



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Α ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΝΔΡΕΑΣ ΛΑΖΑΡΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ

ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ»

ΕΛΕΝΗ ΑΘ. ΚΑΡΑΤΡΑΣΟΓΛΟΥ

ΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2020

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΕΤΡΟΣ ΣΦΗΚΑΚΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- | | |
|---|------------------------------------|
| 1. Σαέττα Αγγελική (Επιβλέπουσα) | Αν. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 2. Κορκολοπούλου Πηνελόπη | Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 3. Καβαντζάς Νικόλαος | Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- | | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| 1. Σπηλιοπούλου Χάιδω | Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 2. Κορκολοπούλου Πηνελόπη | Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 3. Καβαντζάς Νικόλαος | Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 4. Θεοχάρης Σταμάτιος | Καθηγητής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 5. Σαέττα Αγγελική | Αν. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 6. Νόννη Αφροδίτη | Αν. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |
| 7. Σακελλαρίου Στρατηγούλα | Επ. Καθηγήτρια, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ |

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Ημερομηνία υποβολής αίτησης: 18 Νοεμβρίου 2016

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής:

27 Δεκεμβρίου 2016

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 12 Ιουλίου 2017

Ημερομηνία καταθέσεως 1^{ης} προόδου: 26 Ιανουαρίου 2018

Ημερομηνία καταθέσεως 2^{ης} προόδου: 18 Ιανουαρίου 2019

Ημερομηνία καταθέσεως 3^{ης} προόδου: 25 Οκτωβρίου 2019

Ημερομηνία καταθέσεως διδακτορικής διατριβής:

22 Ιανουαρίου 2020

Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΛΑΒΕ ΕΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟ
ΤΗΝ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΒΙΟΗΘΙΚΗΣ ΚΑΙ ΔΕΟΝΤΟΛΟΓΙΑΣ ΤΗΝ 16^Η
ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2017 ΜΕ ΑΡ. ΠΡ. 1718004921

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια και επιβλέπουσα της διδακτορικής διατριβής κυρία Αγγελική Σαέττα για τη συνεχή καθοδήγηση και πολύτιμη βοήθειά της στο σχεδιασμό και παρουσίαση της συγκεκριμένης διδακτορικής διατριβής, καθώς και τον Καθηγητή και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής κύριο Νικόλαο Καβαντζά για την άριστη συνεργασία κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης προσπάθειας.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω ιδιαίτερες ευχαριστίες και τη μεγάλη ευγνωμοσύνη μου στην Καθηγήτρια και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής κυρία Πηνελόπη Κορκολοπούλου για την ανεκτίμητη βοήθεια που μου προσέφερε, με τις συμβουλές και τις υποδείξεις της, καθώς και για την ουσιαστική και καθοριστική συμμετοχή της στην επιστημονική μου κατάρτιση και πορεία.

Θερμά ευχαριστώ την Επίκουρη Καθηγήτρια κυρία Στρατηγούλα Σακελλαρίου για την πολύτιμη αρωγή της στο σχεδιασμό και ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής, καθώς και τη βιολόγο Ηλένια Χατζηανδρέου για την πολύτιμη βοήθεια της.

Κλείνοντας θα ήθελα να ευχαριστήσω το συνοδοιπόρο μου σε όλη αυτή την προσπάθεια, τον πατέρα μου Αθανάσιο, για την ανιδιοτελή αγάπη, τη συνεχή στήριξη καθώς και την επιμονή και υπομονή του, που τόσο ανάγκη είχα, κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος της ζωής μου.

Ελίνα Αθ. Καρατράσογλου

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΣΠΟΥΔΕΣ-ΤΙΤΛΟΙ-ΣΤΑΔΙΟΔΡΟΜΙΑ

4/2013: Πτυχίο Ιατρικής Σχολής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

9/2016: Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης, Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών «Νεοπλασματική νόσος στον άνθρωπο: Διάγνωση, έρευνα και θεραπεία»

10/2018: Δίπλωμα ICH GOOD CLINICAL PRACTICE E6 (R2)

7/2019: Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης, Μεταπτυχιακό πρόγραμμα Σπουδών Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών «Κλινικές μελέτες: Σχεδιασμός και Εκτέλεση»

2/2020 : Υποψήφια διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλικά
- Γαλλικά

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

Δίπλωμα ECDL

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- Efstathios Kastritis, Eleni A Karatrasoglou , Ioanna Dialoupi , Maria Gavriatopoulou , Maria Roussou , Despoina Fotiou , Nikolaos Kanellias , Ioannis Ntanasis-Stathopoulos , Evangelos Eleutherakis-Papaiakovou , Efstathios Manios , Magdalini Migkou , Aristeia-Maria Papanota, Elektra Papadopoulou , Kimon Stamatelopoulos , Argyrios Ntalianis , Asimina Papanikolaou , Erasmia Psimenou , Charikleia Gakiopoulou , Ourania Tsitsilonis , Maria Eirini Tselegkidi , Ioannis Trougakov , Ioannis V Kostopoulos , Evangelos Terpos , Meletios A. Dimopoulos. ‘AN EARLY, WITHIN THE FIRST MONTH, AND DEEP RESPONSE, SHOULD BE THE GOAL OF THERAPY IN AL AMYLOIDOSIS’, *24th Congress of the European Hematology Association* in Amsterdam, the Netherlands June 13 - 16, 2019.
- Stratigoula Sakellariou, Eleni A Karatrasoglou, Ilenia Chatziandreou, Ioanna Giannopoulou, Maria Michelli, Alexandros Zougros , Eirini Rouppou , Konstantinos Stamopoulos , Andreas C Lazaris , Penelope Korkolopoulou and Angelica Saetta. ‘PREDICTIVE BIOMARKER ANALYSIS OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS’, *31st European Congress of Pathology*, 7-11 September 2019, Nice

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- Καρατράσογλου Ε.Α. , Σακελλαρίου Σ. , Χατζηανδρέου Η. , Μιχελή Μ. , Γιαννοπούλου Ι., Σταμόπουλος Κ. , Καβαντζάς Ν., Λάζαρης Α., Κορκολοπούλου Π., Σαέττα Α.

‘ΑΝΟΣΟΙΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ PD-L1 ΣΤΟΝ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ EGFR, KRAS’, 25^ο ΕΣΚΟ, Αθήνα, 18-20 Απριλίου 2019

- Eleni A Karatrasoglou, Ilenia Chatziandreou, Stratigoula Sakellariou, Ioanna Giannopoulou , Maria Micheli , Alexandros Zougros , Eirini Roupo, Konstantinos Stamopoulos, Nikolaos Kavantzias Pinelopi Korkolopoulou and Angelica Saetta. “CLINICOPATHOLOGICAL AND MOLECULAR ASSOCIATIONS OF PD-L1 EXPRESSION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER”, 5th Symposium on Thoracic and Upper Aerodigestive Malignancies, 17-18 May 2019, Athens

ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΚΕΦΑΛΑΙΩΝ ΣΕ ΣΥΓΓΡΑΜΑΤΑ

Dionysia N. Zouki, Eleni A. Karatrasoglou, Vasileios Spapis, Andreas C. Lazaris 'INTRODUCTION TO ADULT KIDNEY NEOPLASTIC PATHOLOGY', σύγγραμμα κλινικής ουρογεννητικής ιστοπαθολογίας “Clinical Genitourinary Pathology” editor Andreas C. Lazaris

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Karatrasoglou, E.A., Chatziandreou, I., Sakellariou, S., Kavantzias N., Andreas C. Lazaris, Penelope Korkolopoulou & Angelica A. Saetta. ‘Association between PD-L1 expression and driver gene mutations in non-small cell lung cancer patients: correlation with

clinical data.' *Virchows Arch* (2020).

<https://doi.org/10.1007/s00428-020-02756>

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΚΑΙ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 56 Ελληνικά Συνέδρια
- 9 Κλινικά Φροντιστήρια
- 5 Διεθνή Συνέδρια

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

5/2013: Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος, Νομαρχία Αθηνών

12/2013 - 7/2014 : Άσκηση στην ειδικότητα της Ιατρικής Βιοπαθολογίας , Νοσοκομείο «Ανδρέας Συγγρός», Διευθύντρια κ. Ελένη Παπαδογεωργάκη.

3/2015 – 5/2015 : Άσκηση στην ειδικότητα της Παθολογίας, στο πλαίσιο της Παθολογικής Ογκολογίας, ΓΝΑ «Αλεξάνδρα», Διευθυντής κ. Σοφοκλής Κοντογιάννης.

6/2015 – 7/2018 : Άσκηση στην ειδικότητα της Παθολογίας, στο πλαίσιο της Παθολογικής Ογκολογίας, Σπηλιοπούλειο νοσοκομείο Αθηνών «Η Αγία Ελένη», Διευθυντής κ. Άγγελος Παπαδόπουλος.

9/2017 - 3/2018 : Άσκηση στην ειδικότητα της Αιματολογίας-Ογκολογίας, στο πλαίσιο της Παθολογικής Ογκολογίας, ΠΓΝΑ Λαϊκό, Διευθυντής Καθηγητής κ Κωνσταντίνος Κωνσταντόπουλος.

7/2018 - 11/2018: Συνέχιση άσκησης στην ειδικότητα της Παθολογίας, Β΄ Παθολογική Κλινική Γενικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Κηφισιάς «Οι Άγιοι Ανάργυροι», Διευθυντής κ Ανδρέας Καλλιακμάνης.

12/2018 - 5/2019: Άμισθος επιστημονικός συνεργάτης στο πρόγραμμα «Εθνικό Δίκτυο Ιατρικής Ακριβείας στην ογκολογία» στην έδρα παθολογικής ανατομικής του ΕΚΠΑ- Επιστημονική υπεύθυνη προγράμματος η Καθηγήτρια κ Πηνελόπη Κορκολοπούλου.

5/2019 - 11/2019: Έμμισθη θέση ως υπεύθυνη του υποέργου 6 «Βιοτράπεζες» στο πρόγραμμα «Εθνικό Δίκτυο Ιατρικής Ακριβείας στην ογκολογία» στην έδρα παθολογικής ανατομικής του ΕΚΠΑ- Επιστημονική υπεύθυνη προγράμματος η Καθηγήτρια κ Πηνελόπη Κορκολοπούλου.

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ,
ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΉΓΗΣΑΣΘ
ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΝΟ
ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΔΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ, ΚΑΜΝΟ
ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ Δ
Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
ΗΪΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΑΝ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ,
Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
ΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.



Στον πατέρα μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	16
--------------------------	-----------

I. SUMMARY	18
-------------------------	-----------

II. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ.....	20
---	-----------

1. Επιδημιολογικά δεδομένα.....	21
---------------------------------	----

2. Παράγοντες κινδύνου.....	31
-----------------------------	----

3. Ιστολογική ταξινόμηση	41
--------------------------------	----

3.1. Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα.....	45
--	----

3.1.1 Αδενοκαρκίνωμα.....	45
---------------------------	----

3.1.2. Πλακώδες καρκίνωμα.....	54
--------------------------------	----

3.1.3. Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα.....	56
---------------------------------------	----

3.1.4. Λιγότερο συχνοί ιστολογικοί τύποι.....	57
---	----

3.2. Νευροενδοκρινικά νεοπλασμάτα του πνεύμονα.....	59
---	----

3.2.1. Τυπικό καρκινοειδές.....	61
---------------------------------	----

3.2.2. Άτυπο καρκινοειδές.....	62
--------------------------------	----

3.2.3. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα.....	64
--------------------------------------	----

3.2.4. Μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα.....	65
---	----

4. Προσυμπτωματικός έλεγχος.....	67
----------------------------------	----

5. Κλινική εικόνα και διάγνωση.....	74
5.1. Κλινική εικόνα.....	74
5.2. Διάγνωση.....	80
6. Σταδιοποίηση.....	84
7. Θεραπευτική αντιμετώπιση.....	89
7.1. Χειρουργική αντιμετώπιση.....	89
7.2. Ακτινοθεραπεία.....	90
7.3. Συστηματική χημειοθεραπεία.....	91
7.4. Αντιμετώπιση ολιγομεταστατικής νόσου.....	92
7.5. Αντιμετώπιση μεταστατικής νόσου.....	93
8. Προβλεπτικοί και προγνωστικοί βιοδείκτες.....	95
8.1. Μεταλλάξεις στο γονίδιο EGFR.....	95
8.2. Μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS.....	99
8.3. Μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF.....	103
8.4. Αναδιατάξεις στο γονίδιο ALK.....	104
8.5. Αναδιατάξεις στο γονίδιο ROS1.....	107
8.6. Μεταλλάξεις στο γονίδιο ERCC1.....	109
8.7. Μεταλλάξεις στο γονίδιο RRM1.....	110
8.8. Άλλες στοχεύσιμες μοριακές αλλαγές.....	112
8.9. Το μονοπάτι PD-1/PD-L1.....	113

III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	122
1. Σκοπός	123
2. Μέθοδοι και υλικά	124
2.1. Ασθενείς.....	124
2.2. Τεχνικές.....	124
2.2.1. Ανοσοϊστοχημική μελέτη των βιοδεικτών PD-L1, ROS1, ERCC1 και RRM1.....	124
2.2.2. Chromogenic In Situ Hybridization (CISH).....	133
2.3. Στατιστική ανάλυση.....	137
3. Αποτελέσματα	138
3.1. Χαρακτηριστικά ασθενών.....	138
3.2. Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής μελέτης των βιοδεικτών ROS1, ERCC1, RRM1 με το μοριακό προφίλ του όγκου και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών.....	141
3.3 Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής μελέτης του βιοδείκτη PD-L1 με το μοριακό προφίλ του όγκου και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών	150
3.4. Ανάλυση επιβίωσης.....	155
4. Συμπεράσματα- Συζήτηση	161
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	169
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ-ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ	205

I. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του πνεύμονα, αν και είναι ο δεύτερος σε επίπτωση και στα δύο φύλα, αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως. Πολλοί ασθενείς έχουν ήδη μεταστατική νόσο κατά τη στιγμή της διάγνωσης ενώ η πρόγνωση είναι δυσμενής με τη συνολική 5ετή επιβίωση για όλα τα στάδια να μην ξεπερνά το 21%. Οι πρόσφατα αναδειχθείσες ανοσοθεραπείες με τη χρήση αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1 / PD-L1 που έχουν εγκριθεί ακόμη και ως θεραπεία πρώτης γραμμής για ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα, φαίνεται να προσφέρουν μία πολλά υποσχόμενη εναλλακτική προσέγγιση. Στην παρούσα εργασία εξετάσαμε τις πιθανές συσχετίσεις μεταξύ της έκφρασης του βιοδείκτη PD-L1 και των κλινικοπαθολογικών παραμέτρων καθώς και της συνολικής επιβίωσης 220 ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Η έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 εκτιμήθηκε χρησιμοποιώντας το μονοκλωνικό αντίσωμα (mAb) 22C3 PharmDx DAKO και ορίστηκε ως υψηλή όταν το ποσοστό της έκφρασής της στα νεοπλασματικά κύτταρα (Tumor Proportion Score, TPS) ήταν $\geq 50\%$, χαμηλή όταν το TPS ήταν 1-49% και απύσα όταν το TPS ήταν $< 1\%$. Οι μεταλλάξεις του EGFR ανιχνεύθηκαν με τη μέθοδο COBAS, ενώ των KRAS και BRAF με Pyrosequencing. Οι αναδιατάξεις των γονιδίων ROS1 και ALK εκτιμήθηκαν με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, με τα θετικά δείγματα να επιβεβαιώνονται με in situ υβριδισμό (CISH και FISH αντίστοιχα). Τέλος, η έκφραση των πρωτεϊνών ERCC1 και RRM1 εκτιμήθηκε με ανοσοϊστοχημεία. Η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το υπολογιστικό πακέτο στατιστικής ανάλυσης SPSS v24.0. Η έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 συσχετίστηκε θετικά με την παρουσία μεταλλάξεων του γονιδίου KRAS ενώ η θεραπεία

με τον αντι-PD-1 παράγοντα pembrolizumab φάνηκε να παρατείνει τη συνολική επιβίωση των ασθενών σε σύγκριση με οποιαδήποτε άλλη θεραπευτική στρατηγική. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι όταν πραγματοποιήθηκε συνδυαστική ανάλυση της παρουσίας μεταλλάξεων KRAS με τη θεραπεία με pembrolizumab, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντικό ($p < 0,001$) όφελος επιβίωσης για τους ασθενείς που έφεραν μεταλλάξεις. Επιπλέον, η ανάλυση επιβίωσης που πραγματοποιήθηκε με βάση την έκφραση της πρωτεΐνης ERCC1 σε συνδυασμό με τη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα, έδειξε ότι οι ασθενείς με αρνητική έκφραση ERCC1 είχαν στατιστικά σημαντικό όφελος επιβίωσης ($p < 0,001$). Η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε την έκφραση της PD-L1, το στάδιο νόσου και τη θεραπεία με pembrolizumab σαν ανεξάρτητες μεταβλητές για τη συνολική επιβίωση. Συγκεκριμένα, η θεραπεία με pembrolizumab φαίνεται να παρατείνει τη συνολική επιβίωση των ασθενών, ενώ η έκφραση PD-L1 και το προχωρημένο στάδιο νόσου εμφανίζονται ως κακοί προγνωστικοί παράγοντες. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS μπορεί να επηρεάσουν το μικροπεριβάλλον του όγκου και πιθανώς την ανταπόκριση του ασθενούς στην ανοσοθεραπεία. Οι αναστολείς του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1 / PD-L1 θα μπορούσαν να αντιπροσωπεύουν μια εναλλακτική θεραπευτική επιλογή για τους ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα που φέρουν KRAS μεταλλάξεις.

