L1-positivi ($\text{TPS} \geq 5\%$) erano più frequenti nel carcinoma squamoso (52%) rispetto all'adenocarcinoma (17%) [129]. Scheel et al., esaminando campioni istologici provenienti da pazienti con NSCLC, hanno rilevato che i casi positivi per PD-L1 ($\text{TPS} \geq 1\%$) erano 34% tra i carcinomi squamosi e 34% negli adenocarcinomi, indicando nessuna differenza tra i due tipi istologici [130].

Una metanalisi di Zhang et al. ha dimostrato che l'espressione di PD-L1 nei NSCLCs è più alta nei maschi, nei fumatori, nell'istotipo squamoso e nei tumori con: alto grado istologico, dimensioni maggiori, linfonodi positivi per metastasi e in generale stadio avanzato; tutti i fattori associati a progressione tumorale sono stati osservati essere correlati ad un'espressione più elevata di PD-L1 [131]. Inoltre, in un altro studio, è stato dimostrato che PD-L1 è un predittore indipendente di bassa OS (Overall Survival) negli adenocarcinomi [132]. L'up-regolazione di PD-L1 nei NSCLCs lo rendono un bersaglio terapeutico, in particolare sono stati sviluppati dei farmaci immunoterapici inibitori di PD-L1, che stanno mostrando ottimi risultati [133].

1.7 ITER DIAGNOSTICO/STADIATIVO DELLE NEOPLASIE POLMONARI

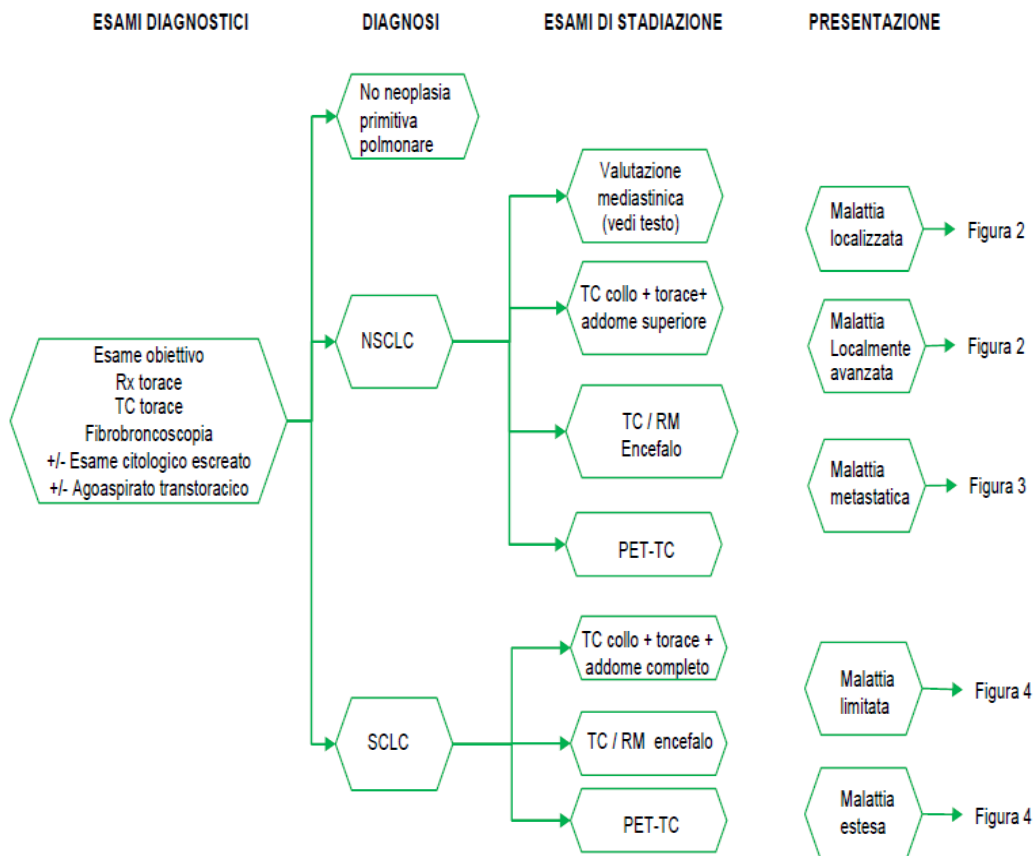


Figura 9: Diagramma dell'iter diagnostico per le neoplasie polmonari. (Linee Guida AIOM 2021).

La clinica di presentazione del carcinoma polmonare è spesso silente negli stadi iniziali, ed i sintomi compaiono solo tardivamente, quando la malattia è in stadio avanzato. In questi casi il paziente può presentare:

- tosse persistente;
- infezione polmonare refrattaria alla terapia medica;
- crescente mancanza di fiato o “fame d’aria”;
- tracce di sangue nell’espettorato;
- voce rauca;
- dolore toracico sordo o acuto avvertito quando si tossisce o si respira profondamente;
- perdita dell’appetito e calo di peso;
- difficoltà a deglutire;
- stanchezza e sonnolenza eccessive.

Il processo diagnostico si avvale della clinica, ma necessita di tecniche di imaging avanzato per permettere il prosieguo dell’iter diagnostico-terapeutico.

La maggior parte dei pazienti si presenta alla diagnosi con uno o più noduli polmonari solitari, che solitamente sono riscontrati nel contesto di valutazioni preoperatorie o di controlli di routine, quindi incidentalmente [134]. Una volta riscontrato il nodulo, è fondamentale appurare la situazione clinica complessiva del paziente, mediante ulteriori accertamenti volti a escludere eventuali secondarismi. A questo scopo viene eseguita una TC dell’addome superiore e della regione cervicale inferiore, che esplorano fegato, surreni e linfonodi sovraclaveari, sedi frequenti di metastasi. La presenza o assenza di ulteriori lesioni, come della lesione principale, necessita di un ulteriore esame, la tomografia ad emissione di positroni con 18-fluorodesossiglucosio associata alla TC, o PET-TC, che utilizza come marcatore il ^{18}F -FDG [135] [136].

Approssimativamente, per pazienti dai 35 anni in su, la presenza di un nodulo polmonare è correlabile a patologia maligna in un caso su tre [137].

Qualora emergano dubbi sul coinvolgimento metastatico delle diverse strutture, si deve procedere ove possibile a campionamento bioptico della lesione o delle eventuali sedi di secondarismo. In certi casi, suffragati da ragionevole dubbio, può essere indicata l’asportazione della lesione primitiva polmonare, seguita dall’analisi istologica intraoperatoria del pezzo, che dirime in modo conclusivo la natura della lesione (diagnosi intraoperatoria).

1.7.1 TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA (TC)

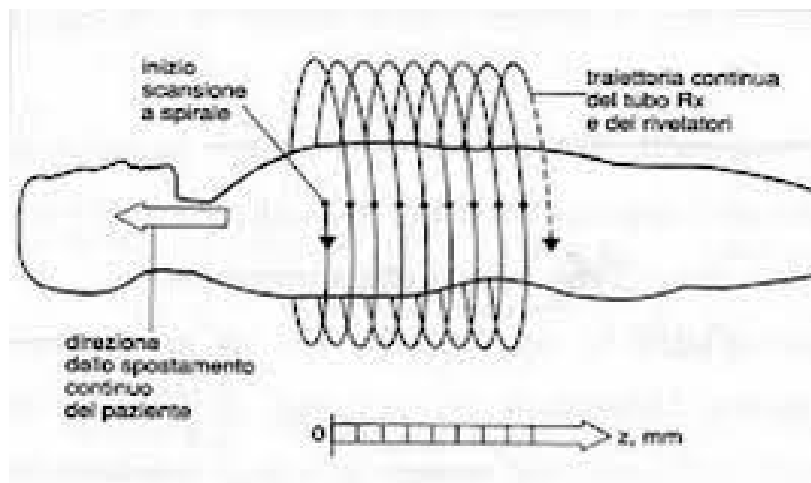


Figura 10: Principio della TC spirale. Il lettino del paziente viene spostato attraverso il gantry mentre la rotazione e la raccolta dei dati continuano; le sezioni corporee nelle varie posizioni possono essere ricostruite a partire da questi dati.

La TC (Tomografia Computerizzata) spirale è una procedura diagnostica di radiologia e consiste in una specifica applicazione dei raggi X: c'è uno strumento emettitore di un fascio di raggi X, il quale ruota attorno al paziente, e un rivelatore, al lato opposto, che rileva le radiazioni dopo che hanno attraversato il corpo del paziente; il lettino del paziente scorre con una velocità determinata all'interno di un tunnel di scansione, presentando ad ogni giro dell'emettitore e del rivelatore una sezione diversa del corpo. Tramite una valutazione statistico-matematica dell'assorbimento dei raggi X da parte delle strutture corporee esaminate, si ottengono immagini di sezioni assiali del corpo umano. La TC fornisce molteplici immagini di sezioni trasversali del torace, dello spessore di 10 mm e quindi visualizza le strutture intratoraciche e le anomalie in modo più dettagliato di una RX torace standard [138].

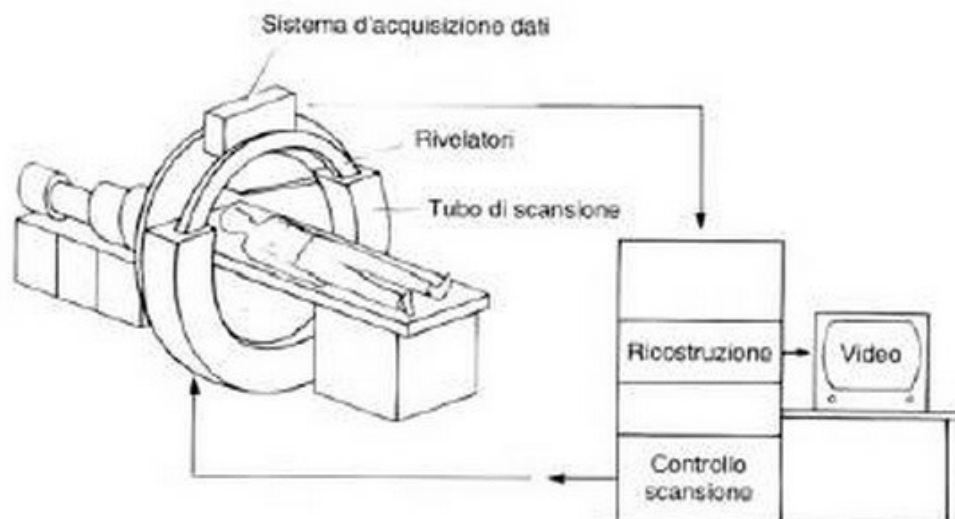


Figura 11: Strutture che compongono il macchinario della TC.

Le strutture componenti la tomografia computerizzata sono:

- l'unità di scansione a forma di grande ciambella, chiamata *gantry*, costituita dal tubo di scansione, con l'emettitore di raggi X, e i rivelatori;
- il generatore di raggi X;
- il supporto su cui posizionare il paziente (in genere, è un lettino scorrevole);
- un elaboratore elettronico (computer);
- una *console* di comando per la visualizzazione delle immagini tridimensionali;
- un sistema di acquisizione dei dati;
- un monitor che mostra i risultati delle scansioni.

Lo studio con la TC, a seconda dei distretti corporei e degli organi da valutare, può essere implementato con l'infusione di mezzo di contrasto endovenoso (iodio, bario, gadolinio), che consente una migliore differenziazione di strutture con densità simile, per evidenziare con maggiori dettagli vasi sanguigni, linfonodi e parenchimi, oppure la valutazione della stessa struttura in tempi diversi [138]. La TC con mezzo di contrasto è l'esame di scelta per la stadiazione, poiché è in grado di fornire informazioni adeguate per la definizione iniziale dei parametri T, N ed M [136, 139].

Le caratteristiche della lesione da valutare alla TC nel caso di sospetto di neoplasia polmonare sono:

- dimensioni: maggiori sono, più alta è la probabilità di malignità;
- forma: l'irregolarità del profilo è associata a malignità;
- densità (e conseguente omogeneità/disomogeneità): varia da lesioni solide a neoformazioni a “vetro smerigliato” o parzialmente solide;
- accrescimento nel tempo: se è presente, è indice di malignità.

La TC presenta un'alta sensibilità (attorno al 97%) e una specificità relativamente bassa (circa 78%) nel diagnosticare un cancro polmonare.

La relativa alta frequenza di falsi positivi alla TC richiede talvolta un ulteriore accertamento con ecografia e/o con risonanza magnetica (RM) e, qualora il dubbio persista, una verifica istologica.

I falsi negativi alla valutazione TC sono solitamente correlati alla presenza di micrometastasi in linfonodi di dimensioni normali, mentre i falsi positivi sono spesso causati da processi broncopneumonici in corso o comunque recenti e/o da patologie linfonodali non neoplastiche (es. reazioni granulomatose simil-sarcoidee) [140].

1.7.2 TOMOGRAFIA A EMISSIONE DI POSITRONI (PET) E PET-TC

La PET (tomografia a emissione di positroni, "*Positron Emission Tomography*") è una tecnica diagnostica di medicina nucleare. Si tratta di una modalità di imaging funzionale che permette di misurare la concentrazione locale di un radiofarmaco che, nel processo di decadimento, emette positroni, cioè particelle β^+ .

L'esame prevede la somministrazione per via endovenosa di una certa quantità di radiofarmaco, che in genere è una molecola fisiologicamente presente nell'organismo (ad esempio, il glucosio) coniugata ad una molecola radioattiva (come il fluoro 18 nel caso del glucosio, costituendo il 2-[18F]fluoro-2-deossi-D-glucosio); una volta in circolo, il tracciante radioattivo, decadendo, emette positroni [141]. L'emissione di positroni (β^+), particelle cariche positivamente ed altamente instabili, determina la loro interazione con elettroni, generando due fotoni di energia caratteristica (0.511 MeV) che si propagano simultaneamente in direzioni opposte a 180° (radiazione di annichilazione), processo che libera radiazioni gamma, rilevate dalla PET. La localizzazione delle coordinate spaziali di tale evento è

possibile mediante rivelatori accoppiati posizionati a 180° l'uno dall'altro, i quali ricostruiscono l'immagine della distribuzione corporea del radiofarmaco somministrato per via endovenosa ai pazienti [142]. Nel caso di utilizzo di FDG, l'esame deve essere preceduto da un digiuno di almeno 4 ore, per evitare la competizione tra il glucosio immesso in circolo dalla digestione e quello marcato radioattivamente [143].

Il principale radiofarmaco è il 2-fluoro-2-deossiglucosio marcato con ¹⁸Fuoro (¹⁸F-FDG), analogo del glucosio, che entra nella via glicolitica, venendo captato tramite proteine di trasporto del glucosio (GLUT1), poi fosforilato nelle posizioni 4,5 e metabolicamente intrappolato nelle cellule e non più ulteriormente metabolizzato per la presenza di un atomo di fluoro in posizione C2 [144, 145].

La tomografia ad emissione di positroni (PET) con fluorodesossiglucosio (FDG) è una metodica di imaging che permette di visualizzare aree metabolicamente attive e viene impiegata principalmente nella diagnostica oncologica per la stadiazione, la valutazione della presenza di malattia dopo trattamenti chirurgici, chemio e radioterapici e il follow up [142]. La tecnica di imaging con la PET FDG sfrutta l'aumento dell'accumulo di ¹⁸F-FDG (2-18-fluoro-2-deossi-D-glucosio) nelle cellule maligne trasformate, in conseguenza del loro metabolismo aumentato: le cellule tumorali, infatti, hanno una più alta espressione sia dei trasportatori del glucosio GLUT1 e GLUT3 che delle esochinasi; inoltre, presentano una downregolazione dell'enzima glucosio-6-fosfatasi [146].

La radiografia del torace e la TC danno informazioni anatomiche e morfologiche, ma non permettono di caratterizzare le lesioni come benigne oppure maligne, cosa che invece fa la PET. La PET ha una sensibilità del 95% nel rilevare formazioni neoplastiche nei pazienti che hanno lesioni indeterminate alla TC, mentre la specificità è dell'85%, leggermente inferiore alla sensibilità perché alcuni processi infiammatori, come infezioni granulomatose attive, possono accumulare FDG. La PET total-body permette di individuare la malattia metastatica, che non viene rilevata dalle tecniche di imaging convenzionale, e di dimostrare che alcune anomalie riscontrate alla TC sono semplicemente lesioni benigne [141].

Una stima semiquantitativa del consumo lesionale di ¹⁸F-FDG viene eseguita mediante il calcolo dello "Standardized Uptake Value" (SUV), espresso dalla seguente formula:

$$SUV(t) = \frac{c_{img}(t)}{ID/BW}$$

Questo valore esprime il rapporto tra: al numeratore la radioattività misurata da un'immagine acquisita all'istante t , espressa come concentrazione su volume (MBq/mL), e al denominatore il rapporto tra ID, cioè la dose di radiofarmaco iniettata a $t=0$ (espressa in MBq) e il peso corporeo BW (attorno al momento dell'acquisizione dell'immagine) convertito in volume corporeo assumendo una densità di massa media di 1 g/mL [147].

Il Becquerel [Bq] è un'unità di misura del Sistema Internazionale per misurare l'attività di un radionuclide ovvero il numero di decadimenti che avvengono in 1 secondo in un materiale. 1 Bq è definito come l'attività di un radionuclide che ha un decadimento al secondo.

Il tomografo PET può essere equipaggiato con una TC (Tomografia Computerizzata), ottenendo un sistema ibrido PET/TC, che permette di acquisire simultaneamente nello stesso paziente immagini di emissione (PET) ed immagini di trasmissione (TC) e di fonderle. Utilizzando tali sistemi ibridi è possibile localizzare anatomicamente la sede di accumulo del radiofarmaco, rendendo più agevole l'interpretazione delle immagini [148, 149].

1.7.3 CLASSIFICAZIONE TNM

La stadiazione del carcinoma polmonare secondo il sistema TNM si utilizza per definire l'estensione anatomica della malattia neoplastica, ricorrendo alla valutazione di tre parametri quali l'estensione del tumore primario (fattore T), il coinvolgimento linfonodale (fattore N) e la presenza di eventuali metastasi a distanza (fattore M). Tale sistema di classificazione viene applicato nella pratica clinica per stimare la prognosi e per definire la strategia di trattamento più adeguata nel singolo paziente, ed è stato aggiornato alla VIII edizione nel 2017 [150, 151, 152, 153, 154].