I. SUMMARY

Lung cancer is the leading cause of cancer death worldwide. Many patients have metastatic disease at diagnosis and prognosis is dismal with 21% 5-year overall survival for all stages. Recently, promising therapies have emerged based on PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors which have been approved even as frontline treatment for patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). We examined the association between PD-L1 expression and clinicopathological parameters as well as overall survival in 220 NSCLC patients. PD-L1 expression using 22C3 PharmDx DAKO monoclonal antibody (mAb) was defined as high when tumour proportion score (TPS) was $\geq 50\%$, low if TPS was 1-49% and absent when TPS was $< 1\%$. EGFR mutations were detected by COBAS, while KRAS and BRAF by Pyrosequencing. ROS1 and ALK rearrangements were estimated by immunohistochemistry with positive cases being confirmed by CISH and FISH respectively. Finally, ERCC1 and RRM1 expression was estimated by immunohistochemistry. Data analysis was performed using SPSS v24.0. PD-L1 expression was positively correlated with KRAS mutations. Anti-PD-1 therapy (pembrolizumab) prolonged patients overall survival compared to any other treatment strategy. Interestingly, when pembrolizumab combined with the presence of KRAS mutations showed a statistically significant difference ($p < 0.001$) in overall survival compared to absence of KRAS mutations. Moreover, when ERCC1 expression combined with the platinum-based chemotherapy, showed that patients with no ERCC1 expression had a statistically significant survival benefit ($p < 0.001$). In multivariate analysis, PD-L1 status, stage and anti-PD1 treatment were independent variables for overall survival. Treatment with pembrolizumab prolongs overall survival while PD-L1 expression and

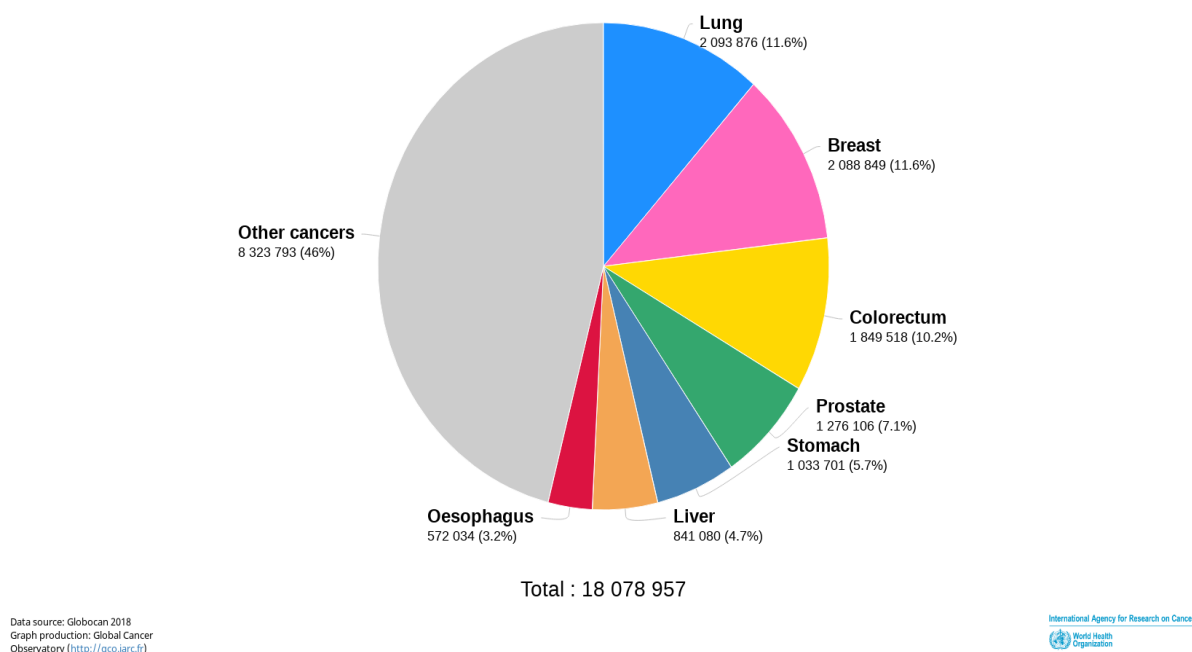
advanced stage emerge as poor prognostic factors in NSCLC patients. KRAS mutations may affect tumour microenvironment and patient's response to immunotherapy. Immune checkpoint inhibitors could represent an alternative therapeutic option for KRAS mutant NSCLC patients. Further investigation into this notion is warranted in order to validate the abovementioned observation.

II. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:

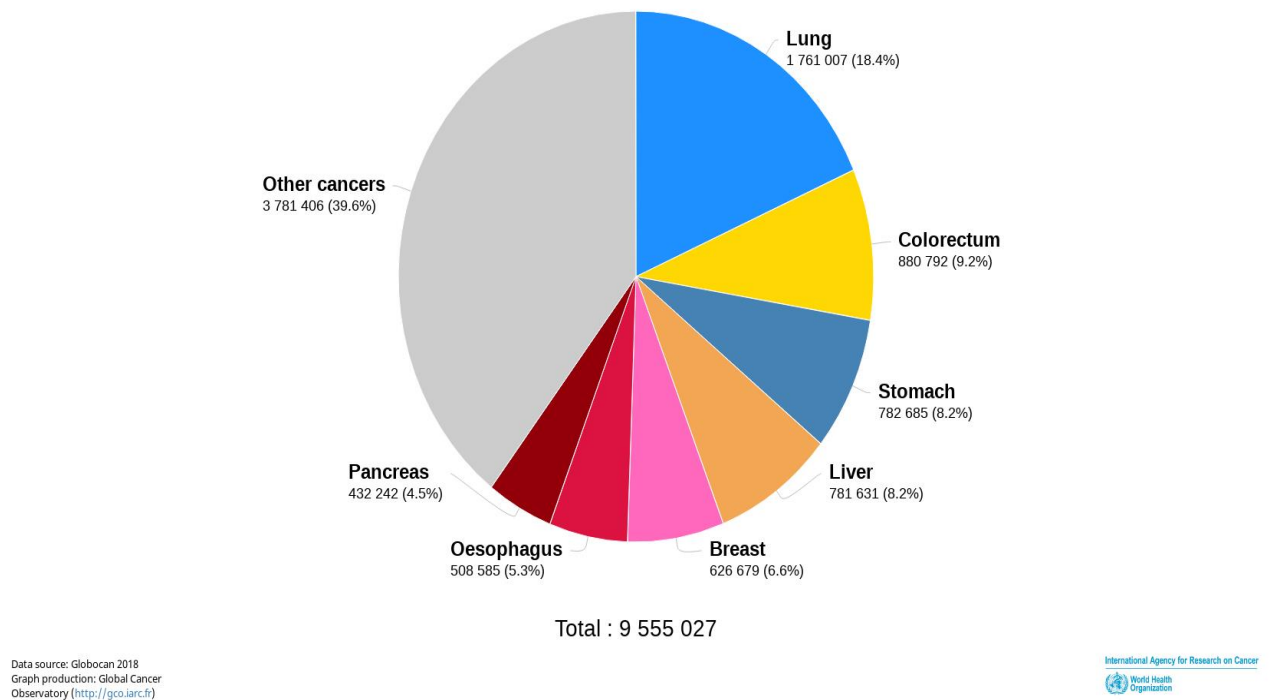
ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

1. Επιδημιολογικά δεδομένα

Ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί μείζον πρόβλημα για τη δημόσια υγεία παγκοσμίως καθώς αφορά στη συχνότερη κακοήθεια τόσο σε επίπεδο επίπτωσης όσο και θνησιμότητας (εικόνα 1 A,B). Σύμφωνα με στοιχεία του International Agency for Research On Cancer (World Health Organization), περισσότερα από 1,5 εκατομμύριο νέα περιστατικά καρκίνου του πνεύμονα διαγνώστηκαν κατά το έτος 2018 σε παγκόσμιο επίπεδο, αποτελώντας το 11,6% όλων των περιπτώσεων καρκίνου, ενώ η συνολική θνησιμότητα από καρκίνο του πνεύμονα άγγιξε το 18,4%.

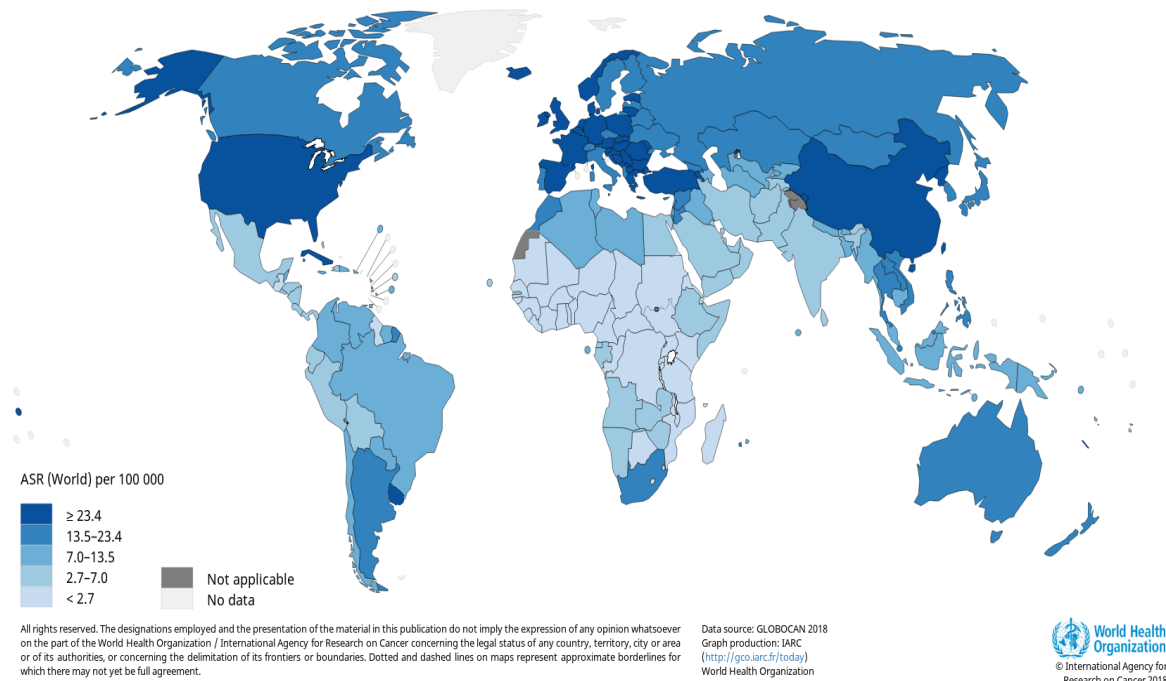


Εικόνα 1Α. Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιπτώσεων καρκίνου παγκοσμίως το 2018, για όλους τους τύπους καρκίνου, για τα 2 φύλα και για κάθε ηλικία



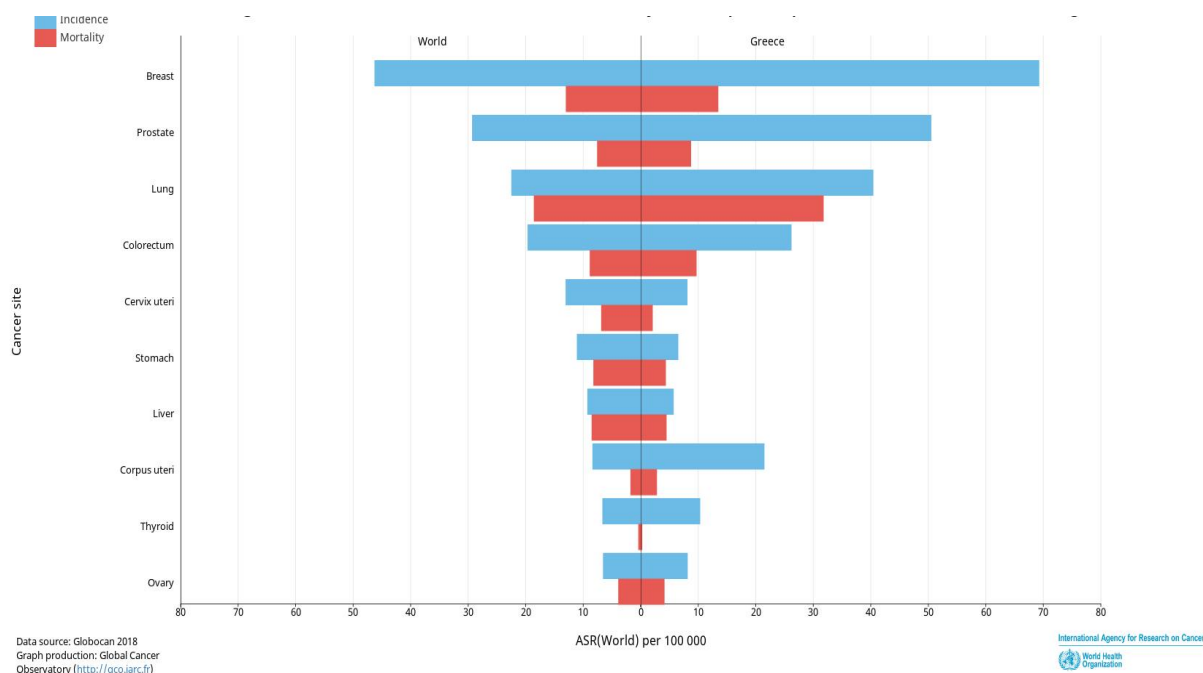
Εικόνα 1B. Εκτιμώμενος αριθμός θανάτων από καρκίνο παγκοσμίως το 2018, για όλους τους τύπους καρκίνου, για τα 2 φύλα και για κάθε ηλικία

Η πλειοψηφία των περιστατικών καρκίνου του πνεύμονα αφορούν στα αναπτυσσόμενα κράτη, όπως στην Κίνα ή χώρες της Αφρικής εξαιτίας της συνεχόμενης αύξησης της κατανάλωσης προϊόντων καπνού. Στις αναπτυγμένες χώρες, (ΗΠΑ, Ηνωμένο Βασίλειο) αν και παρατηρείται τα τελευταία έτη σταθεροποίηση έως και πτωτική τάση της επίπτωσης, η τελευταία παραμένει σε υψηλά επίπεδα (εικόνα 2).



Εικόνα 2. Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης καρκίνου του πνεύμονα με βάση την ηλικία παγκοσμίως το 2018, για τα 2 φύλλα ηλικίας 0-74 ετών

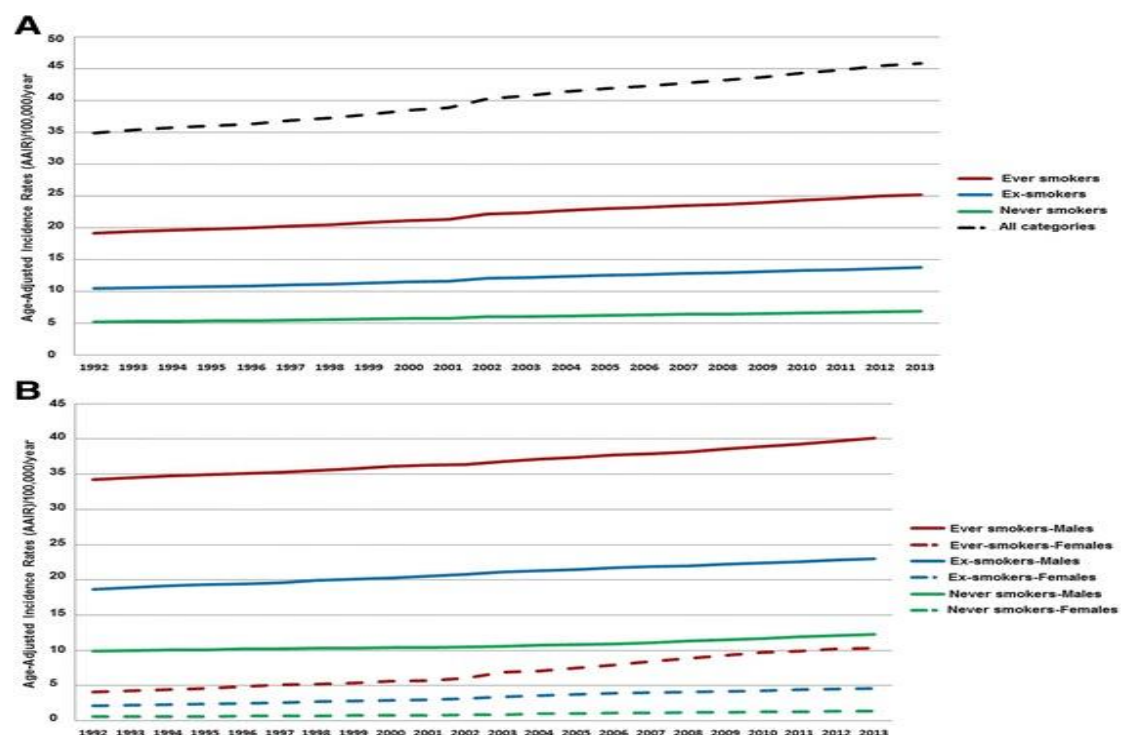
Τα δεδομένα είναι δυσάρεστα και για τον ελλαδικό χώρο όπου κατά το έτος 2018 η επίπτωση της νόσου έφτασε το 11.2% ενώ οι θάνατοι από καρκίνο του πνεύμονα ξεπέρασαν το παγκόσμιο ποσοστό αγγίζοντας το 20% του συνόλου των θανάτων από καρκίνο (εικόνα 3). Παράλληλα, ο ρυθμός επίπτωσης της νόσου στη χώρα μας είναι ένας από τους υψηλότερους παγκοσμίως, γεγονός που αποδίδεται στην πρόιμη έναρξη του καπνίσματος, σε ηλικίες κάτω των 18 ετών. Δυστυχώς, η Ελλάδα βρίσκεται μέχρι σήμερα στις πρώτες θέσεις μεταξύ των χωρών της Ευρωπαϊκής ένωσης, τόσο στην κατανάλωση προϊόντων καπνού όσο και στο ποσοστό παθητικού καπνίσματος (1).