TNM VIII Edizione (Classificazione clinica)	
T – tumore primitivo	
Tx	Il tumore primitivo non può essere definito, oppure ne è provata l'esistenza per la presenza di cellule tumorali nell'escreato o nel liquido di lavaggio bronchiale, ma non è visualizzato con le tecniche per immagini o con la broncoscopia

T0	Assenza di evidenza del tumore primitivo
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumore di 3 cm o meno nella sua dimensione massima, circondato da polmone o da pleura viscerale, e alla broncoscopia non si rilevano segni di invasione più prossimale del bronco lobare (bronco principale non interessato da malattia)
T1a(mi)	Adenocarcinoma minimamente invasivo
T1a	Tumore non superiore a 1 cm nella dimensione maggiore
T1b	Tumore superiore a 1 cm ma non superiore a 2 cm nella dimensione maggiore
T1c	Tumore superiore a 2 cm ma non superiore a 3 cm nella dimensione maggiore
T2	Tumore superiore a 3 centimetri ma non superiore a 5 cm, o tumore con una qualunque delle seguenti caratteristiche: Interessamento del bronco principale indipendentemente dalla distanza dalla carena ma senza coinvolgimento della carena. Invasione della pleura viscerale. Associazione ad atelettasia o polmonite ostruttiva che si estende alla regione ilare, che coinvolge in parte o tutto il polmone.
T2a	Tumore superiore a 3 cm ma non superiore a 4 cm nel diametro maggiore
T2b	Tumore superiore a 4 cm ma non superiore a 5 cm nel diametro maggiore
T3	Tumore superiore a 5 cm ma non superiore a 7 cm nel diametro maggiore o associato a nodulo(i) neoplastici separati nello stesso lobo del tumore primitivo o che invade direttamente una delle seguenti strutture: parete toracica (inclusa la pleura parietale ed i tumori del solco superiore), nervo frenico, pericardio parietale
T4	Tumore superiore a 7 cm nel diametro maggiore o associato a nodulo(i) separato(i) in un lobo ipsilaterale, ma differente rispetto al lobo del tumore primitivo o che invade direttamente una delle seguenti strutture: diaframma, mediastino, cuore, grandi vasi, trachea, nervo laringeo ricorrente, esofago, corpo vertebrale, carena
N – linfonodi loco-regionali	
NX	I linfonodi regionali non possono essere valutati
N0	Assenza di metastasi nei linfonodi regionali
N1	Metastasi nei linfonodi peribronchiali e/o ilari ipsilaterali e intrapolmonari, incluso il coinvolgimento per estensione diretta
N2	Metastasi nei linfonodi mediastinici e/o sottocarenali ipsilaterali
N3	Metastasi nei linfonodi mediastinici controlaterali, ilari controlaterali, scaleni o sovraclaveari ipsi- o contro-laterali
M – metastasi a distanza	
M0	Assenza di metastasi a distanza

M1a	Noduli tumorali in un lobo controlaterale rispetto al tumore primitivo; tumore con noduli pleurici/pericardici o versamento neoplastico pleurico o pericardico
M1b	Singola metastasi extratoracica
M1c	Multiple metastasi extratoraciche in uno o più organi

Raggruppamento in stadi VIII edizione

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

Tabelle: TNM Lung VIII ed

1.8 TRATTAMENTO NSCLC NON METASTATICO

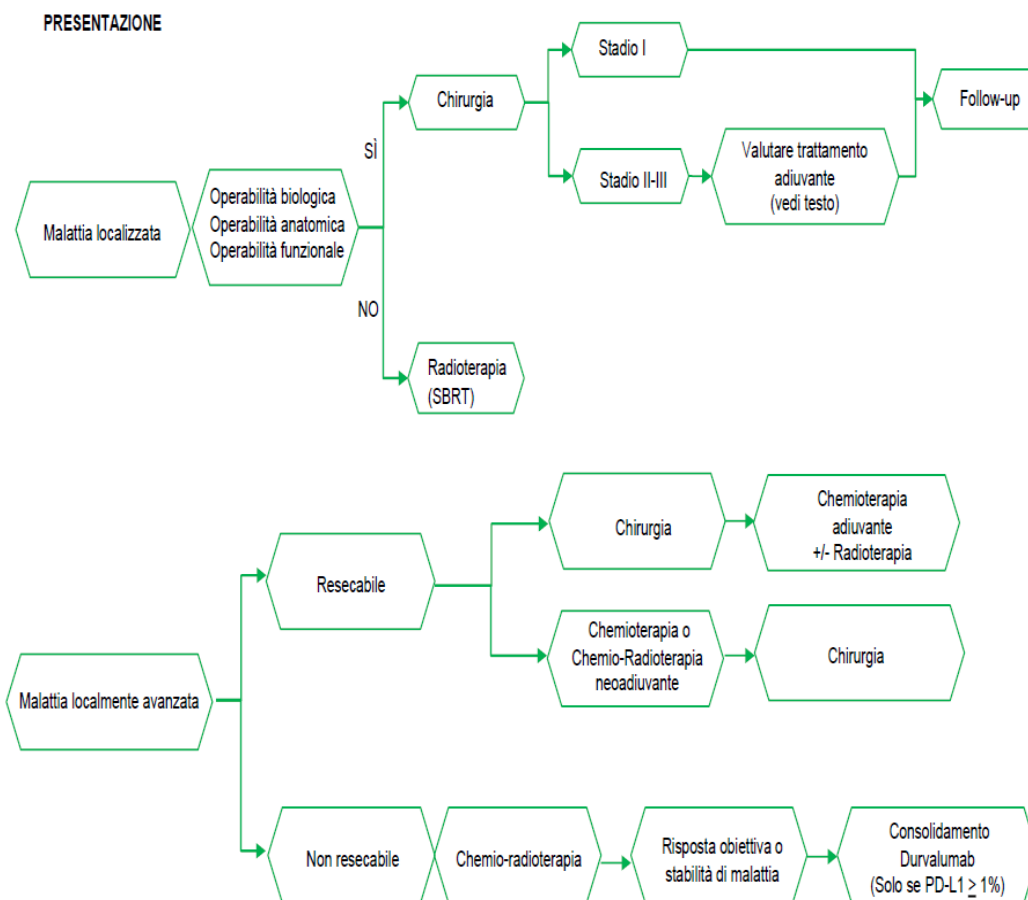


Figura 12: Diagramma che illustra il trattamento degli NSCLCs non metastatici.

1.8.1 APPROCCIO CHIRURGICO

La chirurgia con intento radicale è il trattamento di scelta nei pazienti con carcinoma polmonare in stadio precoce, con malattia localizzata oppure localmente avanzata ma resecabile, in particolare negli NSCLCs in stadio I, II e in alcuni pazienti selezionati in stadio IIIA/IIIB (T1-T3, N2 singola stazione, non-bulky cioè masse linfonodali <10cm, valutati nell'ambito di gruppi multidisciplinari).

I criteri di operabilità sono:

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

Viene pertanto definito:

- operabile: un individuo affetto da una malattia resecabile e presumibilmente

in grado di tollerare il trauma chirurgico necessario;

- resecabile: una malattia che può essere completamente asportata mediante un intervento chirurgico;
- curativo: un intervento potenzialmente in grado di guarire la malattia.

Andrebbero eseguiti solo gli interventi resettivi con intento curativo, ovvero caratterizzati da: exeresi del tumore con margine di tessuto sano circostante, accertato istologicamente; assenza di residui neoplastici sulla rima di sezione; asportazione delle stazioni linfatiche loco-regionali [155].

1.8.1.1 CENNI DI ANATOMIA POLMONARE FUNZIONALI ALLA CHIRURGIA DEI TUMORI POLMONARI

I polmoni, destro e sinistro, sono posizionati all'interno della gabbia toracica e ciascuno di essi ha forma conica. Nel maschio adulto pesano, in media, 680 g il polmone destro e 620 g il polmone sinistro e, in distensione, hanno diametro verticale massimo di 25–26 cm, diametro sagittale alla base di 16 cm, diametro trasverso alla base di 10–11 cm a destra e 7–8 cm a sinistra, per un volume totale di 1600 cm³. Nella femmina adulta pesano circa 625-650 g il polmone destro e 580-600 g il polmone sinistro; per quanto riguarda le dimensioni, in distensione si hanno 22-23 cm di diametro massimo verticale, diametro sagittale alla base di 12-13 cm, diametro trasverso alla base di 8-9 cm a destra e 6-7 cm a sinistra, per un volume totale di 1300 cm³ [156].

I polmoni sono suddivisi in lobi, due nel polmone sinistro e tre in quello destro, i quali sono strutture indipendenti sia dal punto di vista anatomico che funzionale, possedendo vascolarizzazione e ventilazione proprie. I lobi polmonari sono separati da scissure: nel polmone sinistro è presente solo una scissura, la scissura principale, che lo divide in due lobi, superiore e inferiore; nel polmone destro, invece, le scissure sono due, cioè la scissura principale (o scissura obliqua) e la scissura secondaria (o orizzontale), che lo dividono in lobo superiore, medio, inferiore. I lobi sono ventilati dai bronchi di primo ordine o bronchi lobari, rami diretti del bronco principale; esistono, quindi, tre bronchi lobari destri e 2 bronchi lobari sinistri [157]. All'interno dei lobi polmonari si possono individuare i segmenti polmonari, delimitati da setti di tessuto connettivo; sono indipendenti rispetto alle parti vicine per la presenza di un ramo dell'arteria polmonare, di un bronco (di secondo ordine/segmentale) e di una rete venosa. I segmenti sono 10 e sono

importanti nella chirurgia, poiché l'individuazione di zone ancora più piccole, indipendenti per irrorazione sanguigna e ventilazione, permette, in caso di asportazioni, di sacrificare il meno possibile del polmone e limitare la perdita di superficie respiratoria funzionale [158].

Le pleure sono membrane sierose che avvolgono separatamente ciascun polmone. Ciascuna pleura si compone di due foglietti, uno viscerale interno e uno parietale esterno, che si continuano l'uno nell'altro a livello dell'ilo polmonare, formando la cavità pleurica, chiusa, all'interno della quale si formano dei recessi, i seni pleurici, che contengono il liquido pleurico [159]

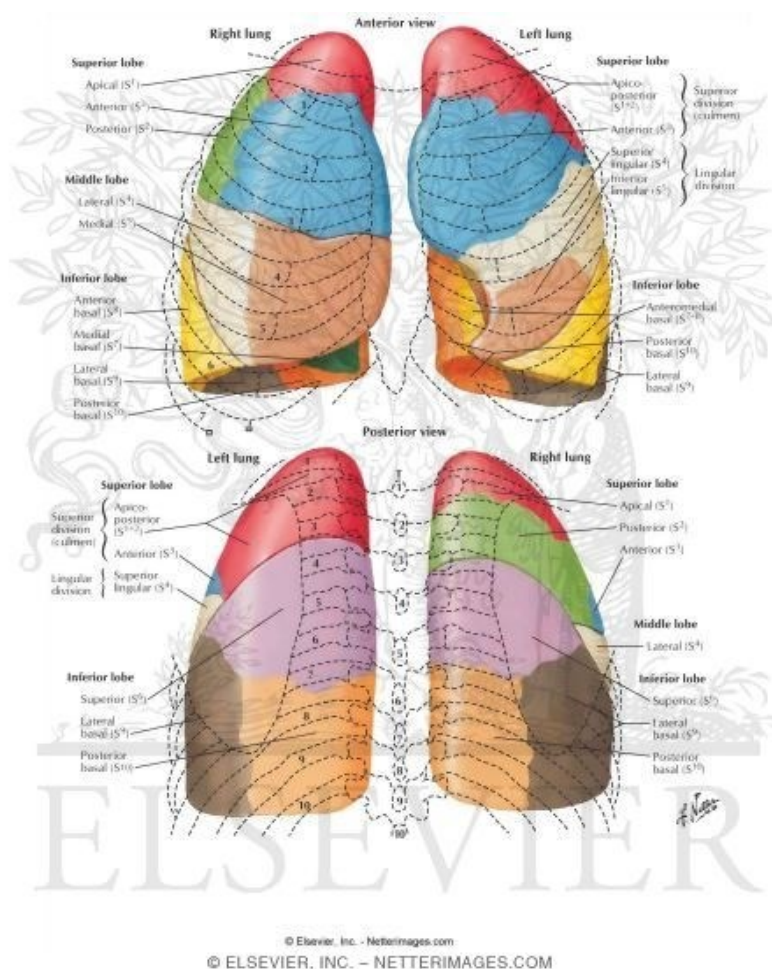


Figura 13: Anatomia del polmone con lobi e segmenti.

1.8.1.2 OPZIONI CHIRURGICHE

Il gold standard dell'approccio chirurgico nel tumore del polmone è la lobectomia con linfadenectomia ilo-mediastinica. La lobectomia polmonare è l'asportazione chirurgica di un lobo del polmone, effettuata isolando e sezionando le arterie, le vene ed il bronco corrispondenti; la linfadenectomia ilo-mediastinica consiste

nell'asportazione dei linfonodi ilari polmonari e mediastinici. La segmentectomia polmonare anatomica o tipica, invece, consiste in una resezione sub-lobare; si esegue seguendo la suddivisione anatomica dei segmenti polmonari e prevede l'isolamento del bronco, dell'arteria e delle vene segmentarie. La segmentectomia anatomica, comunque sempre associata a linfadenectomia ilo-mediastinica o almeno a sampling sistematico linfonodale, si esegue nei pazienti con importante deficit funzionale e lesione favorevole per dimensioni, stadio e topografia, in particolare per pazienti con alla TC lesioni non solide a "vetro smerigliato" (Ground Glass Opacities: GGO, che spesso sono indicative di un adenocarcinoma in situ o minimamente invasivo) o per stadi molto precoci (Tis o T1a). Esiste anche la resezione di tipo wedge, cioè a cuneo, in cui si rimuove solamente la lesione ed il tessuto circostante, senza seguire i limiti anatomici come nella segmentectomia anatomica, e viene utilizzata per le lesioni molto piccole e con basso grado di invasività. Le lobectomie con procedimenti ricostruttivi mediante broncoplastica (sleeve lobectomy) o plastica dell'arteria polmonare sono indicate in casi selezionati e possono evitare efficacemente la pneumonectomia. Nei casi in cui la lesione non possa essere resecata con la lobectomia o in presenza di invasione trans-scissurale, è indicata la pneumonectomia, ammesso che sia fattibile da un punto di vista funzionale. La pneumonectomia prevede l'asportazione completa di uno dei due polmoni e si esegue in caso la malattia sia estesa a tutti i lobi [160, 161, 162]. Esistono due modalità di svolgimento per questi interventi: la toracotomia (Open Thoracotomy, OT) e la VATS (Video Assisted Thoracic Surgery).

La toracotomia consiste nell'apertura chirurgica del torace e attualmente viene eseguita solo nel caso sia esclusa ogni possibilità di procedere con approcci meno invasivi. Sono usate tre tecniche di base:

- toracotomia limitata anteriore o laterale (accesso intercostale);
- toracotomia posterolaterale (accesso intercostale);
- sternotomia mediana (accesso sternale, si esegue quando si desidera accedere ad entrambi i polmoni).

I pazienti sottoposti a toracotomia sono operati in anestesia generale e hanno bisogno di un drenaggio toracico post operatorio per 1-2 giorni. Le complicanze sono legate ai rischi dell'anestesia generale, del trauma chirurgico e di una degenza più lunga, e sono: emorragia, infezione, pneumotorace, fistola broncopleurica, reazioni agli anestetici. La mortalità della toracotomia varia dallo 0,5 all'1,8%

[163].



Figura 14: Toracotomia posterolaterale.

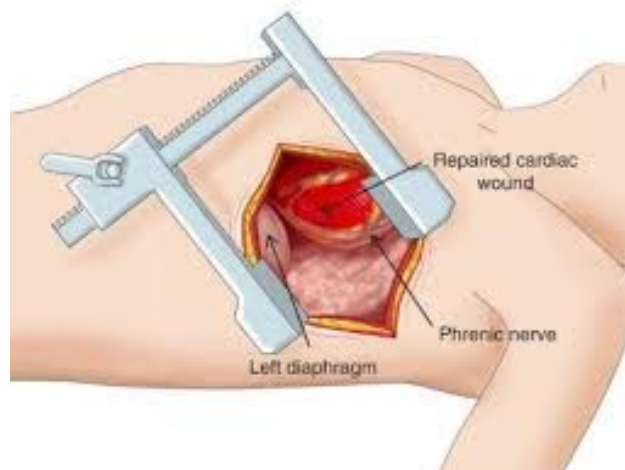


Figura 15: Toracotomia anterolaterale.

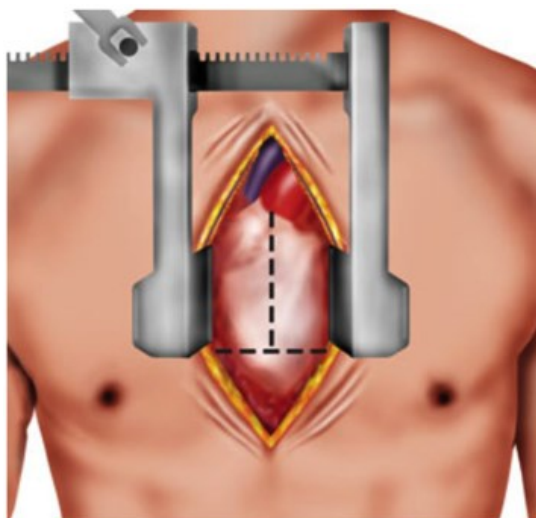


Figura 16: Sternotomia mediana

La videotoroscopia o VATS (dall'acronimo inglese *Video-assisted thoracoscopic surgery*) è un tipo di intervento chirurgico e tecnica diagnostica mini-invasiva avanzata nata dalla tecnica diagnostica toracoscopica. L'intervento viene fatto in anestesia generale e IET (Intubazione EndoTracheale) selettiva su paziente in decubito laterale. La IET è detta selettiva in quanto realizzata tramite un tubo che si biforca nei due bronchi principali e che consente pertanto di escludere dalla ventilazione meccanica un singolo polmone. Infatti, durante la VATS, è necessario che un polmone non venga areato, per consentire l'intervento su quel polmone stesso. Gli accessi principali sono l'emitorace destro e sinistro (anche bilateralmente) e la regione sottoxifoidea. Vengono quindi praticate delle piccole incisioni intercostali da usare come canali operatori, nelle quali vengono inseriti il videotoroscopio, che invia le immagini ad un monitor, la stapler (cioè la suturatrice meccanica taglia-cuci) e la pinza (clamp). La VATS, in base al numero di accessi, può essere:

- triportale: si utilizzano 3 accessi, in ciascuno dei quali vengono inseriti, singolarmente, il videotoroscopio, la stapler e la pinza;
- biportale: si utilizzano 2 accessi, in uno dei quali viene inserito, singolarmente, il videotoroscopio e nell'altro si inseriscono insieme la stapler e la pinza;
- uniportale: si utilizza un solo accesso, nel quale vengono inseriti contestualmente il videotoroscopio, la stapler e la pinza.

Il ruolo di questa procedura può essere sia diagnostico che terapeutico: si possono prelevare campioni biotici o asportare lesioni [164].

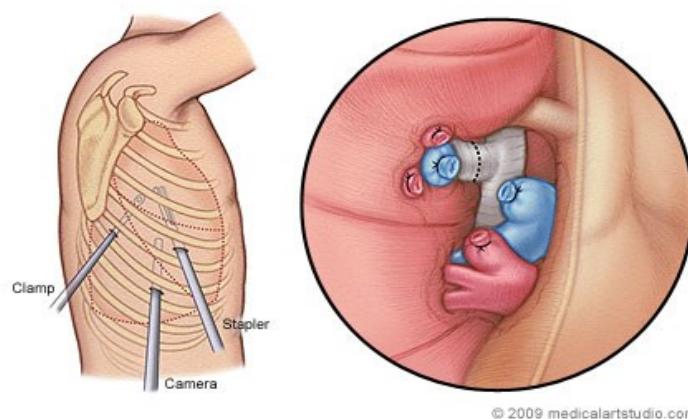


Figura 17: VATS triportale.

1.8.2 TERAPIE ADIUVANTI POST-CHIRURGICHE

La prognosi dei pazienti con NSCLC agli stadi iniziali, a seguito di resezione chirurgica radicale, è correlata alla stadiazione patologica (TNM, VIII edizione): la probabilità di sopravvivenza a 5 anni è 90% per i pazienti in stadio patologico IA a e 60% per quelli in stadio II. La probabilità di recidiva locale interessa circa 1/3 dei pazienti radicalmente operati e la diffusione metastatica peggiora notevolmente la prognosi ed è la principale causa di decesso [165].

I principali trattamenti adiuvanti utilizzati attualmente a seguito di intervento chirurgico per adenocarcinoma polmonare sono:

- chemioterapia con combinazioni a base di cisplatino;
- radioterapia.

1.8.2.1 CHEMIOTERAPIA CON COMBINAZIONI A BASE DI CISPLATINO

Le principali linee guida internazionali suggeriscono che una chemioterapia a base di cisplatino per 4 cicli di trattamento debba essere proposta a pazienti con NSCLC radicalmente operato, in stadio II–III, con performance status di 0-1, senza significative comorbidità, e che abbiano avuto una buona ripresa fisica dopo l'intervento chirurgico [166, 167]: diverse meta-analisi hanno confermato il vantaggio della chemioterapia adiuvante rispetto alla sola chirurgia in termini di sopravvivenza globale, con un incremento assoluto del tasso di sopravvivenza a 5 anni del 4% (incremento dal 60% al 64%) e anche in termini di sopravvivenza libera da malattia, con un incremento assoluto del 5.8% a 5 anni. Il trattamento adiuvante andrebbe iniziato non oltre le 8 settimane dopo l'intervento [168, 169], anche se si è dimostrato che per i pazienti il cui recupero dall'intervento sia particolarmente lento, ritardare la somministrazione della chemioterapia adiuvante fino a 4 mesi dopo la chirurgia non ne inficia il potenziale vantaggio [170].

Le combinazioni più frequentemente impiegate come terapia adiuvante comprendono doppiette a base di cisplatino+vinorelbina, o vindesina, o vinblastina, o etoposide, oppure triplete con cisplatino+mitomicina+vindesina, o vinblastina e ifosfamide [171, 172]. Analizzando le varie combinazioni, l'effetto della chemioterapia adiuvante sulla sopravvivenza globale non varia significativamente in base al farmaco somministrato in combinazione con il cisplatino [171].

1.8.2.2 RADIOTERAPIA ADIUVANTE (POSTOPERATIVE RADIOTHERAPY, PORT)

La radioterapia sfrutta fasci di radiazioni ionizzanti o fasci di particelle ionizzanti per danneggiare il materiale genetico (DNA) delle cellule maligne; nel momento in cui questo viene danneggiato, quindi, le cellule tumorali non sono più in grado di replicare e vanno incontro a morte cellulare. La radioterapia postoperatoria o radioterapia adiuvante serve per ridurre il rischio di recidiva a seguito di un intervento. Non è mai stato dimostrato che la radioterapia adiuvante nei NSCLCs migliori la sopravvivenza, pertanto il suo utilizzo è controverso [173].

1.8.3 TERAPIE DELLA MALATTIA ONCOGENE-ADDICTED

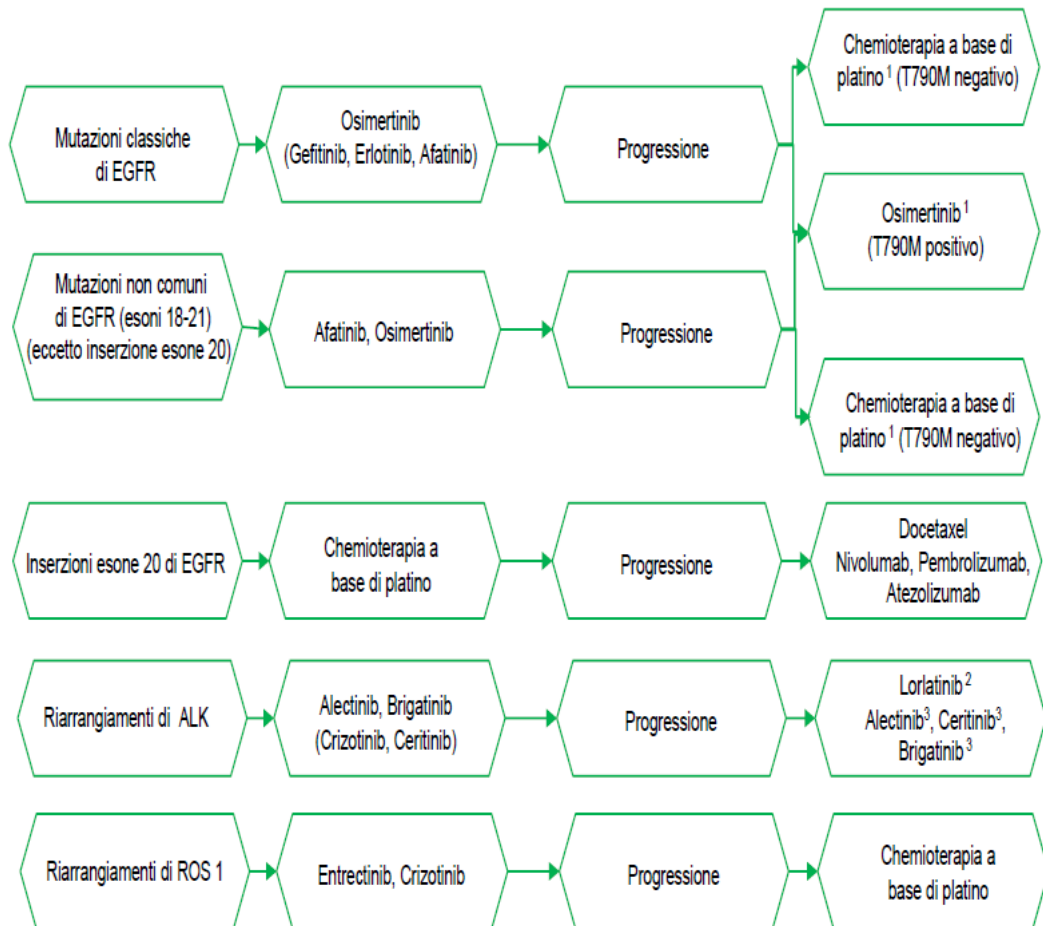


Figura 18: Diagramma del trattamento della malattia oncogene-addicted.

1.8.3.1 TRATTAMENTO DELLA MALATTIA EGFR-MUTATA

Gli inibitori tirosin-chinasici di EGFR rappresentano il trattamento di I linea raccomandato nei pazienti con NSCLC avanzato e mutazioni classiche (Ex19dels e

L858R) [174, 175, 176, 177]. Le più frequenti mutazioni sensibilizzanti di EGFR sono:

- le delezioni dell'esone 19 (Ex19dels)
- la mutazione puntiforme L858R dell'esone 21

che insieme rappresentano circa il 90% dei casi, definiti come mutazioni comuni o classiche. Il restante 10% delle mutazioni di EGFR è rappresentato da un gruppo eterogeneo di alterazioni molecolari, definite come non comuni o rare. Le mutazioni non comuni o rare includono mutazioni puntiformi a carico degli esoni 18, 19, 20 e 21, oppure inserzioni a carico esclusivamente dell'esone 20. Di seguito, le più note fra le mutazioni rare:

- esone 18: mutazioni G719C, G719S, G719A, V689M, N700D, E709K/Q, S720P;
- esone 20: mutazioni V765A, S768I, V769L, T783A e T790M, inserzioni;
- esone 21 mutazioni N826S, A839T, K846R, L861Q, G863D

[178].

Nei casi di NSCLC avanzato con mutazioni classiche di EGFR, il farmaco di scelta è l'osimertinib, un inibitore tirosin chinasi irreversibile di terza generazione; lo studio FLAURA ha evidenziato come osimertinib aumenti in modo significativo sia la progression free survival (PFS) che la overall survival (OS) rispetto allo standard-of-care [179, 180]. In alternativa ad osimertinib, in prima linea per NSCLC avanzato con mutazioni comuni di EGFR possono essere somministrati gefitinib, erlotinib o afatinib. Diversi studi di fase 3 randomizzati hanno dimostrato, in pazienti affetti da NSCLC avanzato con mutazioni comuni di EGFR, la superiorità di un trattamento orale con un inibitore tirosin-chinasi di EGFR come gefitinib (250 mg/die), erlotinib (150 mg/die) o afatinib (40 mg/die) nella prima linea di trattamento rispetto alla chemioterapia standard a base di platino, in termini sia di RR che di PFS. I profili di tollerabilità e di qualità della vita erano nettamente a favore degli inibitori di EGFR [181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188]. Sono stati condotti alcuni studi di confronto tra inibitori delle tirosin-chinasi di prima (gefitinib, erlotinib) e seconda (afatinib, dacomitinib) generazione nel trattamento dei pazienti con mutazione di EGFR e NSCLC in stadio avanzato: nessuna differenza è stata osservata fra le due tipologie di trattamento [189, 190]. Nei casi di NSCLCs con mutazioni non comuni di EGFR (quindi tutte le altre a parte le delezioni dell'esone 19, la mutazione puntiforme L858R dell'esone 21, la

mutazione T790M dell'esone 20 e le inserzioni dell'esone 20), sono indicati osimertinib o afatinib [191, 192]. Per quanto riguarda il trattamento post-chirurgico adiuvante degli stadi precoci di NSCLCs, risultati di vari studi suggeriscono che, negli stadi I, II, III, il trattamento adiuvante con farmaci inibitori delle tirosin-chinasi di EGFR potrebbe essere efficace esclusivamente in quei pazienti il cui tumore esprime una mutazione classica del gene EGFR, ad integrazione del trattamento chemioterapico adiuvante. In particolare, sulla base dei risultati positivi dello studio ADAURA, osimertinib è attualmente disponibile per il trattamento adiuvante di pazienti con NSCLC operato radicalmente e mutazioni classica di EGFR [193, 194, 195]. In caso di progressione, l'associazione di carboplatino, paclitaxel, bevacizumab e atezolizumab potrebbe rappresentare un'opzione di trattamento nella popolazione dei pazienti con mutazione di EGFR dopo l'esaurimento delle terapie a bersaglio molecolare, come emerso dall'analisi di sottogruppo dello studio IMpower 150, dedicata appunto ai pazienti EGFR-mutati, esclusi però i pazienti con NSCLCs caratterizzati da mutazione T790M dell'esone 20, nei quali conviene proseguire la terapia con osimertinib [196, 197].

Infine, nei pazienti con NSCLCs con mutazione di EGFR caratterizzata da inserzione dell'esone 20, la terapia di scelta è la chemioterapia a base di platino e, in caso di progressione, si somministrano docetaxel, nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab [198].

1.8.3.2 TRATTAMENTO DELLA MALATTIA ALK-RIARRANGIATA

I riarrangiamenti di ALK si ritrovano soprattutto negli adenocarcinomi in soggetti giovani, con assente o ridotta abitudine tabagica. La terapia di scelta nel trattamento di I linea di questi pazienti è un inibitore tirosin-chinasico di ALK [199].

I farmaci utilizzati in prima linea negli NSCLCs in stadio avanzato con riarrangiamenti di ALK sono alectinib [200] o brigatinib [201, 202], i quali si sono dimostrati essere superiori in termini di progression free survival (PFS) e overall survival (OS) rispetto alla chemioterapia a base di platino. In alternativa, si possono usare crizotinib o ceritinib. Nello studio "PROFILE 1014", pubblicato da Solomon et al. nel 2014 e aggiornato nel 2018 condotto su pazienti affetti da NSCLC positivi per il riarrangiamento di ALK, non trattati precedentemente, randomizzati (1:1) a ricevere l'inibitore di ALK crizotinib (inibitore di prima generazione) o chemioterapia a base di platino e pemetrexed, il trattamento con crizotinib si è

dimostrato superiore alla chemioterapia in termini di progression free survival e di riduzione del rischio di progressione. I migliori outcomes in termini di OS sono stati inoltre raggiunti nei pazienti in cui la terapia con crizotinib è stata seguita da ulteriori farmaci a bersaglio molecolare [203, 204]. Anche ceritinib è stato confrontato con la chemioterapia a base di platino come trattamento di prima linea per i pazienti con NSCLC avanzato e riarrangiamento di ALK. Nello studio “ASCEND-4” i pazienti sono stati randomizzati 1:1 a ricevere ceritinib (750 mg/die a digiuno) o chemioterapia a base di platino e pemetrexed [205]: ceritinib si è dimostrato superiore alla chemioterapia in termini di progression free survival e di riduzione del rischio di progressione.

Alcuni studi evidenziano come la maggior parte dei pazienti trattati con crizotinib presenti una progressione di malattia entro 12 mesi dall’inizio del trattamento, dovuta allo sviluppo dei meccanismi di resistenza acquisita al farmaco, i quali possono essere distinti in:

- meccanismi molecolari ALK-dipendenti (principalmente mutazioni puntiformi nel dominio tirosin-chinasico di ALK)
- e meccanismi ALK-indipendenti (up-regolazione di altri oncogeni o attivazione di altre vie di trasduzione del segnale intracellulare).

A questi si aggiunge la frequente progressione a carico del sistema nervoso centrale, dovuta sia al tropismo encefalico della malattia ALK-riarrangiata, che alla sub-ottimale diffusione di crizotinib attraverso la barriera emato-encefalica [206].

Altri inibitori tirosin-chinasici approvati per il trattamento di NSCLCs con ALK riarrangiato sono: lorlatinib (inibitore di terza generazione) [207], entrectinib (inibitore di seconda generazione) [208, 209]

Anche per gli inibitori di seconda generazione di ALK la resistenza acquisita si manifesta in termini di progressione clinico-radiologica della malattia. I meccanismi molecolari alla base della resistenza sono simili a quelli riportati con crizotinib [210].

Nei casi di progressione sistemica, le linee guida indicano di somministrare lorlatinib, alectinib, ceritinib oppure brigatinib [211, 212]; inoltre può essere indicata una successiva linea di trattamento: la chemioterapia a base di platino è l’opzione raccomandata, in particolare combinazioni con pemetrexed. Sulla base dei risultati dello studio IMpower150 [213] la combinazione a base di carboplatino, paclitaxel, bevacizumab e atezolizumab è stata approvata da parte di EMA anche

per i pazienti ALK-positivi in progressione dopo terapia a bersaglio molecolare.

1.8.3.3 TRATTAMENTO DELLA MALATTIA ROS1-RIARRANGIATA

ROS1 è un recettore tirosin-chinasico e ha una struttura molto simile ad ALK. I riarrangiamenti di ROS1 hanno un'incidenza più elevata nei soggetti giovani, con assente o scarsa abitudine tabagica e nell'istotipo adenocarcinoma. I farmaci di scelta per il trattamento del NSCLC avanzato con riarrangiamento di ROS1 sono crizotinib [214] ed entrectinib [215]. Altri inibitori di ROS1, oggetto di studio, ma non ancora approvati in Italia, includono: ceritinib, lorlatinib, repotrectinib. Tra questi, vanno sicuramente sottolineati lorlatinib e repotrectinib, per la loro attività nel contrastare la progressione sistemica e cerebrale delle metastasi [216, 217].

1.8.3.4 TRATTAMENTO DELLA MALATTIA KRAS-MUTATA

Sebbene KRAS sia stato uno dei primi driver oncogenici scoperti, le terapie mirate a KRAS efficaci rimangono ancora non ben chiarite. I tumori polmonari mutanti di KRAS hanno esiti peggiori sia in fase iniziale che in contesti metastatici avanzati, illustrando la necessità di nuovi agenti mirati specificamente a KRAS.

Il sottotipo mutazionale delle singole mutazioni di KRAS è di maggiore rilevanza rispetto alla valutazione della sua presenza o assenza. Le mutazioni KRAS più frequenti nel NSCLC sono state documentate ai codoni 12 e 13 [218]. Tra questi, la sostituzione della glicina 12 alla cisteina (G12C) e della glicina 12 alla valina (G12V) sono i sottotipi più comuni, associati ad una storia di fumo, mentre la sostituzione della glicina 12 all'acido aspartico (G12D) si trova principalmente nei non fumatori [218, 219, 220]. Ciascuna sostituzione di amminoacidi differisce nella sua affinità di legame per gli effettori a valle: KRASG12D ha una maggiore affinità per la segnalazione di PI3K/AKT, mentre KRASG12C o KRASG12V porta a minore fosforilazione di AKT e una maggiore attivazione di RAL rispetto ad altre mutazioni e alla situazione wild type [221]. Una caratteristica comune nei NSCLCs mutanti per KRAS è lo switch metabolico verso l'anabolismo: le cellule con la mutazione G12D di KRAS hanno mostrato uno switch metabolico glicolitico e un potenziale metastatico più elevato; questi dati suggeriscono che il NSCLC mutante per KRAS può essere classificato su base metabolica per un migliore esito terapeutico [222].

Le strategie terapeutiche su misura per i NSCLCs con KRAS mutato, che sono state

esplorate in passato, ma che non hanno dato risultati soddisfacenti, si basano su:

- bloccare l'associazione di membrana di KRAS;
- colpire i fattori e le proteine da cui dipende KRAS, che ne permettono l'attivazione;
- colpire gli effettori cellulari a valle di KRAS, facenti parte della sua cascata di signalling (RAF, MEK, PI3K, mTOR);
- immunoterapici inibitori specifici di KRAS (ancora in fase di sviluppo).

Pertanto, finora non ci sono ancora dei farmaci che sono stati approvati specificamente per i NSCLCs con KRAS mutato [223].

1.8.4 TERAPIE DELLA MALATTIA NON ONCOGENE-ADDICTED

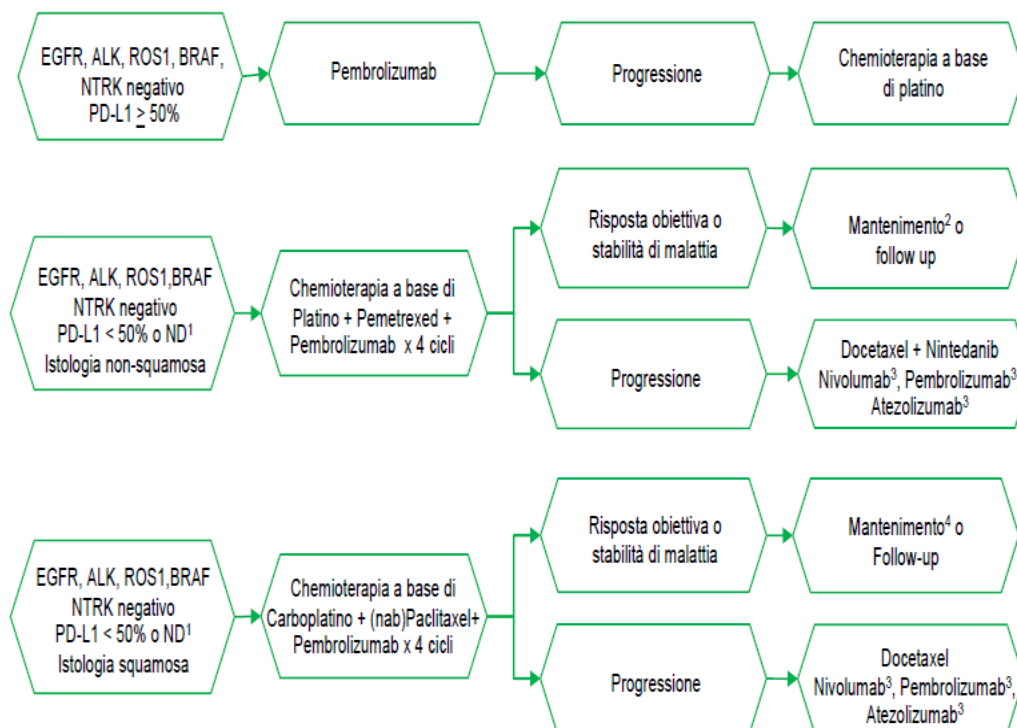


Figura 19: Diagramma del trattamento della malattia non-oncogene addicted.