Εικόνα 3. Συγκριτικά στοιχεία επίπτωσης και θνησιμότητας για 10 τύπους καρκίνου στην Ελλάδα και παγκοσμίως το 2018, για τα 2 φύλα, για όλες τις ηλικίες

Η επιδημιολογική καταγραφή του καρκίνου του πνεύμονα στην Ελλάδα, αν και περιορισμένη αριθμητικά, απεικονίζεται σε δύο μελέτες οι οποίες αφορούσαν στον πληθυσμό της Βόρειας Ελλάδας και της Κρήτης. Η μελέτη του 2009 των Kontakiotis T, et al (2), η οποία διεξήχθη στο νοσοκομείο Παπανικολάου της Θεσσαλονίκης, έδειξε ότι τη δεκαετία 1995-2005 συγκριτικά με την προηγούμενη 1985-1995, παρατηρήθηκε αύξηση του μέσου όρου ηλικίας των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα, με τον αριθμό των κρουσμάτων να είναι σημαντικά υψηλότερος στη δεύτερη σε σύγκριση με την πρώτη δεκαετία [5766 περιπτώσεις (57,8%) έναντι 4215 περιπτώσεων (42,2%), αντίστοιχα]. Στην ίδια μελέτη, γίνεται αναφορά και στην παρατηρούμενη συχνότητα των ιστολογικών τύπων καρκίνου του πνεύμονα, με την ανάπτυξη πλακώδους καρκινώματος κατά τη διάρκεια της δεύτερης δεκαετίας να σημειώνει στατιστικά σημαντική μείωση στους άνδρες και αύξηση στις γυναίκες. Η δεύτερη μελέτη των Sifaki-Pistolla D, et al (3) ανέδειξε τα επιδημιολογικά δεδομένα των

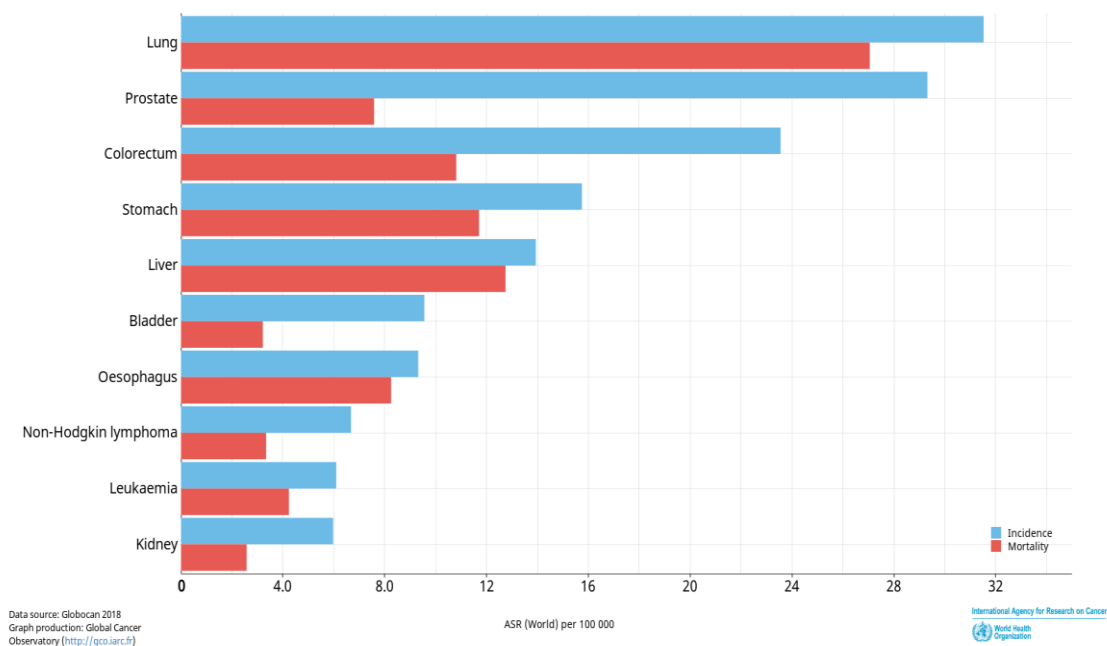
ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα από την Κρήτη κατά το χρονικό διάστημα 1992-2013. Συγκεκριμένα, οι νέες περιπτώσεις της νόσου ανήλθαν στο 9% του συνόλου των καρκίνων, με 5.509 περιστατικά, τα περισσότερα εκ των οποίων αφορούσαν σε άνδρες (87.3%) ηλικίας άνω των 65 ετών. Η αύξηση της επίπτωσης της νόσου ήταν σημαντικά υψηλότερη στους καπνιστές σε σχέση με τους πρώην ή μη καπνιστές και στους άνδρες. Επιπροσθέτως, αυξημένη επίπτωση παρατηρήθηκε και στις γυναίκες καπνίστριες κυρίως μετά το έτος 2001 (εικόνα 4).



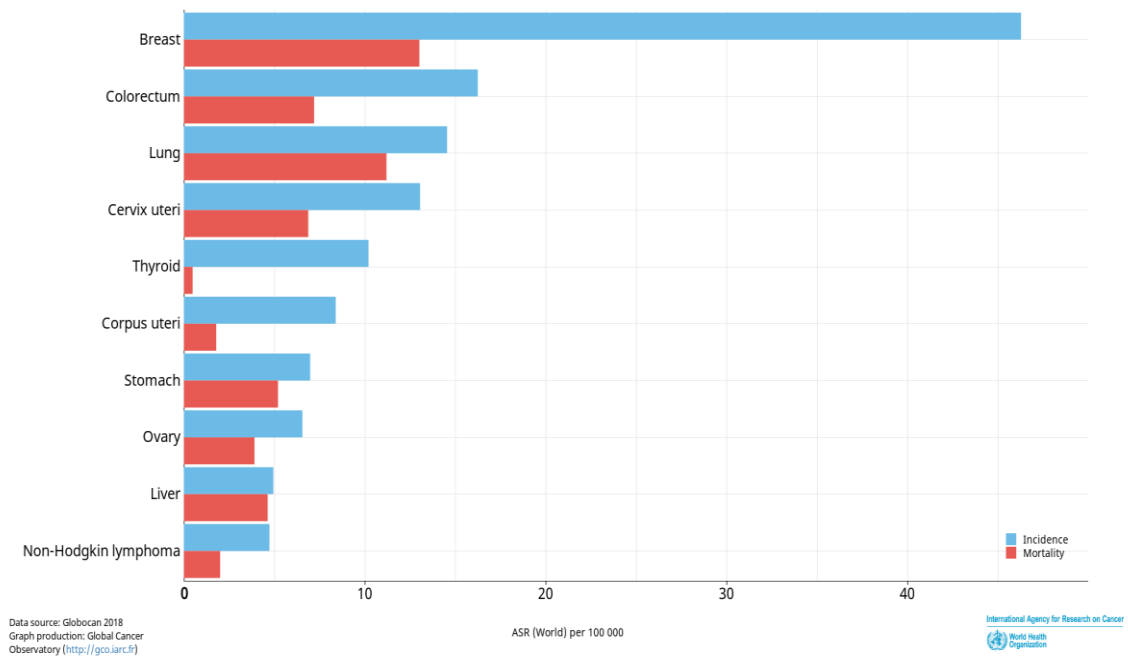
Εικόνα 4. Ρυθμός επίπτωσης καρκίνου του πνεύμονα με βάση Α) το ιστορικό καπνίσματος και Β) το ιστορικό καπνίσματος συνδυαστικά με το φύλο σε πληθυσμό της Κρήτης για το χρονικό διάστημα 1992-2013 (3)

Σχετικά με τα επιδημιολογικά δεδομένα μεταξύ των δύο φύλων, η επίπτωση της νόσου στους άνδρες σημειώνει τα τελευταία χρόνια πτωτική τάση, ενώ στις γυναίκες παρατηρείται αυξητική πορεία, λόγω της αύξησης της καπνιστικής συνήθειας. Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με στοιχεία του International Agency for Research On Cancer (World Health Organization), ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί σήμερα τη συχνότερη

μορφή καρκίνου στους άνδρες με 1.368.524 νέες περιπτώσεις το 2018, ακολουθούμενος από τον καρκίνο του προστάτη (1,276,106 νέα περιστατικά) και τον καρκίνο του παχέος εντέρου (1,026,215 νέα περιστατικά) . Ταυτόχρονα, αποτελεί την κακοήθεια με τη μεγαλύτερη θνησιμότητα στο ανδρικό φύλο με 1.184.947 θανάτους το 2018, με δεύτερο τον καρκίνο του ήπατος και τρίτο τον καρκίνο στομάχου (εικόνα 5A). Όσον αφορά στις γυναίκες, μετά τον καρκίνο του μαστού και του παχέος εντέρου, αντιπροσωπεύει την τρίτη συχνότερη μορφή καρκίνου σε επίπεδο επίπτωσης με 725.352 νέες διαγνώσεις το 2018, και τη δεύτερη σε επίπεδο θνησιμότητας μετά τον καρκίνο του μαστού, με 576.060 θανάτους το 2018 (εικόνα 5B).



Εικόνα 5A. Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης και θνησιμότητας για τον καρκίνο του πνεύμονα στους άνδρες όλων των ηλικιών, παγκοσμίως το 2018



Εικόνα 5B. Εκτιμώμενος ρυθμός επίπτωσης και θνησιμότητας για τον καρκίνο του πνεύμονα στις γυναίκες όλων των ηλικιών, παγκοσμίως το 2018

Η ανάπτυξη του καρκίνου του πνεύμονα φαίνεται να συσχετίζεται και με φυλετικούς παράγοντες. Πιο αναλυτικά, ενώ όπως προαναφέρθηκε η επίπτωση της νόσου μειώθηκε τα τελευταία χρόνια στους άνδρες ανεξαρτήτως φυλής, είναι περίπου 20% υψηλότερη για τους άνδρες της Αφρικανικής φυλής (4). Αντιθέτως, η μικρότερη επίπτωση της νόσου παρατηρείται μεταξύ των Ασιατών, των κατοίκων των νησιών του Ειρηνικού και των γυναικών Ισπανικής καταγωγής (5). Οι παρατηρούμενες διαφορές είναι πιθανώς το αποτέλεσμα πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ του κοινωνικο-οικονομικού επιπέδου, της επαγγελματικής έκθεσης σε καρκινογόνα και του γενικότερου τρόπου ζωής.

Η επίπτωση της νόσου φαίνεται ότι αυξάνεται αναλογικά και με την αύξηση της ηλικίας. Συγκεκριμένα, παραμένει ιδιαίτερα χαμηλή σε άτομα μικρότερα των 40 ετών, ενώ αυξάνεται σταδιακά μέχρι να φτάσει τη μέγιστη τιμή της στο ηλικιακό εύρος 65-84 ετών. Στις Ηνωμένες Πολιτείες

Αμερικής, η μέση ηλικία κατά τη στιγμή της διάγνωσης της νόσου είναι τα 71 έτη, ενώ περίπου το 90% των διαγνώσεων και των θανάτων από τη νόσο παρουσιάζονται σε ασθενείς μεγαλύτερους των 55 ετών (6).

Η πρόγνωση του καρκίνου του πνεύμονα δεν έχει παρουσιάσει αξιοσημείωτη βελτίωση παρά την σημαντική πρόοδο που έχει σημειωθεί τόσο στις διαγνωστικές μεθόδους όσο κυρίως στη θεραπευτική αντιμετώπιση. Η επιβίωση 1 έτους αυξήθηκε από 34% για τους ασθενείς που διαγνώστηκαν με τη νόσο κατά τη διάρκεια 1975 -1977 σε 47% για εκείνους που διαγνώστηκαν κατά τη διάρκεια 2011-2014, κυρίως λόγω των βελτιώσεων στις χειρουργικές τεχνικές και τις νέες θεραπευτικές στρατηγικές (7). Επειδή στα πρώιμα στάδια η νόσος είναι τυπικά ασυμπτωματική, η πλειοψηφία των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα (61%) διαγιγνώσκεται στο στάδιο III ή IV, με μόνο το 21% των περιπτώσεων να διαγιγνώσκεται στο στάδιο I. Η πενταετής επιβίωση δεν ξεπερνάει το 68% για το στάδιο IB (8), που για τους ασθενείς με νόσο σταδίου IVA-IVB μειώνεται δραματικά στο 0-10% (9).

Στον [πίνακα 1](#) παρουσιάζονται στοιχεία από τις βάσεις δεδομένων του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας σχετικά με το ρυθμό θνησιμότητας ανά 100.000 άτομα όλων των ηλικιών σε επιλεγμένες χώρες, κατά τα έτη 2000-2004, 2005-2009 και 2012 όπως και οι αντίστοιχες ποσοστιαίες αλλαγές που σημειώθηκαν τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες (10). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι μεταξύ 2002 και 2012, η συνολική θνησιμότητα από καρκίνο του πνεύμονα αυξήθηκε κατά 17,5% στις γυναίκες στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Αυξήσεις παρατηρήθηκαν στις περισσότερες ευρωπαϊκές χώρες, όπως και στην Ελλάδα με εξαίρεση τη Δανία, τη Γεωργία και τη Ρωσία. Σε παγκόσμιο επίπεδο, παρατηρήθηκαν παρόμοιες αυξήσεις και στις περισσότερες χώρες εκτός από τις χώρες της Κεντρικής Αμερικής (Μεξικό και Παναμά) και τις ΗΠΑ. Για τους άνδρες, η συνολική

θνησιμότητα από καρκίνο του πνεύμονα μεταξύ 2002 και 2012 μειώθηκε κατά 13,5% στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ενώ παρόμοιες μειώσεις σημειώθηκαν σε αρκετές χώρες παγκοσμίως.

Πίνακας 1. Ρυθμός θνησιμότητας ανά 100.000 άτομα όλων των ηλικιών σε επιλεγμένες χώρες, κατά τα έτη 2000-2004, 2005-2009, 2012 και αντίστοιχες ποσοστιαίες αλλαγές (10).