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

1.8.4.1 TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA: IMMUNOTERAPIA

Attualmente l'unico agente immunoterapico approvato e rimborsato in Italia in prima linea per il trattamento del NSCLC avanzato non oncogene-addicted è il pembrolizumab:

- 1) in monoterapia nei pazienti affetti da NSCLC con buon performance status (0-1), senza alterazioni di EGFR e ALK e con espressione di PD-L1 $\geq 50\%$;
- 2) in associazione alla chemioterapia a base di platino e pemetrexed nei pazienti affetti da NSCLC ad istologia non squamosa, con buon performance status (0-1), senza alterazioni di EGFR e ALK e con espressione di PD-L1 $< 50\%$;
- 3) in associazione alla chemioterapia a base di carboplatino e paclitaxel o nab-paclitaxel, in pazienti affetti da NSCLC a istologia squamosa, con buon performance status (0-1) e con espressione di PD-L1 $< 50\%$ [140].

Lo studio randomizzato di fase 3 "KEYNOTE-042" ha valutato l'efficacia della mono-immunoterapia con pembrolizumab rispetto alla chemioterapia standard di I linea in pazienti affetti da NSCLC avanzato di qualsiasi istologia, con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$ [224]. Lo studio ha dimostrato un vantaggio statisticamente significativo in termini di OS (endpoint primario) in favore di pembrolizumab nei pazienti con espressione di PD-L1 $\geq 50\%$. Lo studio randomizzato di fase 3 "IMpower110", ha confrontato atezolizumab versus chemioterapia standard nella prima linea di trattamento di pazienti affetti da NSCLC avanzato di qualsiasi istologia, con espressione di PD-L1 $\geq 1\%$. I risultati dello studio hanno confermato un vantaggio statisticamente significativo e clinicamente rilevante in termini di OS (endpoint primario) in favore di atezolizumab nell'analisi condotta nel sottogruppo di pazienti con espressione di PD-L1 $\geq 50\%$. Atezolizumab è risultato inoltre essere meglio tollerato rispetto alla chemioterapia, con eventi avversi immuno-correlati solitamente di basso grado [225, 226]. Lo studio "IMpower131" è uno studio di fase II che ha randomizzato pazienti con diagnosi di NSCLC ad istologia squamosa 1:1:1 in tre bracci a ricevere atezolizumab + carboplatino + paclitaxel (A+CP), atezolizumab + carboplatino + nab-paclitaxel (A+CnP) oppure carboplatino + nab-paclitaxel (CnP), per 4-6 cicli, seguiti dal mantenimento con atezolizumab o placebo nei pazienti con risposta o stabilità di malattia. L'aggiunta di atezolizumab alla chemioterapia a base di carboplatino + nab-paclitaxel ha incrementato la PFS mediana (6.3 mesi versus 5.6 mesi, HR=0.71; p=0.0001); mentre in termini di OS (altro endpoint primario) la differenza non è risultata statisticamente significativa

(OS mediana 14.2 versus 13.5; HR=0.88; p=0.1581). In termini di tollerabilità, la combinazione è risultata più tossica rispetto alla sola chemioterapia: 68.0% di eventi avversi G3/4 correlati al trattamento (A+CnP) versus 57.5% (CnP) [227].

Un'altra strategia terapeutica che ha ottenuto dei risultati promettenti nel setting della prima linea di trattamento dei pazienti affetti da NSCLC è rappresentata dalla combinazione di anti-PD-1/PD-L1 e anti-CTLA-4. Lo studio CheckMate 227 ha dimostrato come la combinazione di nivolumab-ipilimumab sia associata a un incremento in OS rispetto alla sola chemioterapia in pazienti non pretrattati affetti da NSCLC avanzato (a istologia sia squamosa che non-squamosa) con espressione di PD-L1 \geq 1% (endpoint co-primario) [228]. Questa combinazione è stata poi valutata in associazione a 2 cicli di chemioterapia nel contesto dello studio CheckMate 9LA. Tale studio ha dimostrato un vantaggio in OS (endpoint primario) dall'aggiunta di nivolumab-ipilimumab (proseguiti fino a un massimo di 2 anni di trattamento) a 2 cicli di chemioterapia rispetto alla sola chemioterapia per 4 cicli in pazienti affetti da NSCLC metastatico ad istologia sia squamosa che non-squamosa, senza mutazioni di EGFR o riarrangiamento di ALK e con qualsiasi livello di espressione di PD-L1, con performance status di 0-1, in prima linea di trattamento [229]. Nel medesimo setting clinico, lo studio POSEIDON ha dimostrato un vantaggio in PFS e OS dalla combinazione di durvalumab-tremelimumab e chemioterapia rispetto alla sola chemioterapia [230].

1.8.4.2 TRATTAMENTO DI PRIMA LINEA: CHEMIOTERAPIA

In pazienti non selezionati per caratteristiche molecolari o per livello di espressione di PD-L1, e resistenti alle terapie a bersaglio molecolare, la chemioterapia (nella maggior parte dei casi con schemi a base di cisplatino) si è dimostrata efficace nel prolungare la OS rispetto alla best supportive care (BSC) [231]. Nei pazienti candidati a chemioterapia, il trattamento standard è rappresentato da una doppietta contenente un derivato del platino associato ad un agente di terza generazione (vinorelbina, gemcitabina o taxano), per 4-6 cicli [232]. Le doppiette con derivato del platino associato ai farmaci di terza generazione (vinorelbina, gemcitabina o taxani) sono in grado di determinare tassi di sopravvivenza ad un anno di circa il 30-40%. Tutti i regimi di terza generazione possono essere considerati sostanzialmente equivalenti in termini di efficacia, con differenti profili di tossicità [233, 234, 235, 236].

2. SCOPO DELLO STUDIO:

Questo studio si pone come scopo l'individuazione, nell'adenocarcinoma del polmone, di eventuali correlazioni tra il metabolismo cellulare tumorale, rilevato alla PET preoperatoria, espresso come indice SUV che indica la captazione di ^{18}F -2-fluoro-2-deossiglucosio (^{18}F -FDG), e l'espressione di markers immunofenotipici, i quali sono target di terapie mirate, con l'intento di stabilire la prognosi e pianificare iter terapeutici specifici.

Essendo già noto che, nei tumori polmonari in generale, dall'indice SUV rilevato alla PET-TC si possano ricavare informazioni riguardo la prognosi [237] ed il grado di malignità [238], questa analisi si propone di approfondire lo studio del valore prognostico della PET nell'ambito dell'adenocarcinoma polmonare, verificando se il valore dell'indice SUV sia correlato anche a delle mutazioni che si riscontrano in questo istotipo specifico di carcinoma polmonare, quali ALK, ROS1, EGFR, KRAS, e all'espressione di PD-L1; tali alterazioni molecolari sono bersagli di terapie mirate, quindi sono markers predittivi della risposta a queste terapie e hanno valore prognostico [239, 240, 241, 242].

3. MATERIALI E METODI:

Lo studio è stato condotto presso l'U.O. di Chirurgia Toracica dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria di Padova. I dati sono stati raccolti retrospettivamente e sono stati inclusi nello studio 156 pazienti ricoverati e sottoposti ad intervento chirurgico di resezione polmonare tra il 31/01/2018 e il 27/05/2021, con diagnosi di adenocarcinoma polmonare, sottoposti a PET-TC preoperatoria con indice SUVmax determinato, che non hanno svolto terapia neoadiuvante, il cui esame istologico comprendesse l'analisi di espressione dei geni PDL1, ALK, ROS1, EGFR, KRAS. Inoltre, sono stati valutati i follow up dei pazienti, svolti sia presso gli ambulatori dell'U.O. di Chirurgia Toracica sia presso l'Istituto Oncologico Veneto di Padova, per raccogliere i dati sulla sopravvivenza a seguito dell'intervento chirurgico e sulle terapie adiuvanti seguite.

4. RISULTATI

4.1 CAMPIONE STATISTICO E VARIABILI

Il campione oggetto di studio si compone di 156 pazienti, di cui 66 femmine (42%) e 90 maschi (58%), con età mediana di 70 anni (IQR 63-75).

Di questi, 132 pazienti (85%) sono stati sottoposti ad intervento di lobectomia, mentre 22 (14%) sono stati sottoposti a segmentectomia, 3 (1.9%) a pneumonectomia e 8 (5.1%) a wedge. La maggior parte delle asportazioni sono state a carico del lobo superiore (92 pazienti, 59%); a seguire il lobo inferiore (45 pazienti, 29%), e hanno coinvolto più frequentemente il polmone destro (104 pazienti, 67%).

Alla PET pre-operatoria, il valore medio dell'indice SUVmax è risultato pari a 6.0 (IQR 2.8-11.3)

All'esame istologico definitivo è stato constatato che: 34 pazienti (21,6%) si presentavano in stadio IA (IA1+IA2+IA3); 16 pazienti (10%) si presentavano in stadio IB; 56 pazienti (36%) si presentavano in stadio IIA; 20 pazienti (13%) si presentavano in stadio IIB; 21 pazienti (13%) si presentavano in stadio IIIA; 8 pazienti (5.1%) si presentavano in stadio IIIB; 1 paziente (0.6%) si presentava in stadio IVA.

All'esame istologico definitivo è stato escluso un coinvolgimento linfonodale (pN0) in 120 pazienti (78%); 17 pazienti (11,2%) hanno avuto un coinvolgimento linfonodale intraparenchimale/ilare (pN1) e 16 pazienti (10.5%) presentavano coinvolgimento mediastinico omolateralmente (pN2).

La conta mitotica nella popolazione di cellule tumorali è risultata essere per il 44% 0-1 HPF (68 pazienti), per il 40% 2-4 HPF (63 pazienti), per il 14% 5-10 HPF (22 pazienti) e solo per l'1.9% superiore a 10 HPF (3 pazienti).

Variable	Summary Statistics ¹
Sesso	
F	66 (42%)
M	90 (58%)
Età	70 (63, 75)

Variable	Summary Statistics ¹
Charlson Comorbidity Index	4.00 (3.00, 6.00)
Intervento: lobectomia	
no	24 (15%)
si	132 (85%)
Intervento: segmentectomia	
no	134 (86%)
si	22 (14%)
Intervento: pneumonectomia	
no	153 (98%)
si	3 (1.9%)
Intervento: wedge	
no	148 (95%)
si	8 (5.1%)
Sede	
Superiore	92 (59%)
Inferiore	45 (29%)
Lobi diversi	11 (7.1%)
Medio	5 (3.2%)
Pneumonectomia	3 (1.9%)
lato	
Dx	104 (67%)
bilaterale	1 (0.6%)
Sn	51 (33%)
gpo	5.0 (4.0, 7.0)

PET (SUV) 6.0 (2.8, 11.3)

pN

N0 120 (78%)

N1 3 (2.0%)

N1a 9 (5.9%)

N1b 5 (3.3%)

N2 4 (2.6%)

N2a2 9 (5.9%)

N2b 3 (2.0%)

STAGING VIII ED

IA1 6 (3.8%)

IA2 19 (12%)

IA3 9 (5.8%)

IB 16 (10%)

IIA 56 (36%)

IIB 20 (13%)

IIIA 21 (13%)

IIIB 8 (5.1%)

IVA 1 (0.6%)

HPF

0-1 68 (44%)

2-4 63 (40%)

5-10 22 (14%)

>10 3 (1.9%)

Lo studio dell'espressione di PD-L1, espresso in termini percentuali, negli adenocarcinomi oggetto di studio ha rivelato che la maggior parte (n=100, 63,2%) esprimeva PDL1 <1%, (mediana 0%, IQR 0%-30%).

Dal punto di vista delle mutazioni, i riarrangiamenti di ALK erano presenti solo nel 3.8% dei casi; i riarrangiamenti di ROS1 nell'8.3% dei casi.

Per quanto riguarda le mutazioni di EGFR, suddivise per esone, sono state riscontrate: per le mutazioni dell'esone 18, 2 (1.3%) pazienti; per quelle a carico dell'esone 19, 14 pazienti (9%); le mutazioni dell'esone 20 erano presenti in 2 pazienti (1.3); le mutazioni dell'esone 21 c'erano in 11 pazienti (7,11%); infine, la maggior parte degli adenocarcinomi non ha riscontrato mutazioni di EGFR (109 pazienti, 70%).

KRAS è risultato mutato rispettivamente in 9 casi (5.8%) con mutazione PG12C, 2 casi (1.3%) con mutazione PG12D; infine 2 casi (1.3%) con mutazione PG12V. I restanti casi sono risultati non mutati (123 pazienti, 79%).

Tabella 1

PDL1 (%)	0 (0, 30)
ALK	
wt	150 (96%)
1+	1 (0.6%)
2+	2 (1.3%)
3+	3 (1.9%)
ROS1	
wt	143 (92%)
1+	6 (3.8%)
2+	4 (2.6%)
3+	3 (1.9%)
EGFR (esone)	

wt	109 (70%)
esone 18	2 (1.3%)
esone 19	14 (9.0%)
esone 20	2 (1.3%)
esone 21	11 (7.1%)
non eseguito	18 (12%)
KRAS	
wt	123 (79%)
PG12C	9 (5.8%)
PG12D	2 (1.3%)
PG12V	2 (1.3%)
N/E	20 (13%)

La maggior parte degli adenocarcinomi studiati presentava pattern di crescita a predominanza acinare (78%, 122 casi); a seguire il pattern a predominanza solida (16%, 25 casi); più raro il pattern a prevalenza lepidica (5.8%, 9 casi). L'80% degli adenocarcinomi erano non mucinosi. La percentuale di necrosi neoplastica presentata dalle neoplasie studiate era per la maggior parte inferiore al 10% (74% del campione); l'infiltrato linfomonocitario era presente nel 45% dei casi in percentuale inferiore al 10% e nel 42% dei casi compreso tra 11% e 30%; la fibrosi era presente in percentuale inferiore al 10% nel 53% del campione e tra 11% e 30% nel 35% dei casi; l'infiltrazione neoplastica della pleura era di grado PL0 nel 39% dei casi, di grado PL1 nel 53% del campione, di grado PL2 in 10 pazienti (6.4%) e di grado PL3 in 3 pazienti (1.9%).

Tabella 1

pattern	
acinare	122 (78%)
lepidico	9 (5.8%)

solido	25 (16%)
mucinoso	
no	125 (80%)
sì	31 (20%)
necrosi neoplastica	
<10%	116 (74%)
11-30%	21 (13%)
>30%	19 (12%)
infiltrato linfomonocitario	
<10%	70 (45%)
11-30%	65 (42%)
>30%	21 (13%)
fibrosi	
<10%	83 (53%)
11-30%	55 (35%)
>30%	18 (12%)
invasione pleura	
PL0	61 (39%)
PL1	82 (53%)
PL2	10 (6.4%)
PL3	3 (1.9%)

¹n (%); Median (IQR)

4.2 ANALISI DEI RISULTATI

Per analizzare il campione abbiamo utilizzato un modello di regressione lineare per evidenziare possibili correlazioni fra l'aumento dell'indice SUVmax riscontrato alla PET preoperatoria a carico della lesione primitiva e le principali variabili di interesse espresse precedentemente (espressione di marker immunofenotipici, stadiazione, caratteristiche istopatologiche). A completamento abbiamo applicato un modello di regressione logistica per evidenziare eventuali correlazioni fra l'estensione della lesione e l'espressione di eventuali marker di risposta terapeutica,

utilizzando come cut-off il criterio dimensionale T2a nella stadiazione TNM. Infine abbiamo ricercato una correlazione fra il riscontro all'esame istologico definitivo di un coinvolgimento linfonodale (pN1-pN2) e le variabili precedentemente citate, sempre con un modello di regressione logistica. Dove non è specificato il tipo di analisi, si intende l'analisi univariata.

4.2.1 PET (SUV_{max}) - MODELLO DI REGRESSIONE LINEARE

Questo modello mira a cercare una correlazione tra il valore dell'indice SUV_{max} della PET e le altre variabili rilevate nello studio.

Dai risultati forniti dall'analisi statistica, si evince che non siano state trovate correlazioni statisticamente significative ($p > 0.05$) con le variabili sesso, età, Charlson Comorbidity Index, tipologia e sede di intervento.

L'aumento di captazione alla PET risultava avere correlazione lineare positiva all'analisi multivariata con l'indice mitotico ($p = 0.014$) per le HPF 2-4 ($\beta = 1.9$, CI95% 0.06, 3.7) e HPF 5-10 ($\beta = 3.9$, CI95% 1.3, 6.4) e con l'espressione di PD-L1 ($p = 0.023$, $\beta = 0.03$, CI95% 0.00, 0.06).

Per quanto riguarda eventuali correlazioni con le mutazioni di EGFR e KRAS e i riarrangiamenti di ALK e ROS1, endpoints primari dello studio, nessuno dei valori è risultato statisticamente significativo. Invece, si è vista una correlazione statisticamente significativa ma debole tra SUV_{max} e l'espressione di PD-L1 all'analisi multivariata, con $p = 0.023$, $\beta = 0.03$ e CI95% 0.00, 0.006, quindi ai limiti della significatività, che andrebbe indagata ulteriormente con un campione più numeroso.

Si è riscontrata una correlazione statisticamente significativa tra il valore dell'indice SUV_{max} e il pattern di crescita dell'adenocarcinoma ($p < 0.001$); in particolare, vi è una correlazione di tipo positivo con il pattern prevalentemente solido ($\beta = 5.1$, CI95% 2.6, 7.6), ed una correlazione negativa con il pattern lepidico ($\beta = -4.6$, CI95% -8.6, -0.70).

La percentuale di necrosi neoplastica presenta una correlazione lineare statisticamente significativa all'analisi multivariata ($p < 0.001$) per la fascia $> 30\%$ ($\beta = 9.4$, CI95% 6.8, 12) e per la fascia 11-30% ($\beta = 2.6$, CI95% 0.06, 1). La percentuale

di infiltrato linfomonocitario presenta correlazione lineare statisticamente significativa ($p=0.013$) per la fascia $>30\%$, ($\beta=4.4$, $CI_{95\%}1.5,7.4$). Mentre non si è raggiunta la significatività statistica per i parametri di fibrosi e di invasione pleurica.

Infine, abbiamo riscontrato una correlazione lineare statisticamente significativa ($p<0,001$) fra riscontro di metastasi linfonodali e captazione PET ($\beta=4.2$, $CI_{95\%}2.0,6.4$) e $pT\geq T2a$ correla linearmente con la captazione PET ($\beta=3.0$; $CI_{95\%}1.0,5.1$, $p=0.003$).

Characteristic	Univariate Model			Multivariate Model		
	Beta	95% CI ¹	p-value	Beta	95% CI ¹	p-value
Sesso			0.451			
F	—	—		—	—	
M	0.76	-1.2, 2.7				
Età	0.09	-0.02, 0.19	0.099			
Charlson Comorbidity Index	0.21	-0.21, 0.63	0.332			
Intervento: lobectomia			0.946			
no	—	—		—	—	
si	0.09	-2.6, 2.8				
Intervento: segmentectomia			0.745			0.056
no	—	—		—	—	
si	0.46	-2.3, 3.3		2.2	-0.06, 4.5	
Intervento: pneumonectomia			0.168			
no	—	—		—	—	
si	5.0	-2.1, 12				
Intervento: wedge			0.780			
no	—	—		—	—	
si	0.63	-3.8, 5.0				
Sede			0.340			
Superiore	—	—		—	—	
Inferiore	-1.5	-3.7, 0.70				
Lobi diversi	1.1	-2.8, 4.9				
Medio	0.87	-4.7, 6.4				
Pneumonectomia	4.6	-2.5, 12				
lato			0.385			

Dx	—	—		—	—	
bilaterale	8.5	-3.7, 21				
Sn	0.32	-1.8, 2.4				
gpo	0.33	0.11, 0.56	0.004			
HPF			<0.001			0.014
0-1	—	—		—	—	
>10	5.0	-1.6, 12		5.0	-0.75, 11	
2-4	3.4	1.4, 5.3		1.9	0.06, 3.7	
5-10	7.1	4.4, 9.9		3.9	1.3, 6.4	
PDL1 (%)	0.06	0.03, 0.10	<0.001	0.03	0.00, 0.06	0.023
ALK			0.414			
wt	—	—		—	—	
1+	6.9	-5.3, 19				
2+	3.4	-5.3, 12				
3+	-3.6	-11, 3.5				
ROS1			0.985			
wt	—	—		—	—	
1+	0.06	-5.0, 5.2				
2+	1.2	-5.0, 7.4				
3+	0.48	-6.7, 7.6				
EGFR (esone)			0.395			
wt	—	—		—	—	
esone 18	-0.06	-8.7, 8.6				
esone 19	-1.5	-4.9, 1.9				
esone 20	-1.5	-10, 7.2				
esone 21	-3.7	-7.5, 0.16				
non eseguito	-2.1	-5.2, 1.0				
KRAS			0.694			
wt	—	—		—	—	
N/E	-0.84	-3.8, 2.1				
PG12C	2.1	-2.1, 6.3				
PG12D	-3.8	-12, 4.9				
PG12V	1.5	-7.2, 10				
pattern			<0.001			

acinare	—	—	—	—
lepidico	-4.6	-8.6, -0.70		
solido	5.1	2.6, 7.6		
mucinoso			0.911	
no	—	—	—	—
si	0.14	-2.3, 2.6		
necrosi neoplastica			<0.001	<0.001
<10%	—	—	—	—
>30%	10	7.9, 13	9.4	6.8, 12
11-30%	4.0	1.6, 6.4	2.6	0.06, 5.1
infiltrato linfomonocitario			0.013	
<10%	—	—	—	—
>30%	4.4	1.5, 7.4		
11-30%	0.80	-1.3, 2.8		
fibrosi			0.608	0.045
<10%	—	—	—	—
>30%	-1.5	-4.6, 1.7	-3.2	-5.8, -0.69
11-30%	0.16	-2.0, 2.3	-0.53	-2.2, 1.2
invasione pleura			0.198	
PL0	—	—	—	—
PL1	-0.89	-2.9, 1.2		
PL2	0.66	-3.5, 4.8		
PL3	6.4	-0.75, 14		
pN	4.2	2.0, 6.4	<0.001	
Staging >=HAT >=T2a			0.003	
no	—	—	—	—
yes	3.0	1.0, 5.1		

¹CI = Confidence Interval

4.2.2 pT>=T2a - MODELLO DI REGRESSIONE LOGISTICA

Questo modello ricerca le correlazioni tra le dimensioni dell'adenocarcinoma (pT>=T2a) e le altre variabili esaminate nello studio, in termini di ODDS-Ratio (OS).

Abbiamo individuato una correlazione statisticamente significativa fra pT>=T2a e: il valore di SUVmax della PET (p=0.003, OR=1.13, CI95%1.04,1.24 all'analisi multivariata), il pattern lepidico (OR=0.24, CI95%0.05,0.97, p=0.019, correlazione negativa), l'invasione della pleura viscerale PL1 (OR=21.4, CI95%7.99,65.4 , p<0.001 all'analisi multivariata) e PL2 (OR=7.56, CI95%1.20,70.9 all'analisi

multivariata), il coinvolgimento linfonodale pN>N0 (p<0.001, OR=36.9, CI95%6.22,724 all'analisi multivariata).

Non si è raggiunta una significatività statistica per le altre variabili analizzate (l'indice mitotico HPF, PDL1, ALK, ROS1, EGFR, KRAS, necrosi neoplastica, infiltrato linfomonocitario, fibrosi).

Characteristic	Univariate Model			Multivariate Model		
	OR ¹	95% CI ¹	p-value	OR ¹	95% CI ¹	p-value
PET (SUV)	1.10	1.03, 1.19	0.002	1.13	1.04, 1.24	0.003
Sesso			0.324			
F	—	—		—	—	
M	1.41	0.71, 2.78				
Età	1.03	0.99, 1.07	0.117			
Charlson Comorbidity Index	0.97	0.84, 1.13	0.712			
Intervento: lobectomia			0.281			
no	—	—		—	—	
sì	1.64	0.66, 3.99				
Intervento: segmentectomia			0.156			
no	—	—		—	—	
sì	0.51	0.20, 1.30				
Intervento: pneumonectomia			0.126			
no	—	—		—	—	
sì	2,6E+6	0.00, NA				
Intervento: wedge			0.654			
no	—	—		—	—	
sì	1.44	0.32, 10.1				
Sede			0.264			
Superiore	—	—		—	—	
Inferiore	0.54	0.26, 1.14				
Lobi diversi	1.05	0.28, 5.08				
Medio	0.59	0.09, 4.68				
Pneumonectomia	2,3E+6	0.00, NA				
lato			0.665			
Dx	—	—		—	—	
bilaterale	9.8E+5	0.00, NA				
Sn	0.93	0.46, 1.92				
gpo	1.11	1.01, 1.25	0.033			
HPF			0.192			
0-1	—	—		—	—	
>10	0.31	0.01, 3.39				
2-4	1.98	0.94, 4.30				
5-10	1.33	0.49, 3.87				

PDL1 (%)	1.01	1.00, 1.02	0.178		
ALK			0.459		
wt	—	—		—	—
1+	0.00				
2+	0.46	0.02, 11.7			
3+	0.91	0.09, 19.9			
ROS1			0.348		
wt	—	—		—	—
1+	2.53	0.39, 49.1			
2+	1.52	0.19, 31.1			
3+	2,9E+6	0.00, NA			
EGFR (esone)			0.242		
wt	—	—		—	—
esone 18	0.49	0.02, 12.7			
esone 19	2.96	0.75, 19.7			
esone 20	2,8E+6	0.00, NA			
esone 21	0.41	0.11, 1.45			
non eseguito	1.28	0.45, 4.25			
KRAS			0.133		
wt	—	—		—	—
N/E	1.12	0.42, 3.37			
PG12C	3.86	0.67, 72.8			
PG12D	0.00				
PG12V	0.48	0.02, 12.4			
pattern			0.019		
acinare	—	—		—	—
lepidico	0.24	0.05, 0.97			
solido	2.56	0.90, 9.22			
mucinoso			0.195		0.025
no	—	—		—	—

si	0.58	0.26, 1.33		0.28	0.09, 0.85	
necrosi neoplastica			0.064			
<10%	—	—		—	—	
>30%	4.65	1.25, 30.2				
11-30%	1.09	0.42, 3.08				
infiltrato linfomonocitario			0.115			
<10%	—	—		—	—	
>30%	3.55	1.07, 16.2				
11-30%	1.24	0.61, 2.54				
fibrosi			0.738			
<10%	—	—		—	—	
>30%	0.76	0.27, 2.26				
11-30%	1.18	0.56, 2.50				
invasione pleura			<0.001			<0.001
PL0	—	—		—	—	
PL1	9.95	4.53, 23.4		21.4	7.99, 65.4	
PL2	6.17	1.40, 43.2		7.56	1.20, 70.9	
PL3	2.4E+7	0.00, NA		1.6E+7	0.00, NA	
pN	24.2	4.95, 436	<0.001	36.9	6.22, 724	<0.001

¹OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval

4.2.3 pN>N0 (COINVOLGIMENTO LINFONODALE) - MODELLO DI REGRESSIONE LOGISTICA

Questo modello ricerca le correlazioni tra il coinvolgimento linfonodale (pN>N0) e le altre variabili considerate nello studio.

Innanzitutto c'è una correlazione statisticamente significativa con il valore di SUVmax, con $p < 0.001$, OR=1.11 e CI95%1.05,1.18.

L'indice mitotico (HPF) presenta una correlazione statisticamente significativa ($p < 0.001$) con pN>N0, in particolare per la fascia 5-10 (OR=22.9 e CI95%4.78, 146 nell'analisi multivariata) e per la fascia 2-4 (OR=6.57 e CI95%2.17,24.8 nell'analisi multivariata); quindi, all'aumentare dell'indice mitotico corrisponde un coinvolgimento linfonodale più avanzato. Anche l'espressione di PD-L1 (%) è debolmente associata a pN, con significatività statistica data da $p = 0.002$, OR=1.02, CI95%1.01,1.03.

C'è una correlazione statisticamente significativa tra il pattern solido e pN>N0: $p = 0.002$ e OR=3.77 con CI95%1.52,9.38, quindi il pattern solido si associa ad un parametro N più alto. La percentuale di necrosi neoplastica presenta un'associazione positiva statisticamente significativa con pN ($p = 0.004$): per la

fascia 11-30% si ha OR 3.14 con CI95% 1.11,8.56; mentre per la fascia >30% OR è pari a 4.59 con CI95%1.63-13.

All'analisi multivariata, pT \geq T2a presenta correlazione significativa con pN, con p<0.001 e OR=31.9 con CI95%5.37,656.

Non sono state evidenziate, infine, correlazioni statisticamente significative con le altre variabili oggetto di studio.

Characteristic	Univariate Model			Multivariate Model		
	OR ¹	95% CI ¹	p-value	OR ¹	95% CI ¹	p-value
PET (SUV)	1.11	1.05, 1.18	<0.001			
Sesso			0.10			
F	—	—		—	—	
M	1.92	0.89, 4.40				
Età	1.01	0.97, 1.05	0.65			
Charlson Comorbidity Index	0.97	0.82, 1.14	0.69			
Intervento: lobectomia			0.81			
no	—	—		—	—	
sì	0.88	0.34, 2.61				
Intervento: segmentectomia			0.55			
no	—	—		—	—	
sì	0.71	0.19, 2.07				
Intervento: pneumonectomia			0.003			0.003
no	—	—		—	—	
sì	5.7E+7	0.00, NA		1.9E+10	NA, NA	
Intervento: wedge			0.44			
no	—	—		—	—	
sì	0.46	0.02, 2.72				
Sede			0.032			
Superiore	—	—		—	—	
Inferiore	0.59	0.22, 1.44				
Lobi diversi	1.19	0.25, 4.54				
Medio	0.80	0.04, 5.73				
Pneumonectomia	5E+7	0.00, NA				
lato			0.58			
Dx	—	—		—	—	
bilaterale	0.00					
Sn	0.73	0.31, 1.63				
gpo	1.11	1.02, 1.21	0.016			

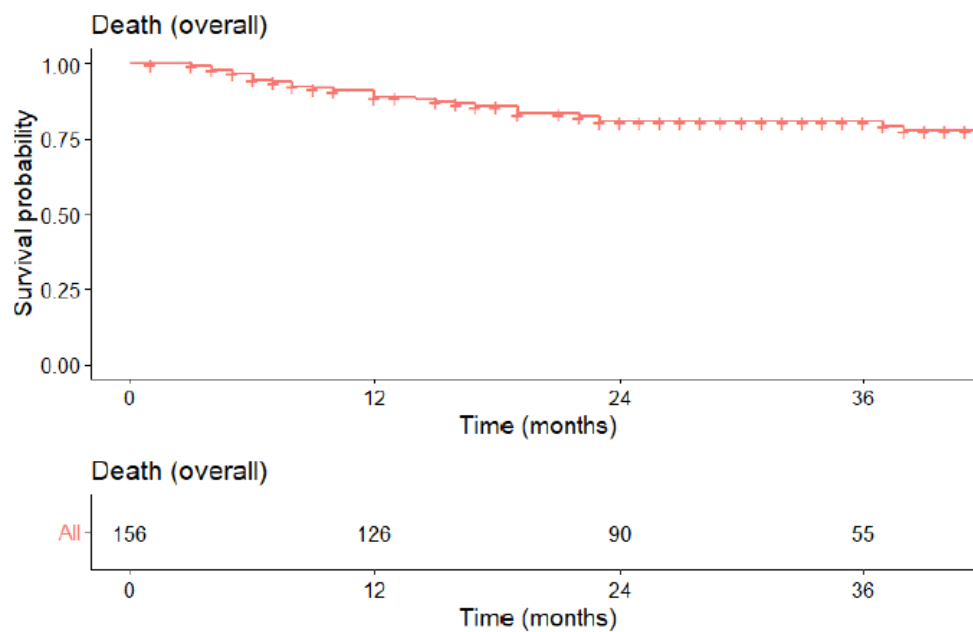
HPF			<0.001		<0.001
0-1	—	—		—	—
>10	0.00			0.00	0.00, 6.2E+45
2-4	5.17	2.03, 15.1		6.57	2.17, 24.8
5-10	7.15	2.21, 24.9		22.9	4.78, 146
PDL1 (%)	1.02	1.01, 1.03	0.002		
ALK			0.36		
wt	—	—		—	—
1+	0.00				
2+	0.00				
3+	0.00				
ROS1			0.26		
wt	—	—		—	—
1+	1.60	0.22, 8.59			
2+	0.00				
3+	0.00				
EGFR (esone)			0.003		
wt	—	—		—	—
esone 18	0.00				
esone 19	2.89	0.92, 9.17			
esone 20	0.00				
esone 21	0.29	0.02, 1.61			
non eseguito	0.00				
KRAS			0.11		0.051
wt	—	—		—	—
PG12C	1.48	0.30, 5.99		1.12	0.19, 5.95
PG12D	0.00			0.00	0.00, 1.6E+54
PG12V	2.97	0.12, 76.6		18.2	0.18, 3.618
N/E	0.16	0.01, 0.80		0.07	0.00, 0.50
pattern			0.002		
acinare	—	—		—	—
lepidico	0.00				
solido	3.77	1.52, 9.38			
mucinoso			0.94		

no	—	—	—	—
sì	0.97	0.35, 2.38		
necrosi neoplastica			0.004	
<10%	—	—	—	—
11-30%	3.14	1.11, 8.56		
>30%	4.59	1.63, 13.0		
infiltrato linfomonocitario			0.39	
<10%	—	—	—	—
11-30%	1.40	0.64, 3.12		
>30%	0.61	0.13, 2.12		
fibrosi			0.78	
<10%	—	—	—	—
11-30%	0.97	0.43, 2.15		
>30%	0.63	0.14, 2.16		
invasione pleura			0.57	
PL0	—	—	—	—
PL1	1.23	0.55, 2.84		
PL2	2.72	0.62, 11.1		
PL3	2.04	0.09, 23.1		
Staging = IAT > = T2a			<0.001	<0.001
no	—	—	—	—
yes	24.2	4.95, 436	31.9	5.37, 656

¹OR = Odds Ratio, CI = Confidence Interval

4.2.4. CURVE DI SOPRAVVIVENZA E DI RECIDIVA

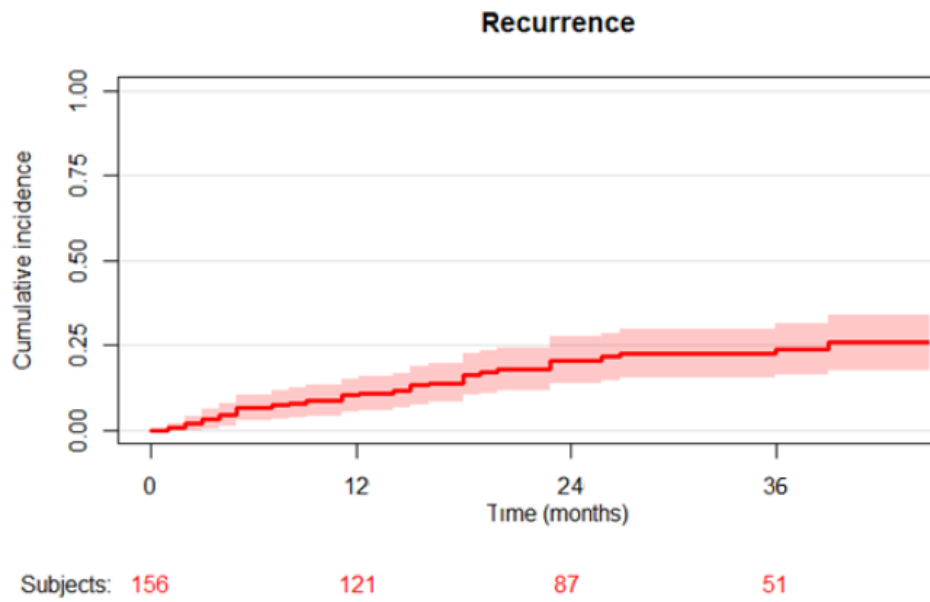
Overall survival



1, 2, 3 -yr Survival Summary and Table

time	Number at Risk	Number of Events	Survival	95% Confidence Interval	
				Lower	Upper
12	126	16	0.889	0.839	0.942
24	90	10	0.808	0.744	0.878
36	54	0	0.808	0.744	0.878

Cumulative incidence (DFS)



1, 2, 3 -yr Cumulative Incidence Function Table

time	Number at Risk	Number of Events	Cumulative Incidence	95% Confidence Interval	
				Lower	Upper
12	121	1	0.109	0.059	0.160
24	87	0	0.206	0.137	0.275
36	51	1	0.240	0.163	0.316

5. DISCUSSIONE:

La finalità principale dello studio è stata quella di trovare una correlazione tra il valore di SUVmax nella PET e i markers immunofenotipici più frequenti nell'adenocarcinoma polmonare, cioè le mutazioni di EGFR e KRAS, i riarrangiamenti di ALK e ROS1 e l'espressione di PD-L1, ai fini di definire meglio la prognosi.

Dai risultati ottenuti nell'analisi per ricercare le correlazioni con SUVmax, si è visto che non vi è nessuna correlazione statisticamente significativa e rilevante tra questi markers e il valore di SUV, a parte una debole associazione positiva con l'espressione di PD-L1.

Invece, si è dimostrato che vi è un'associazione significativa positiva ($p=0.014$) tra SUVmax e indice mitotico, in particolare per i valori inferiori a 10 HPF: ciò indica che all'aumentare del valore di SUV, aumenta l'indice mitotico. Si è riscontrata, inoltre, una correlazione statisticamente significativa tra SUVmax e il pattern di crescita dell'adenocarcinoma ($p<0.001$); in particolare, vi è una correlazione di tipo positivo con il pattern prevalentemente solido ($\beta=5.1$): ciò significa che all'aumentare del valore di SUVmax, è più probabile che il pattern dell'adenocarcinoma sia solido, che infatti è aggressivo e a prognosi infausta; invece, vi è una correlazione negativa con il pattern prevalentemente lepidico ($\beta = -4.6$): questo indica che il pattern lepidico, che è quello caratterizzato da prognosi migliore, all'aumentare del valore di SUV, esso è meno probabile che sia presente. La percentuale di necrosi neoplastica presenta una correlazione lineare statisticamente significativa all'analisi multivariata ($p<0.001$) per la fascia $>30\%$ ($\beta=9.4$) e per la fascia 11-30% ($\beta=2.6$): quindi, all'aumentare del valore di SUV, aumenta anche la percentuale di necrosi all'interno della neoplasia; questo vale anche per l'infiltrato linfomonocitario, ma solo per percentuali $>30\%$, ($p=0.013$, OR=4.4). Si è riscontrata una correlazione lineare statisticamente significativa ($p<0.001$) fra riscontro di metastasi linfonodali e captazione PET ($\beta=4.2$): all'aumentare del valore di SUVmax a carico del tumore primitivo è più probabile che corrisponda un adenocarcinoma caratterizzato da maggiore aggressività e tendenza a sviluppare metastasi linfonodale, con rischio di upstaging all'esame istologico definitivo. Infine, il $pT \geq T2a$ correla linearmente con la captazione PET ($\beta=3.0$; CI 1.0-5.1, $p=0.003$) e anche in questo caso la correlazione è positiva, cioè

all'aumentare del valore di SUV avremo uno stadio del tumore più avanzato, dal T2a in poi.