	MEN					WOMEN				
	2000-2004	2005-2009	2012	% change 2007 versus 2012	% change 2002 versus 2012	2000-2004	2005-2009	2012	% change 2007 versus 2012	% change 2002 versus 2012
Argentina	32.28	29.84	27.18	-8.92	-15.81	7.14	8.09	8.97	10.81	25.60
Brazil	16.23	16.00	15.32	-4.24	-5.56	6.24	7.18	8.04	12.08	28.98
Canada	41.99	37.23	33.40	-10.28	-20.46	24.98	25.39	24.35	-4.11	-2.52
Chile	18.60	17.35	16.16	-6.89	-13.15	7.20	7.84	8.64	10.26	19.97
Colombia	13.80	14.38	12.98	-9.70	-5.92	7.04	7.36	6.78	-7.81	-3.57
Cuba	37.53	37.93	34.24	-9.74	-8.77	16.40	18.33	17.51	-4.46	6.74
Guatemala	5.85	5.68	4.63	-18.57	-20.91	3.98	3.83	2.56	-33.29	-35.78
Mexico	12.99	10.75	8.22	-23.52	-36.70	5.07	4.30	3.50	-18.64	-31.10
Panama	11.80	11.18	9.69	-13.34	-17.87	4.95	4.40	3.48	-20.86	-29.64
Puerto Rico	14.60	13.70	14.11	3.05	-3.34	5.63	5.83	5.38	-7.69	-4.40
USA	44.55	38.72	35.19	-9.12	-21.01	25.93	24.37	23.01	-5.61	-11.27
Uruguay	46.20	43.61	42.75	-1.97	-7.47	6.26	7.45	8.95	20.17	42.90
Venezuela	16.85	17.04	17.16	0.73	1.85	9.06	9.53	9.40	-1.34	3.82
Israel	26.51	25.19	23.73	-5.82	-10.50	8.88	8.99	9.44	4.92	6.21
Japan	29.91	28.87	27.40	-5.10	-8.39	8.03	7.95	7.76	-2.35	-3.30
Republic of Korea	43.44	39.44	35.06	-11.11	-19.30	10.08	9.46	8.89	-5.94	-11.78
Austria	35.84	32.43	29.27	-9.75	-18.33	11.53	12.60	14.42	14.47	25.02
Belgium	54.26	48.93	41.35	-15.48	-23.78	11.00	13.42	14.73	9.73	33.85
Bulgaria	39.41	43.93	41.40	-5.76	5.06	6.39	7.46	7.94	6.43	24.35
Croatia	62.11	57.06	52.40	-8.17	-15.64	10.72	11.74	13.07	11.26	21.92
Czech Republic	57.41	48.10	40.23	-16.35	-29.93	12.66	13.00	14.31	10.10	13.11
Denmark	41.60	37.32	33.11	-11.27	-20.41	28.01	28.56	26.77	-6.26	-4.42
Estonia	59.55	54.21	47.86	-11.71	-19.63	7.79	8.09	8.91	10.09	14.38
Finland	31.57	28.24	25.06	-11.26	-20.63	8.05	8.86	10.17	14.76	26.37
France	44.07	41.90	39.21	-6.43	-11.02	8.24	10.36	11.36	9.71	37.82
Georgia	24.87	17.72	23.77	34.12	-4.41	4.78	3.01	3.21	6.35	-32.94
Germany	39.17	34.99	32.08	-8.33	-18.11	11.12	12.76	14.50	13.65	30.40
Greece	47.73	46.45	46.33	-0.25	-2.94	7.34	7.72	9.24	19.71	25.85
Hungary	79.46	72.57	70.63	-2.67	-11.11	22.27	24.41	28.17	15.42	26.51
Iceland	26.14	29.18	24.32	-16.66	-6.98	25.14	25.86	23.59	-8.79	-6.17
Ireland	36.24	32.95	29.16	-11.50	-19.55	17.79	18.58	17.99	-3.19	1.13
Italy	45.44	38.39	34.43	-10.30	-24.22	8.61	9.44	10.30	9.11	19.69

Luxembourg	43.90	37.12	32.90	-11.36	-25.05	10.80	12.90	15.95	23.67	47.65
Malta	37.49	32.54	32.90	1.11	-12.26	5.57	5.37	7.90	47.02	41.83
Netherlands	48.76	43.03	36.87	-14.32	-24.39	18.11	21.38	22.88	6.97	26.30
Norway	30.59	28.66	25.73	-10.22	-15.89	16.42	17.66	17.50	-0.91	6.58
Poland	67.64	61.95	53.58	-13.50	-20.78	13.28	15.21	16.44	8.11	23.82
Portugal	28.71	28.54	28.69	0.52	-0.09	4.97	5.68	6.13	7.79	23.36
Romania	46.76	47.93	47.85	-0.15	2.34	7.93	8.66	9.78	12.92	23.32
Russian Federation	57.11	51.21	46.77	-8.65	-18.09	5.80	5.55	5.50	-0.98	-5.15
Serbia	52.13	57.88	55.36	-4.35	6.20	12.35	15.11	17.65	16.80	42.96
Slovakia	53.63	46.69	43.14	-7.61	-19.57	7.67	8.43	10.01	18.74	30.54
Slovenia	50.61	46.93	43.84	-6.58	-13.38	11.39	12.76	13.10	2.66	15.05
Spain	45.71	42.89	39.72	-7.39	-13.10	5.14	6.31	8.02	27.00	56.01
Sweden	20.51	19.27	17.25	-10.48	-15.91	14.19	15.59	14.33	-8.03	1.04
Switzerland	32.06	28.72	24.33	-15.30	-24.13	10.96	12.24	13.06	6.73	19.18
UK	37.05	33.12	29.43	-11.13	-20.56	19.69	20.53	20.62	0.46	4.75
Australia	29.99	26.37	24.31	-7.79	-18.94	13.78	14.16	14.11	-0.36	2.33
New Zealand	30.15	25.79	23.74	-7.95	-21.26	18.59	18.48	18.68	1.08	0.46
European Union	44.85	41.07	38.78	-5.59	-13.54	11.30	12.62	13.27	5.10	17.46

2. Παράγοντες κινδύνου

Σε παγκόσμιο επίπεδο, περίπου 80% όλων των περιπτώσεων μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα στους άνδρες και 50% στις γυναίκες είναι άμεση συνέπεια του καπνίσματος (11). Η επίδραση του καπνίσματος στο αναπνευστικό επιθήλιο είναι αποτέλεσμα της δράσης ενός σύνθετου συνόλου οργανικών και ανόργανων καρκινογόνων ενώσεων όπως η 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NKK), η νικοτίνη, το βενζοπυρένιο, το κάδμιο, η φορμαλδεύδη και ethylcarbamate (12). Τα καρκινογόνα του καπνού προκαλούν σταδιακά γενετικές και επιγενετικές μεταβολές, οι οποίες μέσω ενεργοποίησης σηματοδοτικών μοριακών μονοπατιών, οδηγούν στην κακοήγη εξαλλαγή των κυττάρων του αναπνευστικού επιθηλίου. (13, 14). Συγκεκριμένα, η NKK προκαλεί την έκφραση του τύπου 1 υποδοχέα του IGF (insulin growth factor), ενεργοποιώντας το μονοπάτι AKT στα κύτταρα του αναπνευστικού επιθηλίου (15), ενώ ταυτόχρονα ενεργοποιεί το ογκογονίδιο Kras και προκαλεί ανοδική ρύθμιση της ενεργότητας της μεθυλοτρανσφεράσης σε πνευμονοκύτταρα *in vitro* και *in vivo* (16). Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες που περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου προκαλούν μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως τα p53, RASSF1A και FHIT διακόπτοντας έτσι τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και τελικά την απόπτωση (16). Η καρκινογόνος δράση του τσιγάρου δεν σχετίζεται μόνο με το NKK και τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, αλλά συνδέεται άμεσα με τη νικοτίνη και τα ανόργανα μέταλλα που περιέχονται στον καπνό όπως το νικέλιο, το αρσενικό και το χρώμιο. Πιο αναλυτικά, το νικέλιο και το αρσενικό προκαλούν καρκινογόνες επιγενετικές μεταβολές ενώ η νικοτίνη ενεργοποιεί τα σηματοδοτικά μονοπάτια AKT, ERK και

PKC, προωθώντας την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου στο αναπνευστικό επιθήλιο οδηγώντας τελικά στην καρκινογένεση (17).

Η αιτιολογική συσχέτιση ανάμεσα στο παθητικό κάπνισμα και την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα έχει αποδειχθεί πέραν πάσης αμφιβολίας μέσα από πλήθος μελετών (18-20). Σε πρόσφατες μελέτες, ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου σε παθητικούς καπνιστές κυμαίνεται από 1,14 έως 5,2 (19, 20). Επιπροσθέτως, το παθητικό κάπνισμα κατά τη διάρκεια της παιδικής ηλικίας φαίνεται να αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου στην ενήλικη ζωή κατά 3,6 φορές (21).

Η εφεύρεση του ηλεκτρονικού τσιγάρου για την παροχή νικοτίνης στο πνευμονικό επιθήλιο μέσω ηλεκτρονικής συσκευής έγινε διαθέσιμη προς πώληση το 2007. Ο βασικός μηχανισμός αποτελείται από ένα θερμαντικό πηνίο που λειτουργεί με συσσωρευτή και θερμαίνει το υγρό, συνήθως ένα μείγμα αρωμάτων, διαλύτη και υγρής νικοτίνης, που περιέχεται σε ένα ανταλλακτικό φυσίγγιο. Τα αεροζόλ που περιέχουν νικοτίνη μπορούν να επιτύχουν το μέγιστο επίπεδο νικοτίνης στον ορό του καπνιστή σε λιγότερο από 5 λεπτά. Η ποικιλομορφία των διαθέσιμων προϊόντων καθώς και οι παραλλαγές των πρακτικών αδειοδότησης κατέστησαν δύσκολη την αποτελεσματική αξιολόγηση της ασφάλειας αυτών των συσκευών και της χρήσης τους. Ο επιπολασμός της χρήσης του ηλεκτρονικού τσιγάρου έφτασε το 3,2% των ενηλίκων το 2016 (22). Οι χρήστες του κατατάσσονται σε τρεις κατηγορίες: νυν καπνιστές που το χρησιμοποιούν σκόπιμα ως μεταβατικό στάδιο διακοπής του καπνίσματος, νυν καπνιστές που κάνουν συνεχή διπλή χρήση και τέλος άτομα που δεν έκαναν ποτέ πριν χρήση του παραδοσιακού τσιγάρου. Η τελευταία κατηγορία επικρατεί ιδιαίτερα στους νέους ενήλικες, καθώς το 40% των χρηστών ηλεκτρονικού τσιγάρου ηλικίας 18-24 ετών δεν ήταν ποτέ καπνιστές. Οι κλινικές δοκιμές υποστηρίζουν ότι τα ηλεκτρονικά τσιγάρα που περιέχουν νικοτίνη είναι

πιο αποτελεσματικά για την διακοπή του καπνίσματος από τα ηλεκτρονικά τσιγάρα που δεν περιέχουν νικοτίνη. Ωστόσο, δεν υπάρχει αποδεδειγμένο όφελος έναντι άλλων βοηθημάτων διακοπής της νικοτίνης. Για τη διπλή χρήση, η οποία ορίζεται ως η συνέχιση του καπνίσματος παραδοσιακών τσιγάρων καπνού και ηλεκτρονικού τσιγάρου, δεν υπάρχουν αποδείξεις ότι προσφέρει κλινικό όφελος (22). Οι καπνιστές που έγιναν αποκλειστικοί χρήστες ηλεκτρονικού τσιγάρου, αξιολογήθηκαν σε μια 2ετή μελέτη που δεν ανέφερε σημαντικά ανεπιθύμητα συμβάντα για τους συμμετέχοντες μετά τη μετάβαση στο ηλεκτρονικό τσιγάρο με νικοτίνη. Ωστόσο, υπάρχει έλλειψη βραχυπρόθεσμων ή μακροπρόθεσμων δεδομένων ασφάλειας. Αν και τα συστατικά του αεροζόλ στο ηλεκτρονικό τσιγάρο διαφέρουν από αυτά του παραδοσιακού τσιγάρου, τα διαθέσιμα δεδομένα δείχνουν ότι η φορμαλδεΰδη, η ακεταλδεΰδη και τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου υπάρχουν σε επαρκείς συγκεντρώσεις για να προκαλέσουν φλεγμονώδη βλάβη στον αεραγωγό και στο πνευμονικό επιθήλιο. Το αεροζόλ του ηλεκτρονικού τσιγάρου μπορεί επίσης να περιέχει πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, νιτροζαμίνες και ιχνοστοιχεία, αν και οι συγκεντρώσεις ποικίλλουν. Επιπροσθέτως, η νικοτίνη που περιέχεται στους ατμούς του ηλεκτρονικού τσιγάρου μπορεί να προκαλέσει εξάρτηση σε χρήστες που δεν ήταν ήδη καπνιστές. Το πιο ανησυχητικό δεδομένο είναι η αύξηση της χρήσης του ηλεκτρονικού τσιγάρου κατά 900% στους μαθητές δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης μεταξύ 2011 και 2015, καθώς υπάρχουν ενδείξεις ότι η νικοτίνη μπορεί να βλάψει την ανάπτυξη του εγκεφάλου σε εφήβους (22).

Το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του πνεύμονα έχει βρεθεί ότι αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου σε αρκετές μελέτες, οι οποίες αναφέρουν υψηλό κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου σε άτομα με θετικό οικογενειακό ιστορικό (23). Ακόμα και όταν έγινε προσαρμογή με βάση το ιστορικό

καπνίσματος των συγκεκριμένων ατόμων, ο σχετικός κίνδυνος παρέμεινε σημαντικά υψηλός (24). Όσον αφορά το γονιδιακό προφίλ των ασθενών, το γονίδιο που εμπλέκεται άμεσα στην ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα είναι το RGS17 και συγκεκριμένα ο τόπος 6q23-25 (25). Ο κίνδυνος του καρκίνου του πνεύμονα αυξάνεται επίσης στο πλαίσιο του συνδρόμου Li-Fraumeni, που χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεταλλάξεων στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 (26).

Πρόσφατες μελέτες ανάλυσης γονιδιώματος έχουν καταφέρει να εντοπίσουν πολλούς γενετικούς πολυμορφισμούς που σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα, χρησιμοποιώντας έως και ένα εκατομμύριο επισημασμένους πολυμορφισμούς ενός νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNP) για τον εντοπισμό κοινών γενετικών παραλλαγών (πίνακας 2). Οι τρεις κύριοι γενετικοί τύποι που εντοπίστηκαν βρίσκονται στις περιοχές 15q25, 5p15 και 6p21 (27-29). Αν και οι μελέτες εξηγούν μόνο ένα μικρό ποσοστό της συνολικής γενετικής διακύμανσης που σχετίζεται με τον καρκίνο του πνεύμονα, το γεγονός ότι αρκετοί καπνιστές δεν αναπτύσσουν καρκίνο υποστηρίζει την υπόθεση ότι η γενετική προδιάθεση συμβάλει σημαντικά στην καρκινογένεση. Τρεις διαφορετικές μελέτες ανάλυσης γονιδιώματος για τον καρκίνο του πνεύμονα παρείχαν αρκετές πληροφορίες για τον τόπο 15q25.1 (27-29), ο οποίος περιέχει έξι αναγνωρισμένες γονιδιακές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων και των τριών γονιδίων CHRNA3, HRNA5 και CHRNA4, που κωδικοποιούν νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης σε διάφορους ιστούς (28). Οι παραλλαγές στον τόπο 15q25 συνδέονται επίσης με την αυξημένο εθισμό στο κάπνισμα αλλά και την εν γένει συμπεριφορά καπνίσματος, και συγκεκριμένα με την αύξηση του αριθμού των τσιγάρων που καπνίζονται ανά ημέρα (29-31). Ο γονιδιακός τόπος 15q25 είναι ο μόνος που έχει επανειλημμένως καταγραφεί σε όλους τους

ιστολογικούς τύπους καρκίνου του πνεύμονα (32). Αντίθετα, ένας άλλος νέος γονιδιακός τόπος στο 9p21 που έχει καταγραφεί κυρίως στους Καυκάσιους, περιορίζεται αποκλειστικά στο πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα (32). Ο γονιδιακός τόπος στο 5p15.33 αντιπροσωπεύει μια περιοχή που περιλαμβάνει τα γονίδια TERT και CLPTM1L (27). Δύο παραλλαγές στην περιοχή αυτή, rs402710 και rs2736100, οι οποίες δεν συνδέονται ισχυρά μεταξύ τους, φαίνεται να σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα. Το γονίδιο TERT κωδικοποιεί το ένζυμο ανάστροφη μεταγραφάση της τελομεράσης που είναι απαραίτητο για την ενζυμική δραστηριότητα της τελομεράσης και τη συντήρηση του μήκους των τελομερών. Έως και 90% των ανθρώπινων όγκων παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα τελομεράσης (33). Ορισμένες αναλύσεις επικεντρώθηκαν στις προσεγγίσεις που βασίζονται σε μονοπάτια για να συμπληρώσουν την ανάλυση SNP με την ενσωμάτωση βιολογικών γνώσεων (34). Μια μετα-ανάλυση έξι μελετών για τη διερεύνηση συσχετίσεων μεταξύ 7650 γενετικών παραλλαγών στα 720 γονίδια που σχετίζονται με τις οδούς φλεγμονής και στον κίνδυνο καρκίνου του πνεύμονα εντόπισε μια νέα παραλλαγή (rs2741354 σε EPHX2 στο 8q21.1), ενώ επιβεβαίωσε τις συσχετίσεις μεταξύ των περιοχών 5p και 6p με τον κίνδυνο ανάπτυξης της νόσου (35). Άλλες μελέτες χρησιμοποίησαν συγκεντρωτικά δεδομένα από μελέτες ανάλυσης γονιδιώματος σε Ευρωπαίους και αναγνώρισαν σημαντικές συσχετίσεις ανάμεσα στην ανάπτυξη πλακώδους καρκίνου του πνεύμονα και στις σπάνιες παραλλαγές BRCA2 p.Lys3326X (rs11571833) και CHEK2 p.Ile157Thr (rs17879961) (36).