Nell'analisi per la ricerca delle correlazioni con $pT \geq T2a$ si è riscontrata una correlazione statisticamente significativa, anche se debole, all'analisi multivariata, con il valore di SUVmax, con $p=0.003$, $OR=1.13$ e $CI95\% 1.04, 1.24$: ciò significa che c'è una corrispondenza positiva tra aumento del valore dell'indice SUVmax e $pT \geq T2a$. Un'altra correlazione significativa in questa analisi è stata quella con il pattern di crescita dell'adenocarcinoma ($p=0.019$): il pattern lepidico ($OR=0,24$, $CI95\% 0,05-0,97$, $p=0.019$) presenta OR minore di 1 (associazione negativa) con $CI95\%$ compreso tra 0.05 e 0.97, pertanto è associato a stadi più precoci del tumore; non vi è correlazione statisticamente significativa con il pattern solido in quanto, nonostante la p significativa e l'OR elevato, il $CI95\%$ dell'OR comprende il valore 1, quindi c'è possibilità di assenza della correlazione. Poi vi è correlazione statisticamente significativa e positiva con l'invasione della pleura ($p<0.001$), in particolare per PL1 ($OR=21.4$ all'analisi multivariata) e PL2 ($OR=7.56$ all'analisi multivariata): questo significa che l'invasione pleurica è associata ad un grado di $pT \geq T2a$. Infine, $pT \geq T2a$ è correlato con $pN > N0$: infatti l'associazione ha significatività statistica data da $p<0.001$ e $OR=36.9$: quindi, ad una maggiore estensione del tumore corrisponde anche un maggior coinvolgimento dei linfonodi. Per le altre variabili non si è raggiunta la significatività statistica.

L'analisi per la ricerca delle correlazioni con $pN > N0$ ha fatto emergere un'associazione statisticamente significativa ($p<0.001$) con SUVmax, ma debole, in quanto $OR=1.11$. L'indice mitotico (HPF) presenta una correlazione statisticamente significativa ($p<0.001$) con pN , in particolare per la fascia 5-10 ($OR=22.9$ nell'analisi multivariata) e per la fascia 2-4 ($OR=6.57$ nell'analisi multivariata); quindi, all'aumentare dell'indice mitotico corrisponde un coinvolgimento linfonodale più avanzato. L'espressione di PD-L1 (%) è debolmente associata in modo positivo a pN , con $p=0.002$ e $OR=1.02$. C'è una correlazione statisticamente significativa anche tra il pattern solido e pN ($p=0.002$ e $OR=3.77$), quindi il pattern solido si associa ad un parametro N più alto. La percentuale di necrosi neoplastica presenta un'associazione positiva statisticamente significativa con pN : p è 0.004 e OR per la fascia 11-30% è 3.14, mentre per la fascia $>30\%$ è 4.59. Infine, all'analisi multivariata, $pT \geq T2a$ è correlato a pN con

$p < 0.001$ e $OR = 31.9$, quindi all'aumentare del valore del parametro T, aumenta anche il coinvolgimento linfonodale. Non sono state rilevate altre correlazioni statisticamente significative.

6. CONCLUSIONI:

Da questo studio è risultato che, negli adenocarcinomi polmonari, il valore dell'indice SUV rilevato alla PET non è correlato ai tipici markers immunofenotipici dell'adenocarcinoma polmonare, cioè le mutazioni di EGFR e KRAS e i riarrangiamenti di ALK e ROS1, mentre c'è una debole correlazione positiva significativa con l'espressione di PD-L1; tuttavia, queste correlazioni meriterebbero di essere indagate ulteriormente con un campione più numeroso. Sono state trovate, invece, correlazioni tra il valore di SUVmax e alcune caratteristiche istologiche dell'adenocarcinoma, come il pattern, l'indice mitotico, la presenza di necrosi neoplastica e infiltrato linfomonocitario. Infatti, possiamo concludere che al crescere del valore di SUV si ha un pattern di crescita più aggressivo e con prognosi peggiore (quello solido), cui corrisponde anche un indice mitotico più elevato, mentre a valori più bassi corrisponde un pattern di crescita meno aggressivo e con prognosi migliore (quello lepidico). Inoltre, si è visto che la necrosi neoplastica e l'infiltrato linfomonocitario captano di più alla PET, pertanto un valore elevato di SUVmax suggerisce già che si possono trovare questi aspetti istologici nell'adenocarcinoma in esame. Infine, si è trovata una correlazione statisticamente significativa tra il valore di SUVmax e i parametri T e N della stadiazione TNM. In particolare, a valori di SUV elevati corrispondono adenocarcinomi di dimensioni $pT > 2T_a$ e con $pN > 0$, quindi di stadio più avanzato e pertanto con prognosi peggiore.

7. LIMITI DELLO STUDIO:

I limiti dello studio derivano principalmente dal fatto che solo recentemente è stato introdotto di routine lo studio di EGFR, KRAS, ALK, ROS1, PD-L1 negli esami istologici, in particolare dal 2018. Pertanto, innanzitutto si aveva una bassa numerosità del campione: ciò ha determinato un'ulteriore difficoltà nell'aver numeri significativi di casi di adenocarcinomi mutati, viste le percentuali già basse che caratterizzano la diffusione di queste mutazioni; inoltre, in molti esami istologici tra quelli dei pazienti selezionati non sono state ricercate alcune fra queste mutazioni. Infine, la ridotta finestra temporale di osservazione dei pazienti non ha permesso di avere informazioni prognostiche più a lungo termine.

8. BIBLIOGRAFIA:

1. *Thoracic Tumours. WHO Classification of Tumours*, 5th Edition, IARC, Lyon 2021.
2. Rossi G, Pelosi G, Barbareschi M, et al. *Subtyping non-small cell lung cancer: relevant issues and operative recommendations for the best pathology practice*. *Int J Surg Pathol*. 2013;21:326-36.
3. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. *Global Epidemiology of Lung Cancer*. *Ann Glob Health*. 2019 Jan 22;85(1):8. doi: 10.5334/aogh.2419. PMID: 30741509; PMCID: PMC6724220
4. ISTAT
5. International Agency for Research on Cancer. *World Health Organization. GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
6. Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. *Global surveillance of cancer survival 1995–2009: analysis of individual data for 25,676,887; patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2)*. *Lancet* 2015;385(9972):977–1010.
7. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. *Global epidemiology of lung cancer*. *Ann Glob Health* 2019;85. doi:10.5334/aogh.2419. Print: 22 Jan 2019.
8. Centers for Disease Control and Prevention. *Lung cancer rates by race and ethnicity*, <http://www.cdc.gov/cancer/lung/statistics/race.htm>. Accessed May 2015.
9. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote ML (2015) *Lung Cancer Incidence Trends by Gender, Race and Histology in the United States, 1973–2010*. *PLoS ONE* 10(3): e0121323. doi:10.1371/journal.pone.0121323
10. Yorio JT, Yan J, Xie Y, et al. *Socioeconomic disparities in lung cancer treatment and outcomes persist within a single academic medical center*. *Clin Lung Cancer* 2012;13(6):448–457.
11. Samuel CA, Landrum MB, McNeil BJ, et al. *Racial disparities in cancer care in the Veterans Affairs health care system and the role of site of care*. *Am J Public Health* 2014;104(4):S562–S571.

12. DeSantis C, Naishadham D, Jemal A. *Cancer statistics for African Americans*, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013;63:151–166.
13. Meza R, Meernik C, Jeon J, Cote ML (2015) *Lung Cancer Incidence Trends by Gender, Race and Histology in the United States, 1973–2010*. *PLoS ONE* 10(3): e0121323. doi:10.1371/journal. Pone.0121323
14. Alberg AJ, Brock MV, Samet JM. *Epidemiology of lung cancer: looking to the future*. *J Clin Oncol*. 2005;23:3175-85.
15. Jha and Peto. *Global effects of smoking, of quitting, and of taxing tobacco*. *New Engl J Med*. 2014; 370(1):60-8.
16. Crispo A, Brennan P, Jöckel KH, et al. *The cumulative risk of lung cancer among current, ex- and never-smokers in European men*. *Br J Cancer*. 2004;91:1280-6.
17. NCI's Dictionary of Cancer Terms, *Definition of pack year*.
18. Hecht SS. *Tobacco smoke carcinogens and lung cancer*. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1194–210.
19. Hecht SS. *Tobacco smoke carcinogens and lung cancer*. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1194–1210.
20. Zhong L, Goldberg MS, Parent ME, Hanley JA. *Exposure to environmental tobacco smoke and the risk of lung cancer: a meta-analysis*. *Lung Cancer*. 2000;27:3-18.
21. Taylor R, Najafi F, Dobson A. *Meta-analysis of studies of passive smoking and lung cancer: effects of study type and continent*. *Int J Epidemiol*. 2007;36:1048-59.
22. National Research Council. *Environmental Tobacco Smoke: Measuring Exposures and Assessing Health Effects*. Washington, DC: U.S. National Research Council, National Academy Press; 1986.
23. Boffetta P. *Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence*. *Mutat Res*. 2006 Sep 28;608(2):157–162. Epub 2006 Jul 13.
24. Oberg M, Jaakkola MS, Woodward A, et al. *Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries*. *Lancet* 377(9760):8–14.
25. Indagine Doxa-ISS 2021, *Il fumo di tabacco in Italia*.
26. Uppstad H, Osnes GH, Cole KJ, et al. *Sex differences in susceptibility to*

- PAHs is an intrinsic property of human lung adenocarcinoma cells. Lung Cancer* 2011;71:264–70.
27. Higashi E, Fukami T, Itoh M, *et al.* *Human CYP2A6 is induced by estrogen via estrogen receptor. Drug Metab Dispos* 2007;35:1935–41.
 28. Nakachi K, Imai K, Hayashi S, *et al.* *Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. Cancer Res* 1993;53:2994–9.
 29. Mollerup S, Berge G, Baera R, *et al.* *Sex differences in risk of lung cancer: expression of genes in the PAH bioactivation pathway in relation to smoking and bulky DNA adducts. Int J Cancer* 2006;119:741–4.
 30. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS, *et al.* *Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. Br J Cancer* 2005;93:825–833.
 31. Cassidy A, Myles JP, van Tongeren M, *et al.* *The LLP risk model: an individual risk prediction model for lung cancer. Br J Cancer* 2008;98:270–276.
 32. Schwartz MR, Prysak GM, Bock CH, *et al.* *The molecular epidemiology of lung cancer. Carcinogenesis* 2007;28:507–518.
 33. Bailey-Wilson JE, Amos CI, Pinney SM, *et al.* *A major lung cancer susceptibility locus maps to chromosome 6q23-25. Am J Hum Genet* 2004;75:460–474.
 34. Strickler HD, Schiffman MH, Shah KV, *et al.* *A survey of human papillomavirus 16 antibodies in patients with epithelial cancers. Eur J Cancer Prev* 1998;7:305–13.
 35. Klein SL, Flanagan KL. *Sex differences in immune responses. Nat Rev Immunol* 2016;16:626–38.
 36. Pala L, Nezi L, De Pas T, *et al.* *Sex differences in efficacy and toxicity of systemic cancer treatments: role of the microbiome. J Clin Oncol* 2019;37:439.
 37. Seijo LM, Zulueta JJ. *Understanding the Links Between Lung Cancer, COPD, and Emphysema: A Key to More Effective Treatment and Screening. Oncology (Williston Park)*. 2017 Feb 15;31(2):93-102. PMID: 28205188.
 38. Wu AH, Reynolds P, *et al.* *Previous lung disease and risk of lung cancer*

- among lifetime nonsmoking women in the United States. *Am J Epidemiol* 1995;141:1023–1032.
39. Rimington J. *Smoking, chronic bronchitis, and lung cancer. Br Med J.* 1971 May 15;2(5758):373-5. doi: 10.1136/bmj.2.5758.373. PMID: 5575974; PMCID: PMC1795764.
40. Brenner DR, McLaughlin JR, Hung RJ. *Previous lung diseases and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. PLoS One.* 2011 Mar 31;6(3):e17479. doi: 10.1371/journal.pone.0017479. PMID: 21483846; PMCID: PMC3069026.
41. Hubbard R, Venn A, Lewis S, et al. *Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:5–8.
42. Abu-Shakra M, Guillemin F, Lee P. *Cancer in systemic sclerosis. Arthritis Rheum* 1993;36:460–464.
43. David W. Kamp, *Asbestos induced lung diseases: an update. Tran.* 2009 Apr; 153(4): 143-152.
44. Nancy Vogeltanz-Holm, Gary G. Schwartz. *Radon and lung cancer: what does the public really know? Journal of Environmental Radioactivity,* volume 192, December 2018, pages 26-31.
45. D. Krewski, J.H. Lubin, J.M. Zielinski, et al. *Residential radon and risk of lung cancer: a combined analysis of 7 American case-control studies Epidemiology,* 16 (2005), pp.127-145.
46. V. Jobbágy, T. Altitzoglou, P. Mayo, V. Tanner, M. Hult. *A brief overview of radon measurements in drinking water J. Environ. Radioact.,* 173 (2017), pp.18-24
47. Gharibvand L, Shavlik D, Ghamsary M, et al. *The association between ambient particulate air pollution and lung cancer incidence: results from the AHSMOG-2 study. Environ Health Perspect.* 2017;125(3):378-84.
48. *Outdoor air pollution and lung cancer.* A J Cohen, *Environ Health Perspect,* 2000 Aug, 108 (Suppl 4): 743-750.
49. U.S. EPA. *National Air Quality and Emissions Trends Report, 1995.* EPA 454/R-96-005. Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental Protection Agency, 1996.

50. Dockery DW, Pope CA 3rd, Xu X, et al. *An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. N Engl J Med* 1993;329:1753–1759.
51. Pope CA 3rd, Burnett RT, Thun MJ, et al. *Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. JAMA* 2002;287:1132–1141.
52. Travis WD, Brambilla E, Burke AP, et al. *Tumours of the lung. WHO classification of tumours of the lung, pleura, thymus and heart.* Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2015:9-151.
53. Lewis DR, Check DP, Caporaso NE, et al. *US lung cancer trends by histologic type. Cancer* 2014;120:2883–2892.
54. Kuhn E, Morbini P, Cancellieri A, Damiani S, Cavazza A, Comin CE. *Adenocarcinoma classification: patterns and prognosis. Pathologica.* 2018 Mar;110(1):5-11. PMID: 30259909.
55. E. Kuhn, P. Morbini, A. Cancellieri, S. Damiani, A. Cavazza, C.E. Comin, *Adenocarcinoma classification: patterns and prognosis.* In: *Pathologica – ISSN 1591-951X.* - 110:1(2018 Mar) – pp. 5-11.
56. Edwards CW. *Pulmonary adenocarcinoma: Review of 106 cases and proposed new classification. J Clin Pathol* 1987;40:125–135.
57. Kodama T, Shimosato Y, Koide T, et al. *Endobronchial polypoid adenocarcinoma of the lung. Histological and ultrastructural studies of five cases. Am J Surg Pathol* 1984;8:845–854.
58. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. *International association for the study of lung cancer/american thoracic society/european respiratory society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. J Thorac Oncol* 2011;6:244–285.
59. Song Z, Zhu H, Guo Z, et al. *Prognostic value of the IASLC/ATS/ERS classification in stage I lung adenocarcinoma patients – based on a hospital study in China. Eur J Surg Oncol* 2013;39:1262-8.
60. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, 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* 2011;24:653-64.
61. Borczuk AC. *Assessment of invasion in lung adenocarcinoma*

- classification, including adenocarcinoma in situ and minimally invasive adenocarcinoma. Mod Pathol* 2012;25 Suppl 1:S1-10.
62. Xu L, Tavora F, Burke A. *Histologic features associated with metastatic potential in invasive adenocarcinomas of the lung. Am J Surg Pathol* 2013;37:1100-8.
63. Sica G, Yoshizawa A, Sima CS, et al. *A grading system of lung adenocarcinomas based on histologic pattern is predictive of disease recurrence in stage I tumors. Am J Surg Pathol* 2010;34:1155-62.
64. Song Z, Zhu H, Guo Z, et al. *Prognostic value of the IASLC/ATS/ ERS classification in stage I lung adenocarcinoma patients – based on a hospital study in China. Eur J Surg Oncol* 2013;39:1262-8.
65. Warth A, Muley T, Meister M, et al. *The novel histologic International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification system of lung adenocarcinoma is a stage-independent predictor of survival. J Clin Oncol* 2012;30:1438-46.
66. Russell PA, Wainer Z, Wright GM, et al. *Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival? A clinicopathologic study based on the new International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. J Thorac Oncol* 2011; 6: 1496–1504.
67. Hu HD, Wan MY, Xu CH, et al. *Histological subtypes of solitary pulmonary nodules of adenocarcinoma and their clinical relevance. J Thorac Dis* 2013;5:841-6
68. Moreira AL, Joubert P, Downey RJ, et al. *Cribriiform and fused glands are patterns of high-grade pulmonary adenocarcinoma. Hum Pathol* 2014;45:213-20.
69. Kadota K, Yeh YC, Sima CS, et al. *The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. Mod Pathol* 2014;27:690-700.

70. Fois, S.S.; Paliogiannis, P.; Zinellu, A.; Fois, A.G.; Cossu, A.; Palmieri, G. *Molecular Epidemiology of the Main Druggable Genetic Alterations in Non-Small Cell Lung Cancer*. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 612. <https://doi.org/10.3390/ijms22020612>.
71. Roskoski, R., Jr. *The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer*. *Pharmacol. Res.* 2014, 79, 34–74.
72. Herbst RS (2004). "Review of epidermal growth factor receptor biology". *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 59 (2 Suppl): 21–6.
73. Zhang H, Berezov A, Wang Q, Zhang G, Drebin J, Murali R, Greene MI (August 2007). "ErbB receptors: from oncogenes to targeted cancer treatment". *The Journal of Clinical Investigation*. 117 (8): 2051–8. doi:10.1172/JCI32278. PMC 1934579. PMID 17671639.
74. Yarden Y, Schlessinger J (March 1987). "Epidermal growth factor induces rapid, reversible aggregation of the purified epidermal growth factor receptor". *Biochemistry*. 26 (5): 1443–51. doi:10.1021/bi00379a035. PMID 3494473.
75. Downward J, Parker P, Waterfield MD (1984). "Autophosphorylation sites on the epidermal growth factor receptor". *Nature*. 311 (5985): 483–5. Bibcode:1984Natur.311..483D. doi:10.1038/311483a0. PMID 6090945. S2CID 4332354.
76. Paliogiannis, P.; Attene, F.; Cossu, A.; Defraia, E.; Porcu, G.; Carta, A.; Sotgiu, M.I.; Pazzola, A.; Cordero, L.; Capelli, F.; et al. *Impact of tissue type and content of neoplastic cells of samples on the quality of epidermal growth factor receptor mutation analysis among patients with lung adenocarcinoma*. *Mol. Med. Rep.* 2015, 12, 187–191.
77. Oda K, Matsuoka Y, Funahashi A, Kitano H (2005). "A comprehensive pathway map of epidermal growth factor receptor signaling". *Molecular Systems Biology*. 1 (1): E1–E17. doi:10.1038/msb4100014. PMC 1681468. PMID 16729045.
78. Bae, N.C.; Chae, M.H.; Lee, M.H.; Kim, K.M.; Lee, E.B.; Kim, C.H.; Park, T.I.; Han, S.B.; Jheon, S.; Jung, T.H.; et al. *EGFR, ERBB2, and KRAS mutations in Korean non-small cell lung cancer patients*. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2007, 173, 107–113.

79. Masood, A.; Kancha, R.K.; Subramanian, J. *Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer harboring uncommon EGFR mutations: Focus on afatinib*. *Semin. Oncol.* 2019, 46, 271–283.
80. Yun, C.H.; Boggon, T.J.; Li, Y.; Woo, M.S.; Greulich, H.; Meyerson, M.; Eck, M.J. *Structures of lung cancer-derived EGFR mutants and inhibitor complexes: Mechanism of activation and insights into differential inhibitor sensitivity*. *Cancer Cell.* 2007, 11, 217–227.
81. Yoon HY, Ryu JS, Sim YS, Kim D, Lee SY, Choi J, Park S, Ryu YJ, Lee JH, Chang JH. *Clinical significance of EGFR mutation types in lung adenocarcinoma: A multi-centre Korean study*. *PLoS One.* 2020 Feb 13;15(2):e0228925. doi: 10.1371/journal.pone.0228925. PMID: 32053675; PMCID: PMC7018076.
82. Zhang, Y.L.; Yuan, J.Q.; Wang, K.F.; Fu, X.H.; Han, X.R.; Threapleton, D.; Yang, Z.Y.; Mao, C.; Tang, J.L. *The prevalence of EGFR mutation in patients with non-small cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis*. *Oncotarget* 2016, 7, 78985–78993.
83. Shigematsu, H.; Lin, L.; Takahashi, T.; Nomura, M.; Suzuki, M.; Wistuba, I.I.; Fong, K.M.; Lee, H.; Toyooka, S.; Shimizu, N.; et al. *Clinical and biological features associated with epidermal growth factor receptor gene mutations in lung cancers*. *J. Natl. Cancer Inst.* 2005, 97, 339–346.
84. Kranenburg O. *The KRAS oncogene: past, present, and future*. *Biochim. Biophys. Acta.* 2005;1756:81–82. doi: 10.1016/j.bbcan.2005.10.001.
85. Karnoub A.E., Weinberg R.A. *Ras oncogenes: Split personalities*. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2008;9:517–531. doi: 10.1038/nrm2438.
86. Cox A.D., Der C.J. *Ras history: The saga continues*. *Small GTPases.* 2010;1:2–27. doi: 10.4161/sgtp.1.1.12178.
87. Khosravi-Far R., Solski P.A., Clark G.J., Kinch M.S., Der C.J. *Activation of Rac1, RhoA, and mitogen-activated protein kinases is required for Ras transformation*. *Mol. Cell. Biol.* 1995;15:6443–6453. doi: 10.1128/MCB.15.11.6443.
88. Leever S.J., Paterson H.F., Marshall C.J. *Requirement for Ras in Raf activation is overcome by targeting Raf to the plasma membrane*. *Nature.* 1994;369:411–414. doi: 10.1038/369411a0.

89. Gupta S., Ramjaun A.R., Haiko P., Wang Y., Warne P.H., Nicke B., Nye E., Stamp G., Alitalo K., *Downward J. Binding of Ras to Phosphoinositide 3-Kinase p110 α Is Required for Ras-Driven Tumorigenesis in Mice. Cell.* 2007;129:957–968. doi: 10.1016/j.cell.2007.03.051
90. Rodriguez-Viciano P., Warne P.H., Khwaj A.A., Marte B.M., Pappin D., Das P., Waterfield M.D., Ridley A., Downward J. *Role of Phosphoinositide 3-OH Kinase in Cell Transformation and Control of the Actin Cytoskeleton by Ras. Cell.* 1997;89:457–467. doi: 10.1016/S0092-8674(00)80226-3.
91. Hofer F., Fields S., Schneider C., Martin G.S. *Activated Ras interacts with the Ral guanine nucleotide dissociation stimulator. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994;91:11089–11093. doi: 10.1073/pnas.91.23.11089.
92. Bodemann B.O., White M.A. *Ral GTPases and cancer: Linchpin support of the tumorigenic platform. Nat. Rev. Cancer.* 2008;8:133–140. doi: 10.1038/nrc2296.
93. Martin, P.; Leighl, N.B.; Tsao, M.S.; Shepherd, F.A. *KRAS mutations as prognostic and predictive markers in non-small cell lung cancer. J. Thorac. Oncol.* 2013, 8, 530–542.
94. Cancer Genome Atlas Research Network. *Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. Nature* 2014, 511, 543–550.
95. Forbes, S.; Clements, J.; Dawson, E.; Bamford, S.; Webb, T.; Dogan, A.; Flanagan, A.; Teague, J.; Wooster, R.; Futreal, P.A.; et al. *COSMIC 2005. Br. J. Cancer* 2006, 94, 318–322.
96. Jiang, A.G.; Lu, H.Y. *k-RAS mutations in non-small cell lung cancer patients treated with TKIs among smokers and non-smokers: A meta-analysis. Contemp. Oncol. (Pozn.)* 2016, 20, 124–129.
97. Riely, G.J.; Marks, J.; Pao, W. *KRAS mutations in non-small cell lung cancer. Proc. Am. Thorac. Soc.* 2009, 6, 201–205.
98. Dogan, S.; Shen, R.; Ang, D.C.; Johnson, M.L.; D'Angelo, S.P.; Paik, P.K.; Brzostowski, E.B.; Riely, G.J.; Kris, M.G.; Zakowski, M.F.; et al. *Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: Higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. Clin. Cancer Res.* 2012, 18, 6169–6177.

99. Martin, P.; Leighl, N.B.; Tsao, M.S.; Shepherd, F.A. *KRAS mutations as prognostic and predictive markers in non-small cell lung cancer. J. Thorac. Oncol.* 2013, 8, 530–542.
100. Linardou, H.; Dahabreh, I.J.; Kanaloupiti, D.; Siannis, F.; Bafaloukos, D.; Kosmidis, P.; Papadimitriou, C.A.; Murray, S. *Assessment of somatic k-RAS mutations as a mechanism associated with resistance to EGFR-targeted agents: A systematic review and meta-analysis of studies in advanced non-small-cell lung cancer and metastatic colorectal cancer. Lancet Oncol.* 2008, 9, 962–972.
101. Mascaux, C.; Iannino, N.; Martin, B.; Paesmans, M.; Berghmans, T.; Dusart, M.; Lothaire, P.; Meert, A.P.; Noel, S.; Lafitte, J.J.; et al. *The role of RAS oncogene in survival of patients with lung cancer: A systematic review of the literature with meta-analysis. Br. J. Cancer* 2005, 92, 131–139.
102. Inamura, K.; Takeuchi, K.; Togashi, Y.; Nomura, K.; Ninomiya, H.; Okui, M.; Satoh, Y.; Okumura, S.; Nakagawa, K.; Soda, M.; et al. *EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. J. Thorac. Oncol.* 2008, 3, 13–17.
103. Rosas, G.; Ruiz, R.; Araujo, J.M.; Pinto, J.A.; Mas, L. *ALK rearrangements: Biology, detection and opportunities of therapy in non-small cell lung cancer. Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2019, 136, 48–55.
104. Soda, M.; Choi, Y.L.; Enomoto, M.; Takada, S.; Yamashita, Y.; Ishikawa, S.; Fujiwara, S.; Watanabe, H.; Kurashina, K.; Hatanaka, H.; et al. *Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. Nature* 2007, 448, 561–566.
105. Inamura, K.; Takeuchi, K.; Togashi, Y.; Nomura, K.; Ninomiya, H.; Okui, M.; Satoh, Y.; Okumura, S.; Nakagawa, K.; Soda, M.; et al. *EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. J. Thorac. Oncol.* 2008, 3, 13–17.
106. He, Y.; Sun, L.Y.; Gong, R.; Liu, Q.; Long, Y.K.; Liu, F.; Wang, F. *The prevalence of EML4-ALK variants in patients with non-small-cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. Biomark. Med.* 2019, 13, 1035–1044.

107. Noh, K.W.; Lee, M.S.; Lee, S.E.; Song, J.Y.; Shin, H.T.; Kim, Y.J.; Oh, D.Y.; Jung, K.; Sung, M.; Kim, M.; et al. *Molecular breakdown: A comprehensive view of anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged non-small cell lung cancer. J. Pathol.* 2017, 243, 307–319.
108. Soda, M.; Choi, Y.L.; Enomoto, M.; Takada, S.; Yamashita, Y.; Ishikawa, S.; Fujiwara, S.; Watanabe, H.; Kurashina, K.; Hatanaka, H.; et al. *Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. Nature* 2007, 448, 561–566.
109. Zhang H, Pao LI, Zhou A, Brace AD, Halenbeck R, Hsu AW, et al. (November 2014). "Deorphanization of the human leukocyte tyrosine kinase (LTK) receptor by a signaling screen of the extracellular proteome". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 111 (44): 15741–5. Bibcode:2014PNAS..11115741Z. doi:10.1073/pnas.1412009111. PMC 4226105. PMID 25331893.
110. Guan J, Umapathy G, Yamazaki Y, Wolfstetter G, Mendoza P, Pfeifer K, et al. (September 2015). "*FAM150A and FAM150B are activating ligands for anaplastic lymphoma kinase*". *eLife.* 4: e09811. doi:10.7554/eLife.09811. PMC 4658194. PMID 26418745.
111. McKeage, M.J.; Tin Tin, S.; Khwaounjoo, P.; Sheath, K.; Dixon-McIver, A.; Ng, D.; Sullivan, R.; Cameron, L.; Shepherd, P.; Laking, G.R.; et al. *Screening for Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) gene rearrangements in non-small cell lung cancer (NSCLC) in New Zealand. Intern. Med. J.* 2020, 50, 716–725.
112. Shaw, A.T.; Yeap, B.Y.; Mino-Kenudson, M.; Digumarthy, S.R.; Costa, D.B.; Heist, R.S.; Solomon, B.; Stubbs, H.; Admane, S.; McDermott, U.; et al. *Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. J. Clin. Oncol.* 2009, 27, 4247–4253.
113. Hou, H.; Zhang, C.; Qi, X.; Zhou, L.; Liu, D.; Lv, H.; Li, T.; Sun, D.; Zhang, X. *Distinctive targetable genotypes of younger patients with lung adenocarcinoma: A cBioPortal for cancer genomics data base analysis. Cancer Biol. Ther.* 2020, 21, 26–33.
114. McKeage, M.J.; Tin Tin, S.; Khwaounjoo, P.; Sheath, K.; Dixon-McIver, A.; Ng, D.; Sullivan, R.; Cameron, L.; Shepherd, P.; Laking, G.R.; et al. *Screening for Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) gene*

- rearrangements in non-small cell lung cancer (NSCLC) in New Zealand. Intern. Med. J.* 2020, 50, 716–725.
115. Nagarajan, L.; Louie, E.; Tsujimoto, Y.; Balduzzi, P.C.; Huebner, K.; Croce, C.M. *The human c-ros gene (ROS) is located at chromosome region 6q16–6q22.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986, 83, 6568–6572.
116. Acquaviva, J.; Wong, R.; Charest, A. *The multifaceted roles of the receptor tyrosine kinase ROS in development and cancer.* Biochim. Biophys. Acta 2009, 1795, 37–52.
117. Cai, W.; Li, X.; Su, C.; Fan, L.; Zheng, L.; Fei, K.; Zhou, C.; Manegold, C.; Schmid-Bindert, G. *ROS1 fusions in Chinese patients with non-small-cell lung cancer.* Ann. Oncol. 2013, 24, 1822–1827.
118. Chin, L.P.; Soo, R.A.; Soong, R.; Ou, S.H. *Targeting ROS1 with anaplastic lymphoma kinase inhibitors: A promising therapeutic strategy for a newly defined molecular subset of non-small-cell lung cancer.* J. Thorac. Oncol. 2012, 7, 1625–1630.
119. Pal, P.; Khan, Z. *ROS1.* J. Clin. Pathol. 2017, 70, 1001–1009.
120. Charest, A.; Wilker, E.W.; McLaughlin, M.E.; Lane, K.; Gowda, R.; Coven, S.; McMahon, K.; Kovach, S.; Feng, Y.; Yaffe, M.B.; 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. 2006, 66, 7473–7481.
121. Rikova, K.; Guo, A.; Zeng, Q.; Possemato, A.; Yu, J.; Haack, H.; Nardone, J.; Lee, K.; Reeves, C.; Li, Y.; et al. *Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer.* Cell 2007, 131, 1190–1203.
122. Cai, W.; Li, X.; Su, C.; Fan, L.; Zheng, L.; Fei, K.; Zhou, C.; Manegold, C.; Schmid-Bindert, G. *ROS1 fusions in Chinese patients with non-small-cell lung cancer.* Ann. Oncol. 2013, 24, 1822–1827] [Pal, P.; Khan, Z. *ROS1.* J. Clin. Pathol. 2017, 70, 1001–1009.
123. Rikova, K.; Guo, A.; Zeng, Q.; Possemato, A.; Yu, J.; Haack, H.; Nardone, J.; Lee, K.; Reeves, C.; Li, Y.; et al. *Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer.* Cell 2007, 131, 1190–1203.

124. 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.* 2015, 4, 300–309.
125. Butte MJ, Peña-Cruz V, Kim MJ, Freeman GJ, Sharpe AH (August 2008). "Interaction of human PD-L1 and B7-1". *Molecular Immunology.* 45 (13): 3567–72. doi:10.1016/j.molimm.2008.05.014. PMC 3764616. PMID 18585785.
126. Flies DB, Chen L (April 2007). "The new B7s: playing a pivotal role in tumor immunity". *Journal of Immunotherapy.* 30 (3): 251–60. doi:10.1097/CJI.0b013e31802e085a. PMID 17414316.
127. Lee SJ, Jang BC, Lee SW, Yang YI, Suh SI, Park YM, Oh S, Shin JG, Yao S, Chen L, Choi IH (February 2006). "Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN-gamma-induced upregulation of B7-H1 (CD274)". *FEBS Letters.* 580 (3): 755–62. doi:10.1016/j.febslet.2005.12.093. PMID 16413538. S2CID 11169726.
128. Larsen TV, Hussmann D, Nielsen AL. *PD-L1 and PD-L2 expression correlated genes in non-small-cell lung cancer. Cancer Commun (Lond).* 2019 Jun 3;39(1):30. doi: 10.1186/s40880-019-0376-6. PMID: 31159869; PMCID: PMC6545701.
129. Janzic U, Kern I, Janzic A, et al. *PD-L1 expression in squamous-cell carcinoma and adenocarcinoma of the lung. Radiol Oncol* 2017; 51: 357-62.
130. Scheel AH, Ansén S, Schultheis AM, et al. *PD-L1 expression in non-small cell lung cancer: correlations with genetic alterations. Oncoimmunology* 2016; 5: e1131379.
131. Zhang M, Li G, Wang Y, et al. *PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. Sci Rep* 2017; 7: 10255.
132. Zhang Y, Wang L, Li Y, et al. *Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2 independently predict poor prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. Onco Targets Ther* 2014; 7: 567-73.
133. Bodor JN, Boumber Y, Borghaei H. *Biomarkers for immune checkpoint inhibition in non-small cell lung cancer (NSCLC). Cancer.* 2020

- Jan 15;126(2):260-270. doi: 10.1002/cncr.32468. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31691957; PMCID: PMC7372560.
134. Mack MJ, Hazelrigg SR, Landreneau RJ, Acuft TE. *Thoracoscopy for the diagnosis of the indeterminate solitary pulmonary nodule. Ann Thorac Surg.* 1993;56:825-832
 135. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. *Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol.* 2017;Suppl 28:1-21.
 136. *Lung cancer Diagnosis and Management.* NICE guideline 2019. www.nice.org.uk/guidance/ng122.
 137. Boring CC, Squires TS, Tung T. *Cancer statistics: 1992. CA Cancer J Clin.* 1992;42:19-43.
 138. Goldman LW. *Principles of CT and CT technology. J Nucl Med Technol.* 2007 Sep;35(3):115-28; quiz 129-30. doi: 10.2967/jnmt.107.042978. PMID: 17823453.]
 139. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. *Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol.* 2017;Suppl 28:1-21.]
 140. Linee Guida AIOM 2021.
 141. Coleman RE. *PET in lung cancer. J Nucl Med.* 1999 May;40(5):814-20. PMID: 10319756.
 142. Palumbo B, Sabalich I, Tranfaglia C, et al. *Molecular Imaging with PET (Positron Emission Tomography) in the evaluation of brain tumours. Trends Med 2009;* 9(3):147-151. © 2009 Pharma Project Group srl. ISSN: 1594-2848
 143. Lindholm P, Minn H, Leskinen-Kallio S, Bergman J, Ruotsalainen U, Joensuu H. *Influence of the blood glucose concentration on FDG uptake in cancer: a PET study. J Nucl Med.* 1993;34:1-6.
 144. Rufini V, Calcagni ML, Baum RP. *Imaging of neuroendocrine tumors. Semin Nucl Med* 2006; 36:228-247.
 145. Mottaghy FM, Reske SN. *Functional imaging of neuroendocrine tumors with PET. Pituitary* 2006; 9:237-242.

146. Smith TAD. *FDG uptake, tumour characteristics, and response to therapy: a review. Nucl Med Commun.* 1998; 19:97-105.
147. G. Lucignani; G. Paganelli; E. Bombardieri (2004). "The use of standardized uptake values for assessing FDG uptake with PET in oncology: A clinical perspective". *Nuclear Medicine Communications.* **25** (7): 651–656. doi:10.1097/01.mnm.0000134329.30912.49. PMID 15208491. S2CID 38728335.
148. Centi Colella A, Liberatore M, Ponzio F. *PET clinica: la tomografia per emissione di positoni nella diagnostica clinica.* Edizioni Luigi Pozzi 2004; 24-35.
149. Eriksson B, Orlefors H, Oberg K, et al. *Developments in PET for the detection of endocrine tumours. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005; 19:311- 324.
150. Rami-Porta R, Bolejack V, Crowley J, et al. *The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revisions of the T descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for Lung Cancer. J Thorac Oncol.* 2015;10:990-1003.
151. Asamura H, Chansky K, Crowley J, et al. *The International Association for the Study of Lung Cancer Lung Cancer Staging Project: proposals for the revisions of the N descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for lung cancer. J Thorac Oncol.* 2015;10:1675-84.
152. Eberhardt WE, Mitchell A, Crowley J, et al. *The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revisions of the M descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification for Lung Cancer. J Thorac Oncol.* 2015;10:1515-22.
153. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. *The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revisions of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edition of the TNM classification for Lung Cancer. J Thorac Oncol* 2016;11:39-51.
154. Chansky K, Detterbeck FC, Nicholson AG, et al. *The IASLC Lung Cancer Staging Project: external validation of the revision of the TNM stage groupings in the eighth edition of the TNM classification of lung*

- cancer. J Thorac Oncol.* 2017;12:1109-21.
155. Howington JA, Blum MG, Chang AC, et al. *Treatment of stage I and II non-small cell lung cancer. Chest.* 2013;143:e278S-e313S.
156. Anastasi et al., *Trattato di Anatomia Umana, volume II*, pagg. 265-266, Milano, Edi.Ermes, 2012, ISBN 978-88-7051-286-1.
157. Anastasi et al., *Trattato di Anatomia Umana, volume II*, pagg. 268, Milano, Edi.Ermes, 2012, ISBN 978-88-7051-286-1.
158. Anastasi et al., *Trattato di Anatomia Umana, volume II*, pagg. 268, 269, 271, 276, Milano, Edi.Ermes, 2012, ISBN 978-88-7051-286-1.
159. Anastasi et al., *Trattato di Anatomia Umana, volume II*, pagg. 288, 291 Milano, Edi.Ermes, 2012, ISBN 978-88-7051-286-1.
160. Brunelli A, Falcoz PE, D'Amico T, et al. *European guidelines on structure and qualification of general thoracic surgery. Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45:779-86.
161. Jiang L, Yin W, Peng G, et al. *Prognosis and status of lymph node involvement in patients with adenocarcinoma in situ and minimally invasive adenocarcinoma-a systematic literature review and pooled-data analysis. J Thorac Dis.* 2015;7:2003-9.
162. De Leyn P, Doooms C, Kuzdzal J, et al. *Revised ESTS guidelines for preoperative mediastinal lymph node staging for non-small-cell lung cancer. Eur J Cardiothorac Surg.* 2014;45:787-98.
163. Renzo Dionigi, *Chirurgia basi teoriche e Chirurgia generale*, Milano, Elsevier-Masson, 2006, ISBN 978-88-214-2912-5.
164. *Chirurgia Toracica Videoassistita*, p. 70. Corrado Lavini, Ciro Ruggiero, Uliano Morandi. Springer, 2006. ISBN 9788847005211.
165. Chansky K, Detterbeck FC, Nicholson AG, et al. *The IASLC Lung Cancer Staging Project: external validation of the revision of the TNM stage groupings in the eighth edition of the TNM classification of lung cancer. J Thorac Oncol.* 2017;12:1109-21.
166. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. *Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol.* 2017;28(suppl4):1-21