Πίνακας 2. Γονιδιακοί τόποι που σχετίζονται με την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα (10)

Γενετικός τόπος	SNPs	Γονίδιο
3q28	rs4488809	TP63
5p15.33	rs402710 rs2736100 rs401681	intron 1 of TERT CLPTM1L
6p21.33	rs4324798 rs3117582	APOM, BAG6
8q21	rs2741354	
9p21	rs1333040	CDKN2B-AS1
10q25.2	rs7086803	VTI1A
12p13.33	rs6489769	RAD52
12q23.1	rs12296850	
13q31.3	rs2352028	GPC5
15q25.1	rs1051730 rs8034191 rs16969968 rs12914385	CHRNA3, CHRNA5, CHRNA4
17q24.3	Rs7216064	BPTF
18p11.22	rs11080466 rs11663246	PIEZO2
22q12.2	rs17728461 rs36600	HORMAD2 LOC105372988

SNP: single nucleotide polymorphism

Υπάρχουν στοιχεία από μελέτες case-control ότι μια δίαιτα πλούσια σε λαχανικά και φρούτα, μπορεί να αποτελεί προστατευτικό παράγοντα κατά του καρκίνου του πνεύμονα (37). Ωστόσο, τα αποτελέσματα προοπτικών μελετών αντικρούουν αυτά τα δεδομένα (38). Η υψηλή πρόσληψη κρέατος, ιδίως του επεξεργασμένου κόκκινου κρέατος, μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα (39), κάτι που μπορεί να σχετίζεται με το σχηματισμό νιτροζαμινών κατά τη διάρκεια του

μαγειρέματος (40). Και σε αυτό το πεδίο τα αποτελέσματα διίστανται καθώς μια μετα-ανάλυση οκτώ κλινικών μελετών δεν έδειξε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα σε άτομα με υψηλή πρόσληψη, είτε ολικού λίπους είτε κορεσμένου λίπους στη δίαιτά τους (41). Πολλές μελέτες έχουν συσχετίσει τον κίνδυνο καρκίνου του πνεύμονα με την εκτιμώμενη πρόσληψη β-καροτίνης ή ολικών καροτενοειδών (που στις περισσότερες περιπτώσεις αντιστοιχεί στο άθροισμα α- και β-καροτίνης) (42). Δεδομένα από μελέτες παρατήρησης υποστηρίζουν ότι τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα (43). Η κατανάλωση καφέ έχει συσχετιστεί με τον καρκίνο του πνεύμονα σε μια έκθεση της μελέτης NIH-AARP, όπου ο σχετικός κίνδυνος για όσους κατανάλωναν περισσότερα από 6 κύπελλα την ημέρα σε σχέση με όσους κατανάλωναν 1 βρέθηκε αυξημένος κατά 4.56 φορές (HR 4.56, 95% CI: 4.08-5.10) και (44). Ωστόσο, ο σχετικός κίνδυνος μειώθηκε σημαντικά (HR 1.27, 95% CI: 1,14-1,42), μετά την απομάκρυνση του συγχυτικού παράγοντα του καπνίσματος, καθώς όσοι έπιναν περισσότερο καφέ ήταν πιο πιθανό να είναι και καπνιστές. Παρομοίως, αν και φαίνεται να υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και καπνίσματος σε πολλούς πληθυσμούς, είναι δύσκολο να διασαφηνιστεί η συμβολή του αλκοόλ στην πνευμονική καρκινογένεση, επίσης λόγω του συγχυτικού παράγοντα του καπνίσματος. Οι μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι ο αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα που παρατηρείται μεταξύ των αλκοολικών οφείλεται κατά κύριο λόγο στην ύπαρξη συγχυτικών παραγόντων, καθώς δεν παρατηρήθηκε παρόμοια συσχέτιση στους αλκοολικούς μη καπνιστές (45, 46).

Οι ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα, ενώ το

συμπέρασμα αυτό φαίνεται να είναι ανεξάρτητο από το κάπνισμα (47). Αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης της νόσου παρατηρείται και σε ασθενείς με πνευμονική ίνωση (48). Μια μετα-ανάλυση για τον καρκίνο του πνεύμονα και το άσθμα σε άτομα που ποτέ δεν υπήρξαν καπνιστές κατέδειξε σχετικό κίνδυνο 1.8 (95% CI 1.3-2.3) (49). Επιπροσθέτως, αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα έχει βρεθεί ότι διατρέχουν οι ασθενείς με πνευμονική φυματίωση (50). Συγκεκριμένα σε μια μελέτη που αφορούσε μια μεγάλη ομάδα ασθενών με φυματίωση από την Κίνα (51), ο σχετικός κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα στα άτομα με ιστορικό φυματίωσης έως και 20 χρόνια μετά τη διάγνωσή της, ήταν 2.0. Παρατηρήθηκε επίσης συσχέτιση και με τη θέση των βλαβών της φυματίωσης. Οι παραπάνω μελέτες δεν κατάφεραν να τεκμηριώσουν αν ο αυξημένος σχετικός κίνδυνος οφείλεται στην χρόνια φλεγμονή ή στην ίδια την άμεση δράση του μυκοβακτηριδίου στο πνευμονικό παρέγχυμα. Εκτός από το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης, άλλοι λοιμογόννοι παράγοντες που σχετίζονται με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα είναι τα *Chlamydia pneumoniae* (52) και ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (53, 54), ενώ δεν φαίνεται να τεκμηριώνεται παρόμοια συσχέτιση με τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (55).

Η έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία σχετίζεται άμεσα με την εμφάνιση καρκίνου του πνεύμονα, καθώς αυξημένος κίνδυνος έχει αναφερθεί σε επιζώντες της ατομικής βόμβας, καθώς και σε ασθενείς που έχουν λάβει ακτινοθεραπεία με αθροιστική έκθεση άνω των 100 cGy (56). Επιπροσθέτως, οι ανθρακωρύχοι οι οποίοι εκτίθενται σε ραδιενεργό ραδόνιο και τα προϊόντα αποδόμησής του, τα οποία εκπέμπουν σωματίδια α, διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα (57). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι το κάπνισμα δρώντας συνεργικά, αυξάνει την καρκινογόνο δράση του ραδονίου (57). Η Υπηρεσία Προστασίας

Περιβάλλοντος των ΗΠΑ εκτιμά ότι η έκθεση στο ραδόνιο, τόσο επαγγελματική όσο και περιβαλλοντική, αποτελεί τη δεύτερη κύρια αιτία καρκίνου του πνεύμονα στις ΗΠΑ.

Η επαγγελματική έκθεση σε διάφορα καρκινογόνα διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση της νόσου (58). Δύο μελέτες έχουν εκτιμήσει το ποσοστό των περιπτώσεων καρκίνου του πνεύμονα που αποδίδονται σε επαγγελματική έκθεση να είναι 14,5% στο Ηνωμένο Βασίλειο (59) και 12,5% στη Γαλλία (60). Τα σημαντικότερα επαγγελματικά πνευμονικά καρκινογόνα θεωρούνται ο αμιάντος, το πυρίτιο, το ραδόνιο, τα βαρέα μέταλλα και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (61). Όλες οι μορφές αμιάντου αποτελούν ισχυρά καρκινογόνα για τον ανθρώπινο πνεύμονα, αν και η ισχύς μπορεί να διαφέρει μεταξύ των ισομορφών (62). Οι μελέτες που αφορούσαν ανθρακωρύχους νικελίου, μεταλλουργούς, εργαζόμενους στην ηλεκτροκόλληση και κατασκευαστές κράματος υψηλής περιεκτικότητας σε νικέλιο, έδειξαν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα (63). Αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα έχει επίσης αναφερθεί στους εργαζόμενους στον τομέα της κατασκευής συσσωρευτών με βάση το κάδμιο και στους εργαζόμενους σε βιομηχανίες με κράματα χαλκού και καπνού, αλλά τα στοιχεία δεν είναι τόσο ισχυρά όσο για τους άλλους παράγοντες. Έχει επίσης αναφερθεί αυξημένος κίνδυνος της νόσου σε άτομα που εκτίθενται σε υψηλά επίπεδα αρσενικού μέσω του πόσιμου νερού (64). Παράλληλα, έχει ενοχοποιηθεί η ενασχόληση με επαγγέλματα που περιλαμβάνουν έκθεση σε πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, όπως η παραγωγή αλουμινίου, η αεριοποίηση άνθρακα, η ενασχόληση με σίδηρο και χάλυβα, η απόσταξη πίσσας, και ο καθαρισμός καμινάδων (65, 66). Τέλος, τα διαθέσιμα επιδημιολογικά στοιχεία δείχνουν ότι υπάρχει υπερβολικά αυξημένος κίνδυνος στους

εργαζόμενους με υψηλή επαγγελματική έκθεση σε καυσαέρια κινητήρων ντίζελ (67).

3. Ιστολογική ταξινόμηση

Η πλειοψηφία των καρκινωμάτων του πνεύμονα είναι επιθηλιακής προέλευσης και ονομάζονται βρογχογενή καρκινώματα. Η ιστολογική ταξινόμηση των κακοήθων νεοπλασμάτων του πνεύμονα η οποία βασίζεται στις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization) και της Διεθνούς Ένωσης για τη μελέτη του καρκίνου του πνεύμονα (9, 68), παρατίθεται στον [πίνακα 3](#). Τα καρκινώματα του πνεύμονα διαχωρίζονται σε δύο ευρύτερες ομάδες: στο μη μικροκυτταρικό (NSCLC, Non-Small Cell Lung Cancer) και στο μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (SCLC, Small Cell Lung Cancer), με τον πρώτο να αντιστοιχεί στο 80% περίπου των περιπτώσεων και το δεύτερο στο 20%. Ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα περιλαμβάνει 3 κυρίως υπότυπους: το αδενοκαρκίνωμα, το πλακώδες καρκίνωμα και το καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα. Το μικροκυτταρικό καρκίνωμα συμπεριλαμβάνεται μαζί με άλλους ιστολογικούς τύπους στα νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα του πνεύμονα.

[Πίνακας 3](#). Ταξινόμηση του καρκίνου του πνεύμονα κατά WHO 2015 (68)

ΕΠΙΘΗΛΙΑΚΟΙ ΟΓΚΟΙ

Αδενοκαρκίνωμα

- Λεπιδικό αδενοκαρκίνωμα
- Κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα
- Θηλώδες αδενοκαρκίνωμα
- Μικροθηλώδες αδενοκαρκίνωμα
- Συμπαγές αδενοκαρκίνωμα
- Διηθητικό βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα

-
- Μικτό διηθητικό βλεννώδες και μη αδenoκαρκίνωμα
 - Κολλοειδές αδenoκαρκίνωμα
 - Εμβρυϊκό αδenoκαρκίνωμα
 - Εντερικό αδenoκαρκίνωμα
 - Ελάχιστα διηθητικό αδenoκαρκίνωμα
 - Μη βλεννώδες
 - Βλεννώδες
 - Προδιηθητικές βλάβες
 - Άτυπη αδenoματώδης υπερπλασία
 - Αδenoκαρκίνωμα in situ (βλεννώδες και μη βλεννώδες)

Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων

- Πλακώδες καρκίνωμα κερατινοποιούμενο
- Πλακώδες καρκίνωμα μη κερατινοποιούμενο
- Βασικοκυτταροειδές καρκίνωμα
- Προδιηθητικές βλάβες
 - Πλακώδες καρκίνωμα in situ

Νευροενδοκρινικοί όγκοι

- Καρκινοειδείς όγκοι
 - Τυπικό καρκινοειδές
 - Άτυπο καρκινοειδές
- Μικροκυτταρικό καρκίνωμα
 - Συνδυασμένο μικροκυτταρικό καρκίνωμα
- Μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα
 - Συνδυασμένο μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα

Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα

Αδενοπλακώδες καρκίνωμα

Σαρκωματοειδή καρκινώματα

- Πλειόμορφο καρκίνωμα
- Ατρακτοκυτταρικό καρκίνωμα
- Γιγαντοκυτταρικό καρκίνωμα
- Καρκινοσάρκωμα
- Πνευμονικό Βλάστημα

Λοιπά και μη ταξινομούμενα καρκινώματα

- Καρκίνωμα τύπου λεμφοεπιθηλιώματος
- NUT καρκίνωμα (αναδιατάξεις στο NUT γονίδιο)

Όγκοι τύπου σιελογόνων αδένων

- Βλεννοεπιδερμοειδές καρκίνωμα
- Αδενοειδές κυστικό καρκίνωμα
- Επιθηλιακό-μυοεπιθηλιακό καρκίνωμα
- Πλειόμορφο αδένωμα

Θηλώματα

- Εξωφυτικό θήλωμα
 - Εξωφυτικό
 - Ανεστραμμένο
- Αδενικό θήλωμα
- Μικτό πλακώδες και αδενικό θήλωμα

Αδενώματα

- Σκληρυντικό πνευμονοκύτωμα
- Κυψελιδικό
- Θηλώδες
- Βλεννώδες

ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΟΙ ΟΓΚΟΙ

- Πνευμονικό αμάρτωμα
- Χόνδρωμα

- Όγκοι PEC
 - Λεμφαγγειολειομάτωση
 - Καλόηθες pecoma
 - Κακόηθες pecoma
- Συγγενής περιβρογχικός μυοϊνοβλαστικός όγκος
- Διάχυτη πνευμονική λεμφαγγειομάτωση
- Φλεγμονώδης μυοϊνοβλαστικός όγκος
- Επιθηλιοειδές αιμαγγειοενδοθηλίωμα
- Πλευροπνευμονικό βλάστημα
- Συνοβιακό σάρκωμα
- Σάρκωμα πνευμονικής αρτηρίας
- Μυξοειδές σάρκωμα με διαμετάθεση *EWSR1-CREB1*
- Μυοεπιθηλιακοί όγκοι
 - Μυοεπιθηλίωμα
 - Μυοεπιθηλιακό καρκίνωμα

ΛΕΜΦΟΪΣΤΙΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΙ ΟΓΚΟΙ

- Εξωλεμφαδενικό λέμφωμα της οριακής ζώνης (Λέμφωμα MALT)
- Διάχυτο μεγαλοκυτταρικό B λέμφωμα
- Λεμφωματοειδής κοκκιωμάτωση
- Ενδαγγειακό λέμφωμα από μεγάλα B κύτταρα
- Πνευμονική ιστιοκυττάρωση Langerhans
- Νόσος Erdheim-Chester

ΟΓΚΟΙ ΕΚΤΟΠΗΣ ΑΡΧΗΣ

- Όγκοι γεννητικών κυττάρων
 - Ωριμο τεράτωμα
 - Άωρο τεράτωμα

- Ενδοπνευμονικό θύμωμα
- Μελάνωμα
- Μηνιγγίωμα NOS

ΜΕΤΑΣΤΑΤΙΚΟΙ ΟΓΚΟΙ

3.1. Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα

Ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (ΜΜΚΠ) αποτελεί τη συχνότερη μορφή πρωτοπαθούς όγκου των πνευμόνων καθώς αφορά στο 80% περίπου του συνόλου των καρκινωμάτων του πνεύμονα. Ο ΜΜΚΠ περιλαμβάνει κυρίως τους εξής υποτύπους: το αδеноκαρκίνωμα με συχνότητα εμφάνισης 40-50%, το πλακώδες καρκίνωμα με συχνότητα 20-30% και τέλος το καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα (69, 70). Οι παραπάνω υπότυποι διαφέρουν μεταξύ τους τόσο ως προς την εντόπιση, την ηλικία, το φύλο, την κλινική εικόνα όσο και προς τη θεραπευτική αντιμετώπιση και την πρόγνωση.

3.1.1. Αδеноκαρκίνωμα

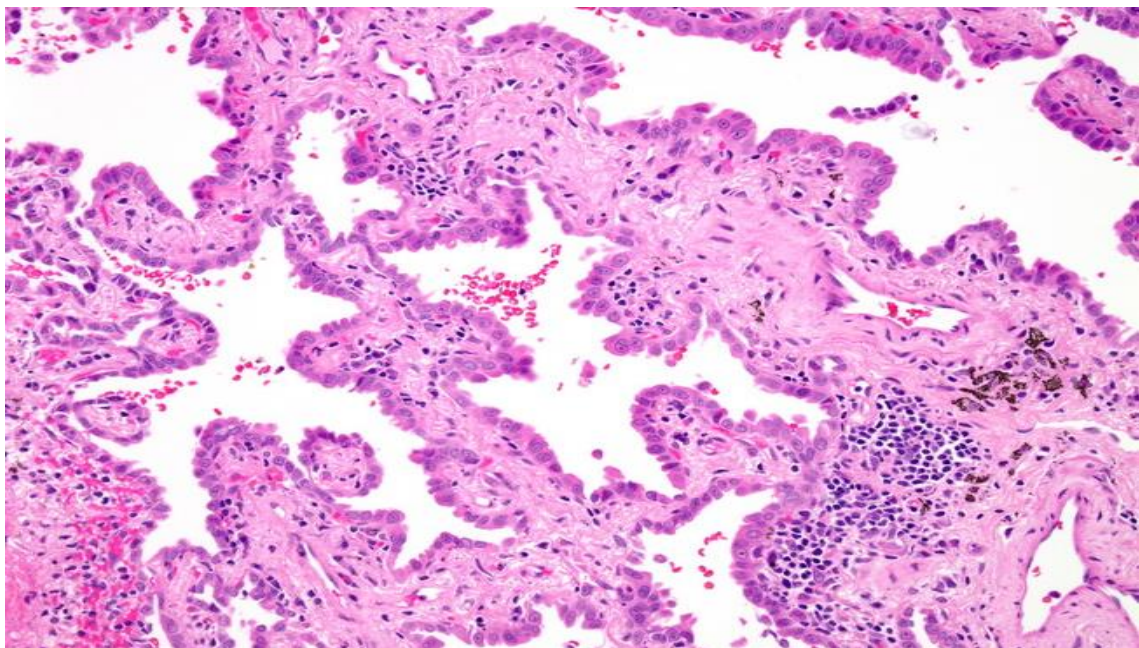
Το αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα, το οποίο αποτελεί το 40% όλων των κακοήθων νεοπλασμάτων του πνεύμονα, συνίσταται σε μια ομάδα ιστολογικών υποτύπων που περιλαμβάνει το αδеноκαρκίνωμα *in situ*, την άτυπη αδενωματώδη υπερπλασία, το λεπιδικό, το κυψελιδικό, το θηλώδες και μικροθηλώδες, το συμπαγές, το διηθητικό βλεννώδες, το κολλοειδές, το εμβρυϊκό, το εντερικό και το ελάχιστα διηθητικό αδеноκαρκίνωμα (68). Αξίζει να σημειωθεί ότι, αν και υπάρχει αιτιολογική σχέση με το κάπνισμα, το αδеноκαρκίνωμα εμφανίζεται σε μη καπνιστές περισσότερο συχνά από οποιονδήποτε άλλο ιστολογικό τύπο πνευμονικού καρκίνου. Το

αδενοκαρκίνωμα απεικονιστικά παρουσιάζεται συνήθως ως περιφερική βλάβη με κεντρική ίνωση ενώ σπανιότερα μπορεί να παρουσιαστεί με τη μορφή κεντρικής βλάβης, διάχυτης αμφοτερόπλευρης νόσου ή πάχυνσης του υπεζωκότα. Μακροσκοπικά, συνήθως πρόκειται για πολυποειδόμορφη εξεργασία και λιγότερο συχνά για επίπεδη αλλοίωση. Εξ ορισμού, το αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα είναι ένα κακόηθες επιθηλιακό νεόπλασμα με χαρακτηριστική αδενική διαφοροποίηση και/ή παραγωγή βλέννης. Όταν αναγνωρίζονται τέτοια μορφολογικά χαρακτηριστικά, ο όγκος μπορεί να χαρακτηριστεί ως αδενοκαρκίνωμα, ακόμη και όταν πρόκειται για μικρά δείγματα βιοψίας (71). Τα κύτταρα του αδενοκαρκινώματος συνήθως εκφράζουν ανοσοϊστοχημικά πνευμοκυτταρικούς δείκτες όπως ο θυρεοειδικός μεταγραφικός παράγων 1 (TTF-1) και η Napsin A, οι οποίοι εκφράζονται σε περισσότερο από το 85% των περιπτώσεων, αποτελώντας χρήσιμους διαφοροδιαγνωστικούς δείκτες (71). Ανοσοϊστοχημικά επίσης εκφράζονται επιθηλιακοί δείκτες όπως AE1/AE3, CAM 5.2, ειδικό μεμβρανικό αντιγόνο (EMA), και καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA). Επίσης, εκφράζεται κυτταροκερατίνη 7 πολύ συχνότερα από την κυτταροκερατίνη 20 (72).

Αδενοκαρκίνωμα in situ / ελάχιστο διηθητικό Αδενοκαρκίνωμα

Το αδενοκαρκίνωμα in situ αντιπροσωπεύει σχετικά μικρού μεγέθους όγκους (≤ 3 cm) με νεοπλασματικά κύτταρα που αναπτύσσονται κατά μήκος προϋπαρχουσών κυψελιδικών δομών (λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης), χωρίς ένδειξη στρωματικής, αγγειακής ή υπεζωκοτικής διήθησης (εικόνα 6). Τα περισσότερα in situ αδενοκαρκινώματα αφορούν σε μη βλεννώδεις όγκους, με ήπια έως μέτρια πλειόμορφα κυβοειδή έως κυλινδρικά κύτταρα τα οποία αναπτύσσονται γραμμοειδώς στην έσω

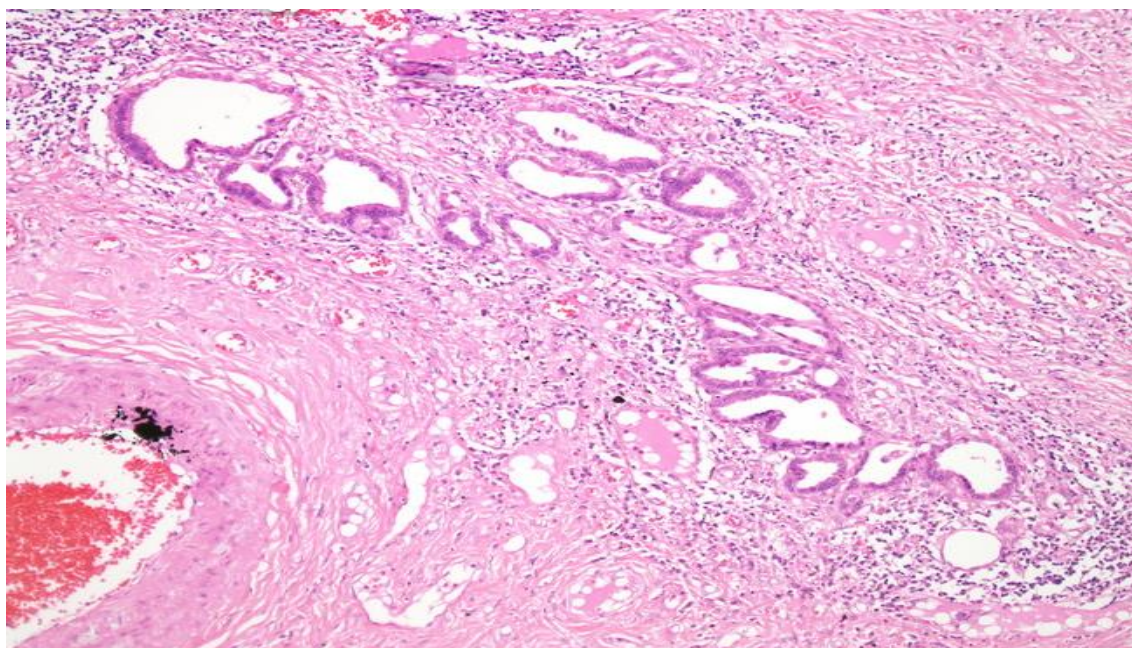
επιφάνεια των κυψελιδικών τοιχωμάτων. Δεν παρατηρείται δευτερογενές θηλώδες ή μικροθηλώδες πρότυπο ανάπτυξης του όγκου (71). Ένα μικρό ποσοστό τέτοιων όγκων είναι βλεννώδεις ή μικτού τύπου. Εάν ο όγκος περιέχει μικρή εστία (5 mm) διηθητικής ανάπτυξης, τότε ταξινομείται ως μικροδιηθητικό και όχι ως in situ αδеноκαρκίνωμα. Η διήθηση συνήθως προκαλεί το σχηματισμό ενός δεσμοπλαστικού στρώματος στο νεόπλασμα, ενώ μπορεί να εκδηλωθεί με μη λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης, όπως θηλώδες, μικροθηλώδες ή συμπαγές. Στη μικροδιήθηση επίσης, απουσιάζουν χαρακτηριστικά όπως νεκρώσεις, διήθηση αγγείων, λεμφαγγείων και υπεζωκότα, τα οποία συνήθως παρατηρούνται σε πιο εκτεταμένες διηθήσεις. Το in situ και το ελάχιστα διηθητικό αδеноκαρκίνωμα θεωρούνται χαμηλού βαθμού κακοήθειας νεοπλάσματα με πενταετή επιβίωση που φτάνει το 100% (68). Στον [πίνακα 4](#) καταγράφονται τα διαγνωστικά κριτήρια του αδеноκαρκινώματος in situ και του μικροδιηθητικού αδеноκαρκινώματος ([εικόνα 7](#)) του πνεύμονα όπως αυτά ορίστηκαν με την τελευταία ιστολογική ταξινόμηση του 2015.



[Εικόνα 6](#). Αδеноκαρκίνωμα in situ, πηγή webpathology

Πίνακας 4. Διαγνωστικά κριτήρια αδеноκαρκινώματος in situ και μικροδιηθητικού αδеноκαρκινώματος του πνεύμονα (68)

Αδеноκαρκίνωμα in situ	Ελάχιστα διηθητικό αδеноκαρκίνωμα
1.Μικρό μέγεθος όγκου $\leq 3\text{cm}$	1.Μικρό μέγεθος όγκου $\leq 3\text{cm}$
2.Μονήρες αδеноκαρκίνωμα	2.Μονήρες αδеноκαρκίνωμα
3.Λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης	3.Λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης
4.Απουσία στρωματικής, αγγειακής, υπεζωκοτικής διήθησης	4.Μέγιστη εστιακή διήθηση $\leq 0,5\text{ cm}$ σε οποιαδήποτε εστία
5.Απουσία προτύπου ανάπτυξης διηθητικού αδеноκαρκινώματος	5.Η μέτρηση της διηθητικής συνιστώσας θα πρέπει να περιλαμβάνει
6.Απουσία αερογενούς διασποράς	• Οποιοδήποτε ιστολογικό υπότυπο εκτός του λεπιδικού • Κύτταρα όγκου που διεισδύουν στο μυοϊνοβλαστικό στρώμα
7.Κυτταρικοί τύποι μη βλεννώδεις και σπάνια βλεννώδεις	
8.Απουσία πυρηνικής ατυπίας	
9.Η παρουσία σκλήρυνσης/ελάστωσης του διαφράγματος είναι συνήθης, ειδικά στα μη βλεννώδη αδеноκαρκινώματα	6.Η διάγνωση αποκλείεται όταν ο όγκος • Διηθεί λεμφαδένες, αγγεία, αεραγωγούς, υπεζωκότα • Περιέχει νέκρωση • Εξαπλώνεται μέσω των αεραγωγών
	7.Κυτταρικοί τύποι μη βλεννώδεις και σπάνια βλεννώδεις



Εικόνα 7. Ελάχιστα διηθητικό αδενοκαρκίνωμα, πηγή webpathology

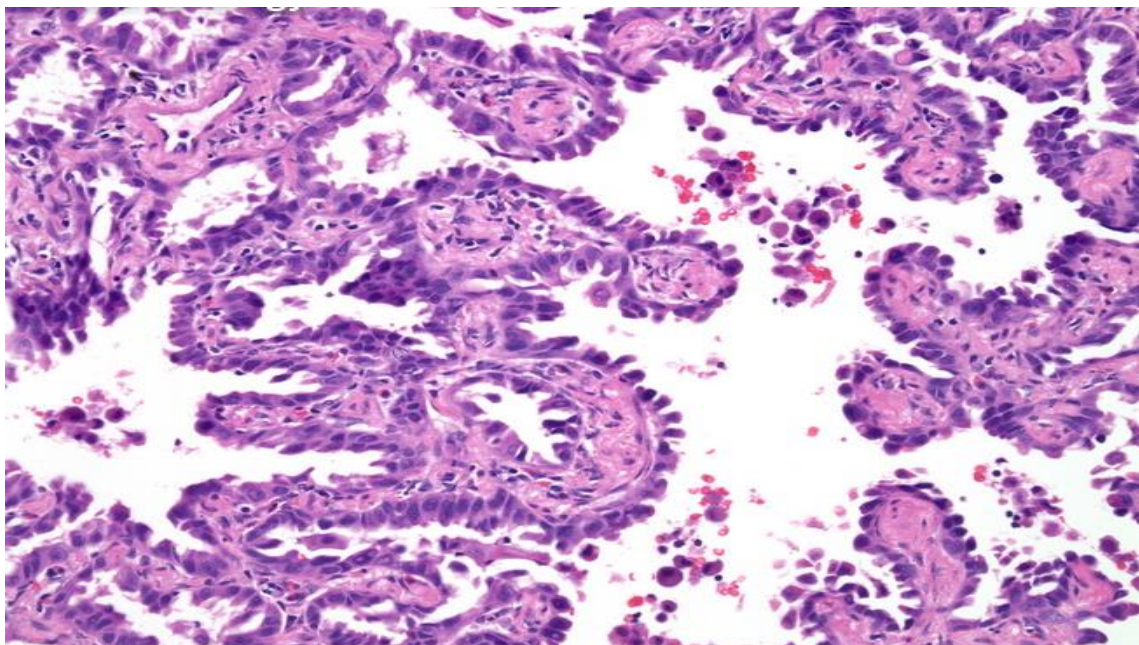
Διηθητικό Αδενοκαρκίνωμα

Τα περισσότερα διηθητικά αδενοκαρκινώματα αποτελούνται από μικτούς μορφολογικούς υποτύπους και ταξινομούνται ανάλογα με την κυρίαρχη αρχιτεκτονική μορφολογία. Κάθε όγκος με αυτόν τον τρόπο χαρακτηρίζεται ως λεπιδικό, θηλώδες, μικροθηλώδες, συμπαγές ή κυψελιδικό αδενοκαρκίνωμα. Αυτή η αρχιτεκτονική ταξινόμηση του νεοπλασματος έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία, με την ευνοϊκότερη πρόγνωση για το λεπιδικό πρότυπο, ενδιάμεση για το θηλώδες και κυψελιδικό και πτωχή για το μικροθηλώδες και συμπαγές αδενοκαρκίνωμα (73, 74)

Λεπιδικό αδενοκαρκίνωμα

Κατά το λεπιδικό πρότυπο ανάπτυξης, το οποίο συναντάται συχνά στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα, τα νεοπλασματικά κύτταρα επεκτείνονται κατά μήκος των προϋπαρχουσών κυψελιδικών δομών, αν

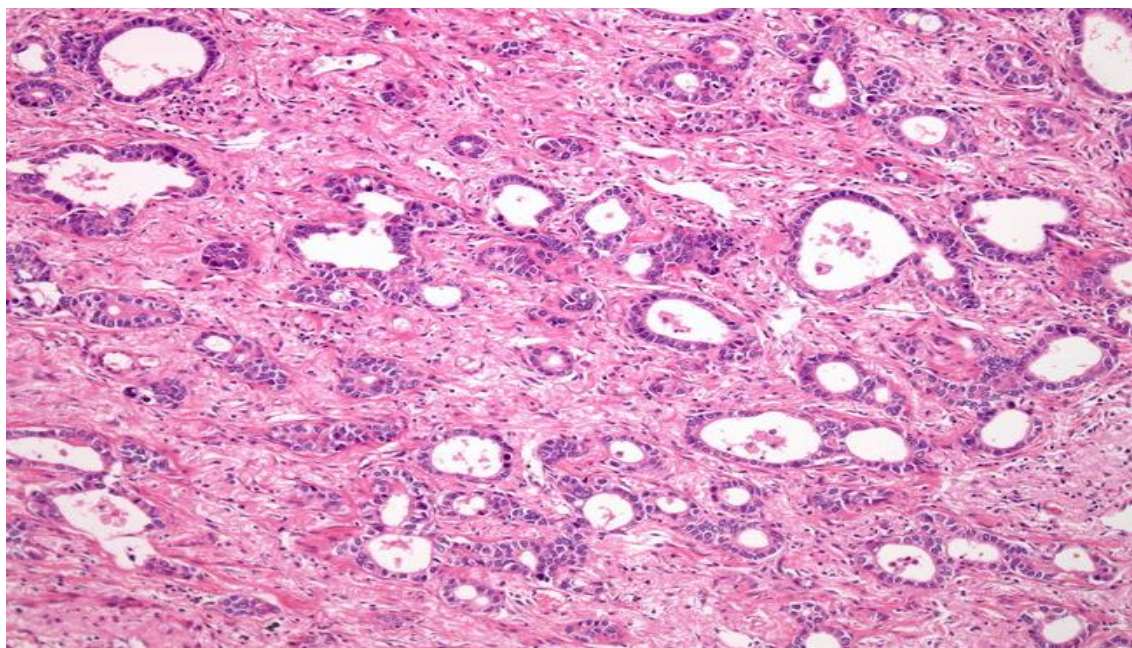
και μπορεί να παρατηρείται σκλήρυνση των κυψελιδικών διαφραγμάτων. Όταν αποτελεί το κυρίαρχο πρότυπο ανάπτυξης σε συνδυασμό με επιπρόσθετα ευρήματα που απομακρύνουν από τη διάγνωση του *in situ* και του ελάχιστα διηθητικού αδеноκαρκινώματος, τότε το καρκίνωμα χαρακτηρίζεται ως λεπιδικό (εικόνα 8). Τα επιπλέον ευρήματα περιλαμβάνουν ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα: διήθηση μεγαλύτερη από 5 χιλιοστά με παρουσία δεσμοπλαστικού ή μυοϊνοβλαστικού στρώματος, επέκταση μεταξύ αεραγωγών, παρουσία λεμφαγγειακής/αγγειακής/υπεξωκοτικής διήθησης, νεκρώσεις. Αν και τέτοιοι όγκοι στο παρελθόν ταξινομούνταν ως βρογχοκυψελιδικά καρκινώματα, ο όρος αυτός πλέον δεν χρησιμοποιείται καθώς περιελάμβανε μία αρκετά ετερογενή ομάδα αδеноκαρκινωμάτων. Τέλος, το λεπιδικό αδеноκαρκίνωμα συνοδεύεται από καλύτερη πρόγνωση σε σχέση με τους υπόλοιπους υποτύπους (71).



Εικόνα 8. Λεπιδικό αδеноκαρκίνωμα, πηγή webpathology

Κυψελιδικό αδеноκαρκίνωμα

Το κυψελιδικό αδеноκαρκίνωμα είναι ένας αρκετά συχνός τύπος αδеноκαρκινώματος, κατά τον οποίο τα καρκινικά κύτταρα διατάσσονται σε αδένια μέσα σε ινοελαστικό στρώμα. Σε αυτό το σημείο, είναι σημαντικός ο διαχωρισμός του δεσμοπλαστικού στρώματος αυτού του προτύπου από τις προϋπάρχουσες κυψελιδικές δομές με πυκνά ινώδη διαφράγματα που παρατηρούνται στο λεπιδικό πρότυπο (εικόνα 9). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να έχουν πιο σύνθετα πρότυπα ανάπτυξης, όπως το ηθμοειδές, το οποίο συνιστά ένα πτωχό προγνωστικό σημείο (71).