167. Pisters KMW, Evans WK, Azzoli CG, et al. *Cancer Care Ontario and American Society of Clinical Oncology adjuvant chemotherapy and adjuvant radiation therapy for stages I-IIIa resectable non-small-cell lung cancer guideline.*
168. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, et al. *Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. J Clin Oncol.* 2008;26:3552-9.
169. Burdett S, Pignon JP, Tierney J, et al. *Adjuvant chemotherapy for resected early-stage non-small cell lung cancer.* Cochrane Database Syst Rev. 2015;3:CD011430.
170. Salazar MC, Rosen JE, Wang Z, et al. *Association of delayed adjuvant chemotherapy with survival after lung cancer surgery. JAMA Oncol.* 2017;3:610-9.
171. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, et al. *Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. J Clin Oncol.* 2008;26:3552-9.
172. Burdett S, Pignon JP, Tierney J, et al. *Adjuvant chemotherapy for resected early-stage non-small cell lung cancer.* Cochrane Database Syst Rev. 2015;3:CD011430.
173. Martin LW, Darling GE, Wigle DA. *Adjuvant radiotherapy for resectable locally advanced non-small cell lung cancer: Benefit or harm? J Thorac Cardiovasc Surg.* 2015 Dec;150(6):1407-9. doi: 10.1016/j.jtcvs.2015.09.003. Epub 2015 Sep 5. PMID: 26454524.
174. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. *Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N Engl J Med.* 2009;36:947-57.
175. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. *Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2010;11:121-8.
176. Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al. *Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2014;15:213-22.].
177. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. *Gefitinib or*

- chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. N Engl J Med.* 2010;362:2380-8.
178. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. *Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. Nature Reviews Cancer.* 2007;7:169–81.
179. Cheng Y, He Y, Li W, Zhang HL, Zhou Q, Wang B, Liu C, Walding A, Saggese M, Huang X, Fan M, Wang J, Ramalingam SS. *Osimertinib Versus Comparator EGFR TKI as First-Line Treatment for EGFR-Mutated Advanced NSCLC: FLAURA China, A Randomized Study. Target Oncol.* 2021 Mar;16(2):165-176. doi: 10.1007/s11523-021-00794-6. Epub 2021 Feb 5. PMID: 33544337; PMCID: PMC7935816.
180. Ohe Y, Imamura F, Nogami N, Okamoto I, Kurata T, Kato T, Sugawara S, Ramalingam SS, Uchida H, Hodge R, Vowler SL, Walding A, Nakagawa K. *Osimertinib versus standard-of-care EGFR-TKI as first-line treatment for EGFRm advanced NSCLC: FLAURA Japanese subset. Jpn J Clin Oncol.* 2019 Jan 1;49(1):29-36. doi: 10.1093/jjco/hyy179. PMID: 30508196; PMCID: PMC6322567.
181. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. *Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. N Engl J Med.* 2009;36:947-57.
182. Han JY, Park K, Kim SW, et al. *First-SIGNAL: first-line single-agent irressa versus gemcitabine and cisplatin trial in never-smokers with adenocarcinoma of the lung. J Clin Oncol.* 2012;30:1122-8.
183. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. *Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2010;11:121-8.]
184. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K, et al. *Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. N Engl J Med.* 2010;362:2380-8.
185. Zhou C, Wu YL, Chen G, et al. *Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. Lancet Oncol.* 2011;12:735-42.
186. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, et al. *Erlotinib versus standard*

- chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, openlabel, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2012;13:239-46.
187. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N, et al. *Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. J Clin Oncol.* 2013;31:3327-34.
188. Wu YL, Zhou C, Hu CP, et al. *Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial. Lancet Oncol.* 2014;15:213-22.
189. Urata Y, Katakami N, Morita S, et al. *Randomized phase III study comparing gefitinib with erlotinib in patients with previously treated advanced lung adenocarcinoma: WJOG 5108L. J Clin Oncol.* 2016;34:3248-57.
190. Park K, Tan EH, O'Byrne K, et al. *Afatinib versus gefitinib as first-line treatment of patients with EGFR mutation positive non-small-cell lung cancer (LUX-Lung 7): a phase 2B, open-label, randomised controlled trial. Lancet Oncol.* 2016;17(5):577-89.
191. Cho JH, Lim SH, An HJ, Kim KH, Park KU, Kang EJ, Choi YH, Ahn MS, Lee MH, Sun JM, Lee SH, Ahn JS, Park K, Ahn MJ. *Osimertinib for Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring Uncommon EGFR Mutations: A Multicenter, Open-Label, Phase II Trial (KCSG-LU15-09). J Clin Oncol.* 2020 Feb 10;38(5):488-495. doi: 10.1200/JCO.19.00931. Epub 2019 Dec 11. PMID: 31825714; PMCID: PMC7098834.
192. Yang JC, Schuler M, Popat S, Miura S, Heeke S, Park K, Märten A, Kim ES. *Afatinib for the Treatment of NSCLC Harboring Uncommon EGFR Mutations: A Database of 693 Cases. J Thorac Oncol.* 2020 May;15(5):803-815. doi: 10.1016/j.jtho.2019.12.126. Epub 2020 Jan 10. PMID: 31931137.
193. Yue D, Xu S, Wang Q, 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.* 2018;6(11):863-73.
194. Feng S, Wang Y, Cai K, 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.
195. Wu YL, Tsuboi M, He J et al. *Osimertinib in resected EGFR-mutated Non-Small Cell Lung Cancer. N Engl J Med.* 2020 Oct 29;383(18):1711-1723.
 196. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al., *Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC. N Engl J Med.* 2018;378(24):2288-2301.
 197. Reck M, Mok TSK, Nishio M, et al. *Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial. Lancet Respir Med.* 2019;7(5):387-401.
 198. Meador CB, Sequist LV, Piotrowska Z. *Targeting EGFR Exon 20 Insertions in Non-Small Cell Lung Cancer: Recent Advances and Clinical Updates. Cancer Discov.* 2021 Sep;11(9):2145-2157. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-0226. Epub 2021 Jul 23. PMID: 34301786; PMCID: PMC8673432.
 199. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al., *Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. J Clin Oncol.* 2009;27(26):4247-53.
 200. Camidge DR, Dziadziuszko R, Peters S, Mok T, Noe J, Nowicka M, Gadgeel SM, Cheema P, Pavlakis N, de Marinis F, Cho BC, Zhang L, Moro-Sibilot D, Liu T, Bordogna W, Balas B, Müller B, Shaw AT. *Updated Efficacy and Safety Data and Impact of the EML4-ALK Fusion Variant on the Efficacy of Alectinib in Untreated ALK-Positive Advanced Non-Small Cell Lung Cancer in the Global Phase III ALEX Study. J Thorac Oncol.* 2019 Jul;14(7):1233-1243. doi: 10.1016/j.jtho.2019.03.007. Epub 2019 Mar 20. Erratum in: *J Thorac Oncol.* 2019 Nov;14(11):2023. PMID: 30902613.
 201. Gettinger SN, Bazhenova LA, Langer CJ, et al. *Activity and safety of brigatinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer and other malignancies: a single-arm, open-label, phase 1/2 trial. Lancet Oncol.* 2016;17(12):1683-96.
 202. Nishio M, Yoshida T, Kumagai T, Hida T, Toyozawa R,

- Shimokawaji T, Goto K, Nakagawa K, Ohe Y, Seto T, Kudou K, Asato T, Zhang P, Yamamoto N. *Brigatinib in Japanese Patients With ALK-Positive NSCLC Previously Treated With Alectinib and Other Tyrosine Kinase Inhibitors: Outcomes of the Phase 2 J-ALTA Trial*. *J Thorac Oncol*. 2021 Mar;16(3):452-463. doi: 10.1016/j.jtho.2020.11.004. Epub 2020 Nov 25. PMID: 33248320.
203. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. *First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer*. *N Engl J Med*. 2014;371:2167-77.
204. Solomon BJ, Kim DW, Wu YL, et al., *Final overall survival analysis from a study comparing first-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-mutation-positive non-small-cell lung cancer*. *J Clin Oncol*. 2018;36(22):2251-8.
205. Soria JC, Tan DS, Chiari R, et al. *First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study*. *Lancet*. 2017;389:917-29.
206. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. *Alectinib versus Crizotinib in untreated ALK-positive non-small-cell lung cancer*. *N Engl J Med*. 2017;377:829-38.
207. Ou S, Shaw A, Riely G, et al. OA02.03 *Clinical Activity of lorlatinib in patients with ROS1+ advanced non-small cell lung cancer: Phase 2 study cohort EXP-6*. *J Thorac Oncol*. 2018;13(suppl_10):S322-3.
208. Drilon A, Siena S, Ou S-HI, et al. *Safety and antitumor activity of the multitargeted pan-Trk, ROS1, and ALK inhibitor Entrectinib: combined results from two phase I trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1)*. *Cancer Discov* 2017;7:400-9.
209. Drilon A, Siena S, Dziadziuszko R, et al. *Entrectinib in ROS1 fusion- positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1-2 trials*. *Lancet Oncol* 2020;21:261-70.
210. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al., *Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation alk inhibitors in alk-rearranged lung cancer*. *Cancer Discov*. 2016;6(10):1118-33
211. Stinchcombe TE, Doebele RC, Wang X, Gerber DE, Horn L,

- Camidge DR. *Preliminary Clinical and Molecular Analysis Results From a Single-Arm Phase 2 Trial of Brigatinib in Patients With Disease Progression After Next-Generation ALK Tyrosine Kinase Inhibitors in Advanced ALK+ NSCLC*. *J Thorac Oncol*. 2021 Jan;16(1):156-161. doi: 10.1016/j.jtho.2020.09.018. Epub 2020 Oct 8. PMID: 33039599.
212. Alexander M, Kim SY, Cheng H. *Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer*. *Lung*. 2020 Dec;198(6):897-907. doi: 10.1007/s00408-020-00407-5. Epub 2020 Nov 11. PMID: 33175991; PMCID: PMC7656891.
213. Reck M, Mok TSK, Nishio M, et al. *Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in non-small-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial*. *Lancet Respir Med*. 2019;7(5):387-401
214. D'Angelo A, Sobhani N, Chapman R, Bagby S, Bortoletti C, Traversini M, Ferrari K, Voltolini L, Darlow J, Roviello G. *Focus on ROS1-Positive Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC): Crizotinib, Resistance Mechanisms and the Newer Generation of Targeted Therapies*. *Cancers (Basel)*. 2020 Nov 6;12(11):3293. doi: 10.3390/cancers12113293. PMID: 33172113; PMCID: PMC7694780.
215. Drilon A, Siena S, Ou SI, Patel M, Ahn MJ, Lee J, Bauer TM, Farago AF, Wheler JJ, Liu SV, Doebele R, Giannetta L, Cerea G, Marrapese G, Schirru M, Amatu A, Bencardino K, Palmeri L, Sartore-Bianchi A, Vanzulli A, Cresta S, Damian S, Duca M, Ardini E, Li G, Christiansen J, Kowalski K, Johnson AD, Patel R, Luo D, Chow-Maneval E, Hornby Z, Multani PS, Shaw AT, De Braud FG. *Safety and Antitumor Activity of the Multitargeted Pan-TRK, ROS1, and ALK Inhibitor Entrectinib: Combined Results from Two Phase I Trials (ALKA-372-001 and STARTRK-1)*. *Cancer Discov*. 2017 Apr;7(4):400-409. doi: 10.1158/2159-8290.CD-16-1237. Epub 2017 Feb 9. PMID: 28183697; PMCID: PMC5380583.
216. Ou S, Shaw A, Riely G, et al. OA02.03 *Clinical Activity of lorlatinib in patients with ROS1+ advanced non-small cell lung cancer: Phase 2 study cohort EXP-6*. *J Thorac Oncol*. 2018;13(suppl_10):S322–3.
217. Cho BC, Drilon A, Doebele R, et al. *Safety and preliminary clinical*

- activity of repotrectinib in patients with advanced ROS1 fusion-positive non-small cell lung cancer (TRIDENT-1 study). J Clin Oncol.*
218. Dogan S., Shen R., Ang D.C., Johnson M.L., D'Angelo S.P., Paik P.K., Brozostowski E.B., Riely G.J., Kris M.G., Zakowski M.F., et al. *Molecular epidemiology of EGFR and KRAS mutations in 3,026 lung adenocarcinomas: Higher susceptibility of women to smoking-related KRAS-mutant cancers. Clin. Cancer Res.* 2012;18:6169–6177. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3265
 219. El Osta B.E., Behera M., Kim S., Berry L.D., Sica G., Pillai R.N., Owonikoko T.K., Kris M.G., Johnson B.E., Kwiatkowski D.J., et al. *Characteristics and outcomes of patients (pts) with metastatic KRAS mutant lung adenocarcinomas: Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC) database. J. Clin. Oncol.* 2017;35(15 SUPPL):9021. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.9021.
 220. Redig A.J., Chambers E.S., Lydon C.A., Dahlberg S.E., Alden R.S., Janne P.A. *Genomic complexity in KRAS mutant non-small cell lung cancer (NSCLC) from never/light-smokers v smokers. J. Clin. Oncol.* 2016;34(15 SUPPL):9087. doi: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.9087.
 221. Muñoz-Maldonado C., Zimmer Y., Medová M. *A comparative analysis of individual ras mutations in cancer biology. Front. Oncol.* 2019;9:1088. doi: 10.3389/fonc.2019.01088.
 222. Kimmelman A.C. *Metabolic dependencies in RAS-driven cancers. Clin. Cancer Res.* 2015;21:1828–1834. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2425.
 223. Uras IZ, Moll HP, Casanova E. *Targeting KRAS Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer: Past, Present and Future. Int J Mol Sci.* 2020 Jun 17;21(12):4325. doi: 10.3390/ijms21124325. PMID: 32560574; PMCID: PMC7352653.
 224. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, et al., *Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1- expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial., Lancet.* 2019 May 4;393(10183):1819-30
 225. Herbst R, , Giaccone G, De Marinis F et al. *Atezolizumab for First-*

- Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with NSCLC. N Engl J Med.* 2020 Oct 1;383(14):1328-1339.
226. Jassem J, de Marinis F, et al. *Updated Overall Survival Analysis From IMpower110: Atezolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy in Treatment-Naive Programmed Death-Ligand 1-Selected NSCLC. J Thorac Oncol.* 2021 Jul 12:S1556-0864(21)02286-3.
227. Jotte R, Capuzzo F, Vynnychenko I, et al. *Atezolizumab in combination with carboplatin and nab-paclitaxel in advanced squamous NSCLC (IMpower131): results from a randomized phase III trial. J Thorac Oncol* 2020; 15(8):1351-60.
228. Luis G. Paz-Ares, et al. *Nivolumab (NIVO) plus ipilimumab (IPI) versus chemotherapy (chemo) as first-line (1L) treatment for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): 4-year update from CheckMate 227. Journal of Clinical Oncology* 2021 39:15_suppl, 9016-9016.
229. Martin Reck, et al. *First-line nivolumab (NIVO) plus ipilimumab (IPI) plus two cycles of chemotherapy (chemo) versus chemo alone (4 cycles) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): Two-year update from CheckMate 9LA. Journal of Clinical Oncology* 2021 39:15_suppl, 9000-9000
230. Melissa L Johnson et al. *Durvalumab ± Tremelimumab + Chemotherapy as First-Line Treatment for mNSCLC: Results from the Phase 3 POSEIDON Study.* Presented at WCLC 2021.
231. *Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. BMJ.* 1995;311(7010):899-909.368. Delbaldo C, Michiels S, Syz N, et al. *Benefits of adding a drug to a single-agent or a 2-agent chemotherapy regimen in advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. JAMA.* 2004;292:470-84.
232. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. *Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small cell lung cancer. N Engl J Med.* 2002;346:92-8.
233. Scagliotti GV, De Marinis F, Rinaldi M, et al. *Phase III randomized trial comparing three platinum-based doublets in advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol.* 2002;20:4285-91.

234. Kelly K, Crowley J, Bunn PA Jr, et al. *Randomized phase III trial of paclitaxel plus carboplatin versus vinorelbine plus cisplatin in the treatment of patients with advanced non--small-cell lung cancer: a Southwest Oncology Group trial.* *J Clin Oncol.* 2001;19:3210-8.-391.
235. Fossella F, Pereira JR, Von Pawel J, et al. *Randomized, multinational, phase III study of docetaxel plus platinum combinations versus vinorelbine plus cisplatin for advanced non-small cell lung cancer: The TAX 326 Study Group.* *J Clin Oncol.* 2003;21:1-9.
236. Smit EF, van Meerbeeck JP, Lianes P, et al. *Three-arm randomized study of two cisplatin-based regimens and paclitaxel plus gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: a phase III trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Lung Cancer Group--EORTC 08975.* *J Clin Oncol.* 2003;21:3909-17.
237. de Guevara DL, Fuentes A, Fariña C, Corral C, Pefaur R. *Valor pronóstico del PET/CT en cáncer pulmonar: Estudio de sobrevida y caracterización metabólica tumoral [Prognostic value of PET/CT in lung cancer: retrospective analysis of 47 patients].* *Rev Med Chil.* 2013 Jan;141(1):41-8. Spanish. doi: 10.4067/S0034-98872013000100006. PMID: 23732413.
238. Nomori H, Ohba Y, Yoshimoto K, Shibata H, Shiraishi K, Mori T. *Positron emission tomography in lung cancer.* *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2009 Apr;57(4):184-91. doi: 10.1007/s11748-008-0371-3. Epub 2009 Apr 15. PMID: 19367450.
239. Yu H, Boyle TA, Zhou C, Rimm DL, Hirsch FR. *PD-L1 Expression in Lung Cancer.* *J Thorac Oncol.* 2016 Jul;11(7):964-75. doi: 10.1016/j.jtho.2016.04.014. Epub 2016 Apr 23. Erratum in: *J Thorac Oncol.* 2017 Jan;12 (1):157-159. PMID: 27117833; PMCID: PMC5353357.
240. Fois SS, Paliogiannis P, Zinellu A, Fois AG, Cossu A, Palmieri G. *Molecular Epidemiology of the Main Druggable Genetic Alterations in Non-Small Cell Lung Cancer.* *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 9;22(2):612. doi: 10.3390/ijms22020612. PMID: 33435440; PMCID: PMC7827915.
241. Fang S, Wang Z. *EGFR mutations as a prognostic and predictive marker in non-small-cell lung cancer.* *Drug Des Devel Ther.* 2014 Sep

26;8:1595-611. doi: 10.2147/DDDT.S69690. PMID: 25302015; PMCID: PMC4189714.

242. Yu Y, Zeng D, Ou Q, Liu S, Li A, Chen Y, Lin D, Gao Q, Zhou H, Liao W, Yao H. *Association of Survival and Immune-Related Biomarkers With Immunotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis and Individual Patient-Level Analysis. JAMA Netw Open.* 2019 Jul 3;2(7):e196879. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.6879. PMID: 31290993; PMCID: PMC6625073.