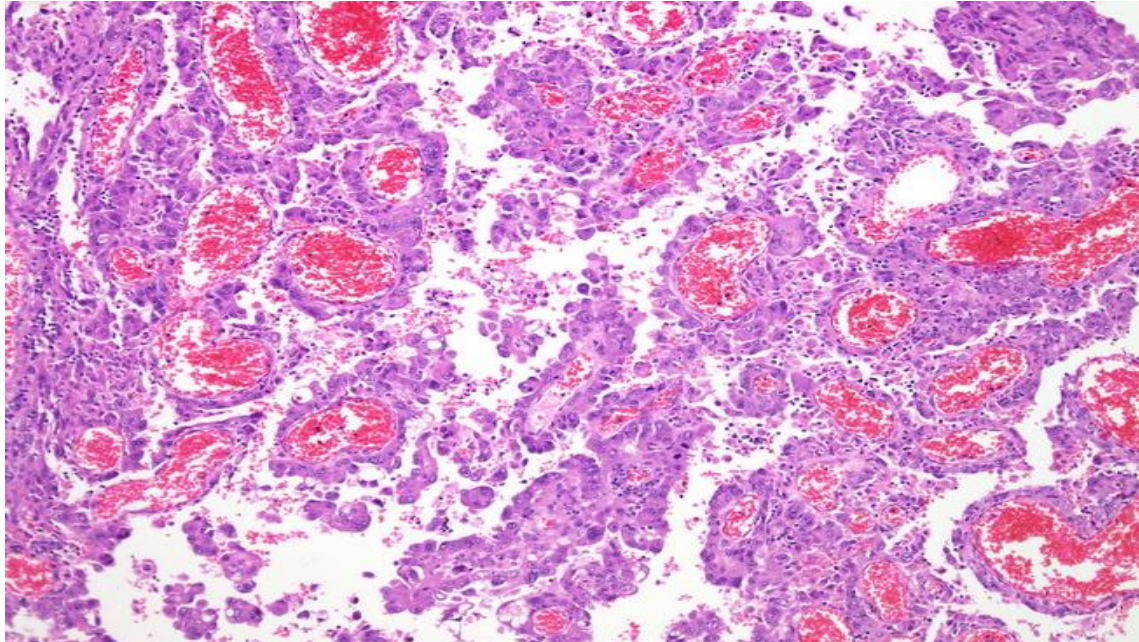


Εικόνα 9. Κυψελιδικό αδеноκαρκίνωμα, πηγή webpathology

Θηλώδες αδеноκαρκίνωμα

Τα καρκινικά κύτταρα σε αυτό τον υπότυπο, αναπτύσσονται επάνω σε διακλαδούμενους αγγειοσυνδετικούς άξονες σχηματίζοντας

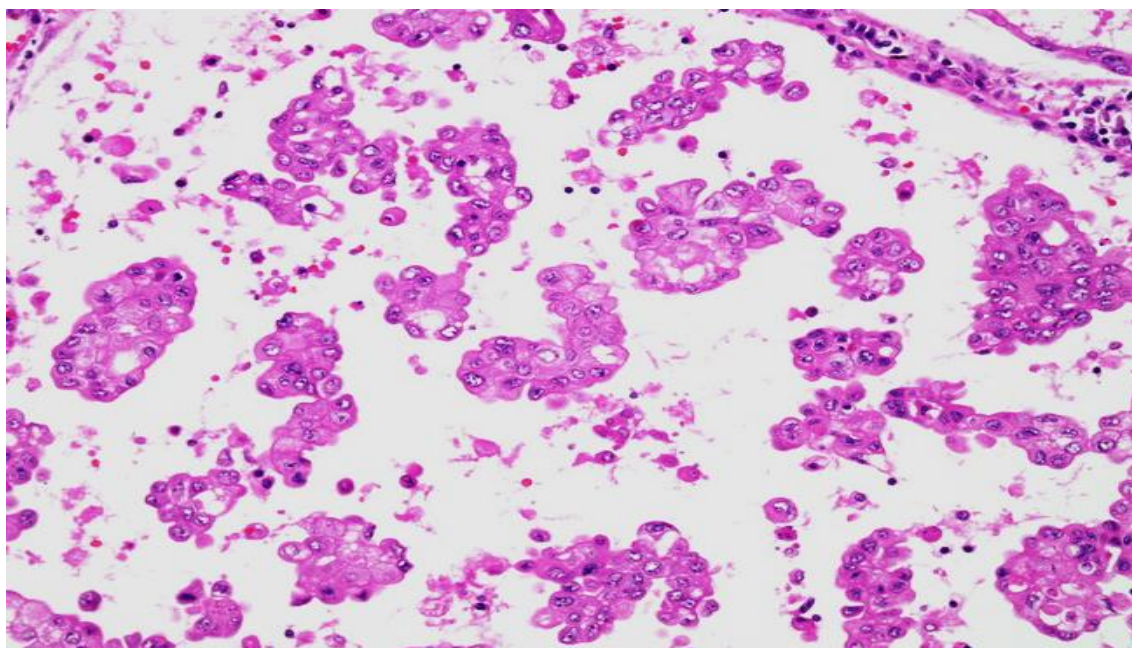
χαρακτηριστικές θηλές (εικόνα 10). Η ανεύρεση των τελευταίων ξεχωρίζει αυτόν τον υπότυπο από το μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα (71).



Εικόνα 10. Θηλώδες αδеноκαρκίνωμα, πηγή webpathology

Μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα

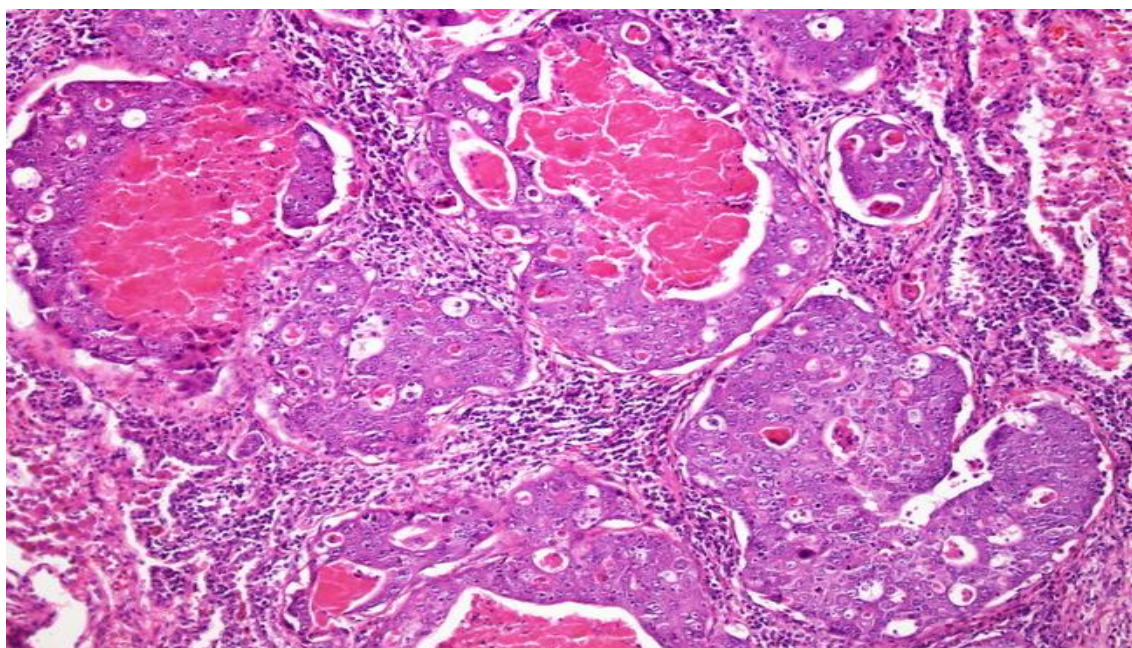
Τα καρκινικά κύτταρα σε αυτό το πρότυπο ανάπτυξης σχηματίζουν ψευδοθηλές χωρίς την παρουσία αγγειοσυνδετικού άξονα, που παρουσιάζονται με τη μορφή απομονωμένων μικρών, συμπαγών κυτταρικών ομάδων (εικόνα 11). Επίσης, πιθανή είναι και η ύπαρξη ψαμμωδών σωματίων. Το μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα έχει τη χειρότερη πρόγνωση από όλους τους υποτύπους, ακόμη και σε αρχικά στάδια (75, 76).



Εικόνα 11. Μικροθηλώδες αδеноκαρκίνωμα, πηγή webpathology

Συμπαγές αδеноκαρκίνωμα

Στο συμπαγές αδеноκαρκίνωμα τα καρκινικά κύτταρα στερούνται συγκεκριμένου προτύπου ανάπτυξης κατά την εξέλιξή τους. Σε αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται τα πτωχά διαφοροποιημένα και αδιαφοροποίητα καρκινώματα (εικόνα 12) που εκφράζουν δείκτες πνευμονικής προέλευσης όπως TTF1 και NapsinA. Πρέπει να σημειωθεί ότι μερικοί δείκτες που συνήθως σχετίζονται με πλακώδη διαφοροποίηση, όπως το p63 και πιο σπάνια το p40, μπορούν να εκφραστούν σε αυτόν τον τύπο αδеноκαρκινώματος (71, 77).



Εικόνα 12. Συμπαγές αδενοκαρκίνωμα, πηγή webpathology

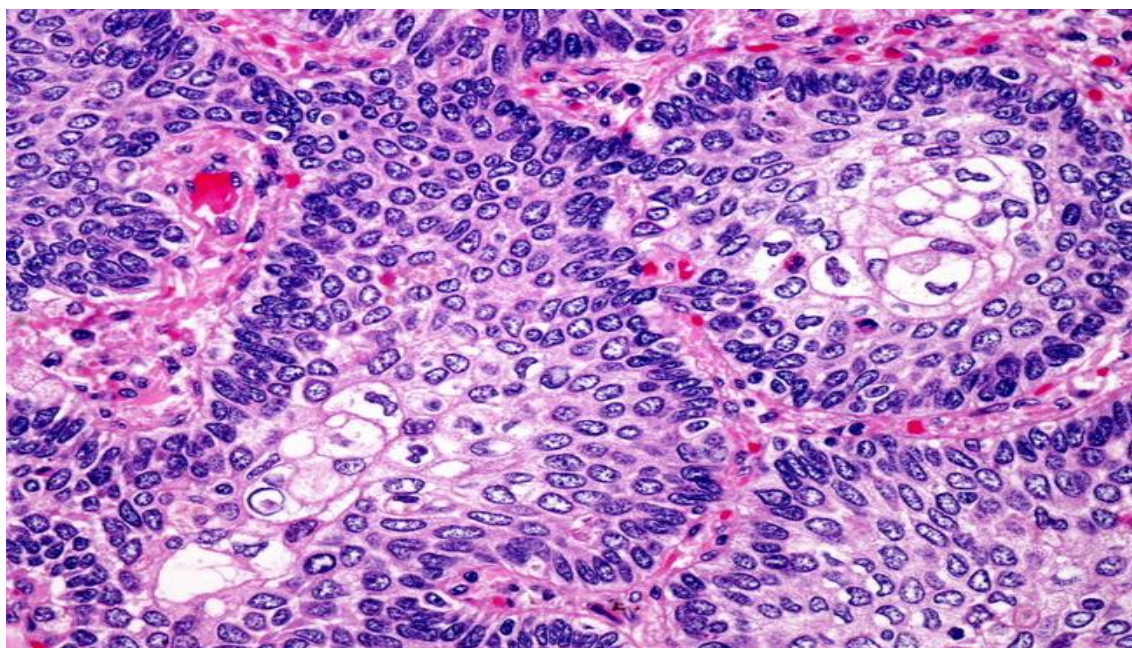
Σπάνιοι υπότυποι διηθητικού αδενοκαρκινώματος

Οι σπάνιοι υπότυποι του διηθητικού αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα περιλαμβάνουν το διηθητικό βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα, το κολλοειδές και εμβρυϊκό αδενοκαρκίνωμα, καθώς και το εντερικού τύπου αδενοκαρκίνωμα. Το διηθητικό βλεννώδες αδενοκαρκίνωμα έχει συνήθως πολυεστιακή εντόπιση ενώ δεν εκφράζει τον δείκτη TTF-1, ο οποίος συναντάται στους άλλους υποτύπους (78). Τέλος, το εντερικού τύπου αδενοκαρκίνωμα πρέπει να διαχωρίζεται από το μεταστατικό αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου.

3.1.2. Πλακώδες καρκίνωμα

Το πλακώδες καρκίνωμα σήμερα αποτελεί περίπου το 20% των κακοήθων νεοπλασμάτων του πνεύμονα. Η επίπτωσή του είχε καθοδική πορεία κατά τις τελευταίες δεκαετίες, πιθανώς λόγω της αλλαγής της καπνιστικής συνήθειας, με την οποία εμφανίζει στενή συσχέτιση. Τα πλακώδη

καρκινώματα συνήθως εντοπίζονται σε μεγάλους αεραγωγούς, ενώ χαρακτηρίζονται από κεντρική νέκρωση και δημιουργία σπηλαίων. Στην μικροσκοπική εξέταση διακρίνονται οι ενδοκυττάρια γέφυρες και η χαρακτηριστική κερατινοποίηση, η οποία μπορεί να αφορά σε μεμονωμένα κύτταρα ή σε ομάδες κυττάρων, σχηματίζοντας πέρλες κερατίνης στο κέντρο φωλεών. Τα καρκινικά κύτταρα των πλακωδών καρκινωμάτων συνήθως έχουν υπερχρωματικούς πυρήνες, ορατά πυρήνια και άφθονο κυτταρόπλασμα. Τα πλακώδη καρκινώματα διαιρούνται περαιτέρω στα κερατινοποιούμενα, στα μη κερατινοποιούμενα και στα βασικοκυτταροειδή (εικόνα 13). Σε αντίθεση με τους υποτύπους του αδеноκαρκινώματος, η υποδιαίρεση αυτή δεν έχει ιδιαίτερη προγνωστική αξία, με εξαίρεση το βασικοκυτταροειδές πλακώδες καρκίνωμα, το οποίο έχει χαρακτηριστικό μοριακό προφίλ, που το κάνει ιδιαίτερα ανθεκτικό στην χημειοθεραπεία (79). Η παθολογοανατομική διάγνωση του πλακώδους καρκινώματος βασίζεται στην παρουσία των χαρακτηριστικών μορφολογικών στοιχείων (κερατινοποίηση, πέρλες κερατίνης, ενδοκυττάρια γέφυρες). Σε περιπτώσεις, όμως, πτωχά διαφοροποιημένων καρκινωμάτων, για τη διερεύνηση της πλακώδους διαφοροποίησης χρησιμοποιούνται οι ανοσοϊστοχημικοί δείκτες p63, p40, CK5/6, CK5 (80). Η έκφραση του δείκτη TTF1 είναι συνήθως απύσχα, αν και έχει αναφερθεί και η παρουσία ασθενούς θετικότητας της ανοσοχρώσης (81). Η διαπίστωση της πλακώδους διαφοροποίησης είναι ιδιαίτερα σημαντική στην επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής στρατηγικής.

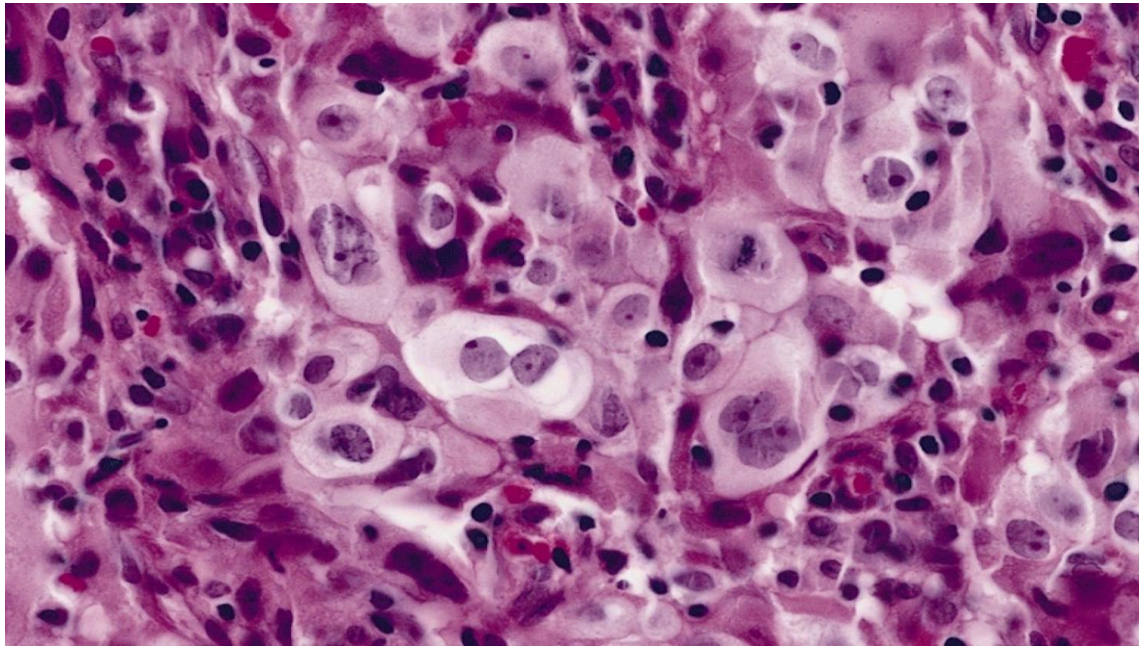


Εικόνα 13. Πλακώδες καρκίνωμα (βασαλοειδές), πηγή webpathology

3.1.3. Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα

Το μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα αφορά στη μειοψηφία του συνόλου των μη μικροκυτταρικών καρκινωμάτων του πνεύμονα, αντιπροσωπεύοντας καρκινώματα αδιαφοροποίητα, τα οποία στερούνται μορφολογικών ή ανοσοϊστοχημικών στοιχείων αδενοκαρκινώματος, πλακώδους ή νευροενδοκρινικού καρκινώματος. Εντοπίζεται κυρίως περιφερικά, ενώ συνήθως έχει ογκώδη και νεκρωτική εμφάνιση. Τα καρκινικά κύτταρα είναι μεγάλα, πολυγωνικού σχήματος, με πλειόμορφους, κενοτοπιώδεις πυρήνες, τα οποία αναπτύσσονται χωρίς συγκεκριμένο αρχιτεκτονικό μοτίβο ή σχηματίζουν φωλεές (εικόνα 14). Όγκοι με μορφολογικά χαρακτηριστικά μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος σε βιοπτικό ή κυτταρολογικό υλικό, χαρακτηρίζονται ως μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα μη περαιτέρω ταυτοποιούμενα (NSCLC NOS) και όχι ως μεγαλοκυτταρικά καρκινώματα, καθώς τα τελευταία μπορούν να ταυτοποιηθούν μόνο σε παρασκεύασμα χειρουργικής εκτομής. Επίσης, είναι σημαντικό να γίνεται ο κατάλληλος ανοσοϊστοχημικός έλεγχος, ώστε

να μην εντάσσονται εσφαλμένα στην κατηγορία του μεγαλοκυτταρικού, καρκινώματα πτωχής διαφοροποίησης όπως τα συμπαγή αδenoκαρκινώματα και τα μη κερατινοποιημένα πλακώδη καρκινώματα. Η πρόγνωση του μεγαλοκυτταρικού καρκινώματος είναι ιδιαίτερα πτωχή.

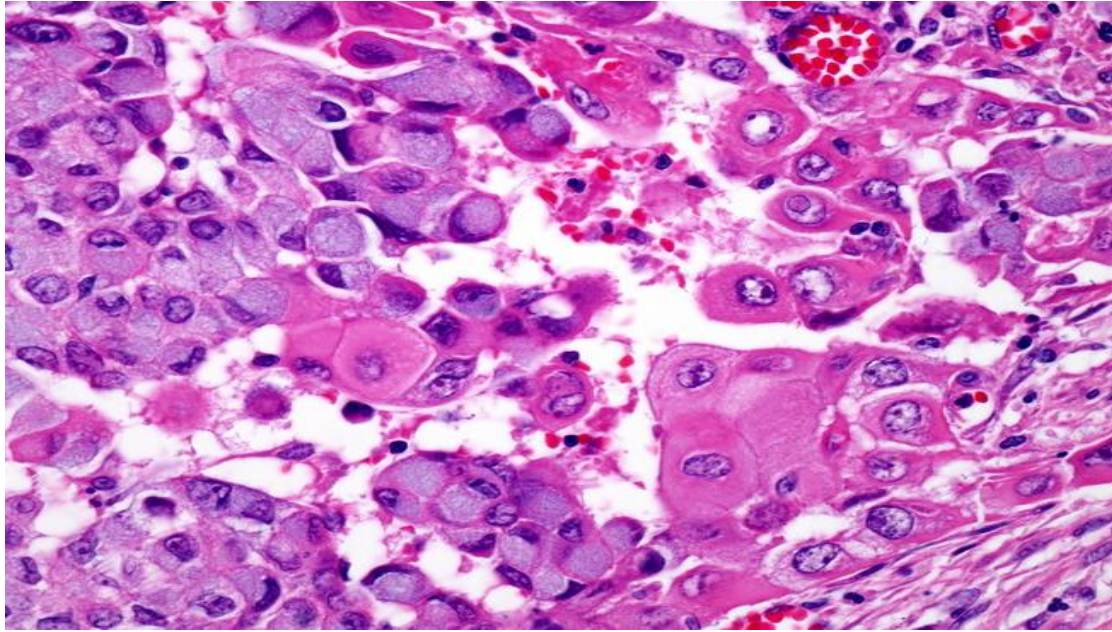


Εικόνα 14. Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα, πηγή webpathology

3.1.4. Λιγότερο συχνοί ιστολογικοί τύποι

Το αδenoπλακώδες καρκίνωμα αποτελεί ένα σπάνιο τύπο ΜΜΚΠ, εφόσον αφορά σε ποσοστό μικρότερο του 5% του συνόλου των καρκινωμάτων του πνεύμονα (82). Αντιπροσωπεύει ένα υβριδικό καρκίνωμα με στοιχεία τόσο αδενικής όσο και πλακώδους διαφοροποίησης, αρκεί το κάθε στοιχείο να αποτελεί τουλάχιστον το 10% του όγκου (68) (εικόνα 15). Από κλινικής άποψης, το αδenoπλακώδες καρκίνωμα συνήθως αντιμετωπίζεται θεραπευτικά όπως και το αδenoκαρκίνωμα, καθώς οι οδηγές μεταλλάξεις που αποτελούν θεραπευτικούς στόχους, έχουν την ίδια συχνότητα εμφάνισης στους δύο ιστολογικούς τύπους (83). Όσον αφορά στην

πρόγνωση, το αδеноπλακώδες καρκίνωμα παρουσιάζει την χειρότερη τόσο σε σύγκριση με το αδеноκαρκίνωμα όσο και με το πλακώδες καρκίνωμα (84).



Εικόνα 15. Αδеноπλακώδες καρκίνωμα, πηγή webpathology

Το πλειόμορφο, το γιγαντοκυτταρικό και το ατρακτοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελούν επίσης σπάνιους υποτύπους ΜΜΚΠ, με συχνότητα εμφάνισης στο σύνολο των καρκινωμάτων του πνεύμονα μικρότερη από 3% (68). Τα καρκινώματα αυτά έχουν πτωχή κυτταρική διαφοροποίηση που ομοιάζει με αυτή των σαρκωμάτων, ενώ η διάγνωσή τους απαιτεί παρασκεύασμα χειρουργικής εκτομής. Ανοσοϊστοχημικά, η έκφραση κυτταροκερατίνης είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον αποκλεισμό του πρωτοπαθούς πνευμονικού σαρκώματος. Επιθηλιακοί ανοσοϊστοχημικοί δείκτες, που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι η πανκερατίνη, η κερατίνη ΑΕ1/ΑΕ3, η κερατίνη 7 και το ΕΜΑ. Η πρόγνωση αυτών των όγκων είναι χειρότερη σε σχέση με τα συμβατικά ΜΜΚΠ (85). Το καρκινοσάρκωμα περιέχει στοιχεία ΜΜΚΠ και σαρκωματώδη στοιχεία όπως στο

ραβδομυοσάρκωμα, οστεοσάρκωμα, χονδροσάρκωμα. Τέλος το πνευμονικό βλάστημα, τα βλεννοεπιδερμοειδή καρκινώματα, τα αδеноειδή κυστικά καρκινώματα και τα επιθηλιομυοεπιθηλιακά καρκινώματα εκπροσωπούν ιδιαίτερα σπάνιες περιπτώσεις ΜΜΚΠ (68, 71).

3.2. Νευροενδοκρινικά νεοπλάσματα του πνεύμονα

Οι νευροενδοκρινείς όγκοι του πνεύμονα είναι σχετικά συνήθη νεοπλάσματα, καθώς αντιπροσωπεύουν περίπου το 20-25% του συνόλου των πνευμονικών καρκίνων (86). Τα κοινά μορφολογικά, ανοσοϊστοχημικά και δομικά χαρακτηριστικά τους, τους διαχωρίζουν από τα υπόλοιπα νεοπλάσματα του πνεύμονα. Αυτά τα χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν οργανοειδές πρότυπο ανάπτυξης, λεπτοκοκκώδη εμφάνιση της χρωματίνης ή εικόνα «αλατοπίπερου» και την έκφραση ειδικών νευροενδοκρινικών ανοσοϊστοχημικών δεικτών, όπως η χρωμογρανίνη Α, η συναπτοφυσίνη και το CD56. Μεταξύ αυτών των όγκων υπάρχει σημαντικός βαθμός ετερογένειας στη διαφοροποίηση, από τα πολύ καλά διαφοροποιημένα καρκινώματα μέχρι τα πολύ πτωχά χωρίς κανένα νευροενδοκρινές στοιχείο. Αυτή η ποικιλότητα διαφοροποίησης σχετίζεται με το ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων του όγκου, η οποία αντανακλά τόσο στην επιθετικότητα του νεοπλάσματος όσο και στην πρόγνωση του ασθενή. Η κατηγοριοποίηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ. ή WHO) το 2015, διαχώρισε την ομάδα των νευροενδοκρινών όγκων σε 4 υποκατηγορίες: το τυπικό καρκινοειδές, το άτυπο καρκινοειδές, το μικροκυτταρικό καρκίνωμα και το νευροενδοκρινές καρκίνωμα του πνεύμονα από μεγάλα κύτταρα (πίνακας 5). Καθώς ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων φαίνεται να σχετίζεται με την πρόγνωση, χρησιμοποιήθηκε μαζί με την

παρουσία ή όχι νέκρωσης στον διαχωρισμό των νευροενδοκρινικών όγκων σε 3 προγνωστικές υποκατηγορίες: τα χαμηλού βαθμού κακοηθείας (τυπικό καρκινοειδές), τα ενδιάμεσου βαθμού (άτυπο καρκινοειδές) και τα υψηλού βαθμού κακοηθείας (μικροκυτταρικό καρκίνωμα και νευροενδοκρινές από μεγάλα κύτταρα). Ο ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού εκφράζει τον αριθμό μιτώσεων που παρατηρούνται ανά μικροσκοπική περιοχή του όγκου, που συνήθως αφορά στις μιτώσεις ανά 2 mm² όγκου ή ανά 10 οπτικά πεδία. Τα τελευταία χρόνια αξιολογείται με τον ανοσοϊστοχημικό δείκτη πολλαπλασιασμού Ki67, ο οποίος αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για τα μικρά βιοπτικά υλικά (87).

Πίνακας 5. Διαγνωστικά ευρήματα νευροενδοκρινικών όγκων του πνεύμονα (71)

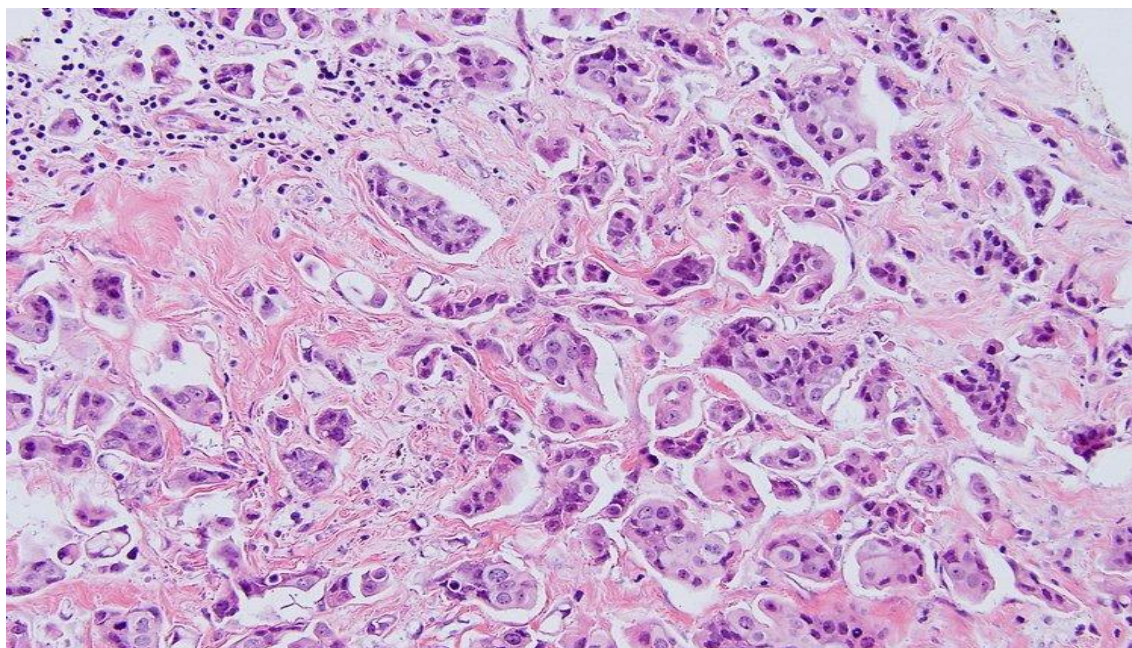
	Τυπικό καρκινοειδές	Άτυπο καρκινοειδές	SCLC	LCNEC
Νευροενδοκρινική μορφολογία	Ομοιόμορφα κύτταρα κατανεμημένα σε οργανοειδείς φωλεές, πασσάλους, ροζέτες ή δοκίδες	Ομοιόμορφα κύτταρα κατανεμημένα σε οργανοειδείς φωλεές, πασσάλους, ροζέτες ή δοκίδες	Μικρό μέγεθος κυττάρων, λεπτοκοκκώδης χρωματίνη, μη ορατό πυρήνιο, ελάχιστο κυτταρόπλασμα	Μεγάλο μέγεθος κυττάρων, πυρήνιο, άφθονο κυτταρόπλασμα
Μιτώσεις ανά 2 mm ²	<2	2-10	>10, συνήθως >60	>10, συνήθως >30
Ki67	≤4-5%	≤20-25%	>70%	Συνήθως >40%
Νέκρωση	Όχι	Μόνο κατά τόπους	Εκτεταμένη	Εκτεταμένη
Έκφραση νευροενδοκρινικών δεικτών	Ναι	Ναι	Ναι, σπάνια αρνητικό	Ναι

Βαθμός κακοήθειας	Χαμηλός	Ενδιάμεσος	Υψηλός	Υψηλός
SCLC: Small Cell Lung Cancer/μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα, LCNEC: Large Cell Neuroendocrine Carcinoma/ νευροενδοκρινές καρκίνωμα από μεγάλα κύτταρα				

3.2.1. Τυπικό καρκινοειδές

Οι καρκινοειδείς όγκοι είναι σπάνιοι, καθώς αφορούν το 1-2% όλων των όγκων του πνεύμονα (88). Αν και στους ενήλικες η συχνότητα εμφάνισής τους είναι ιδιαίτερα μικρή, στον παιδιατρικό πληθυσμό είναι αρκετά συχνά νεοπλάσματα. Το τυπικό καρκινοειδές διαφέρει από τους υπόλοιπους τύπους καρκίνου του πνεύμονα ως προς τη μέση ηλικία εμφάνισης, η οποία τοποθετείται περίπου στα 45-55 έτη ζωής, ως προς το στάδιο εμφάνισης της νόσου, με περισσότερες από 70% των περιπτώσεων να εμφανίζονται σαν νόσος σταδίου I, και κατ' επέκταση και ως προς την πρόγνωση, με ποσοστό 5ετούς επιβίωσης μεγαλύτερο από 90% (89). Δεν έχει παρατηρηθεί συσχέτιση με το κάπνισμα καθώς η συχνότητα της συνήθειας στους ασθενείς με τυπικό καρκινοειδές είναι παρόμοια με αυτή στο γενικό πληθυσμό (90). Οι περισσότερες περιπτώσεις είναι σποραδικές, με μόνο 5% αυτών να παρουσιάζεται στα πλαίσια του συνδρόμου πολλαπλής ενδοκρινικής νεοπλασίας 1 (MEN1: multiple endocrine neoplasia 1) (71). Τα τυπικά καρκινοειδή φέρουν χαρακτηριστικά μορφολογικά στοιχεία που παραπέμπουν σε νευροενδοκρινική διαφοροποίηση. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν γενικά μικρό μέγεθος και ομοιόμορφο σχήμα, η χρωματίνη είναι λεπτοκοκκιώδης ενώ δεν είναι υπάρχει ορατό πυρήνιο. Επίσης, παρατηρείται ικανή ποσότητα ηωσινόφιλου κυτταροπλάσματος, το οποίο διατηρεί τους πυρήνες των κυττάρων σε σταθερή μεταξύ τους απόσταση. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζονται τυπικά σε φωλεές με ποικίλα πρότυπα οργάνωσης (εικόνα 16). Τα τυπικά καρκινοειδή παρουσιάζουν λιγότερες από 2 μιτώσεις ανά

10 οπτικά πεδία και χαμηλό ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού, με το δείκτη Ki67 να κυμαίνεται σε τιμές μικρότερες του 4-5% (87). Επιπροσθέτως, δεν παρατηρείται νέκρωση του όγκου. Τέλος τα τυπικά καρκινοειδή εκφράζουν ανοσοϊστοχημικούς δείκτες νευροενδοκρινικής διαφοροποίησης όπως η συναπτοφυσίνη, η χρωμογρανίνη και το CD56.

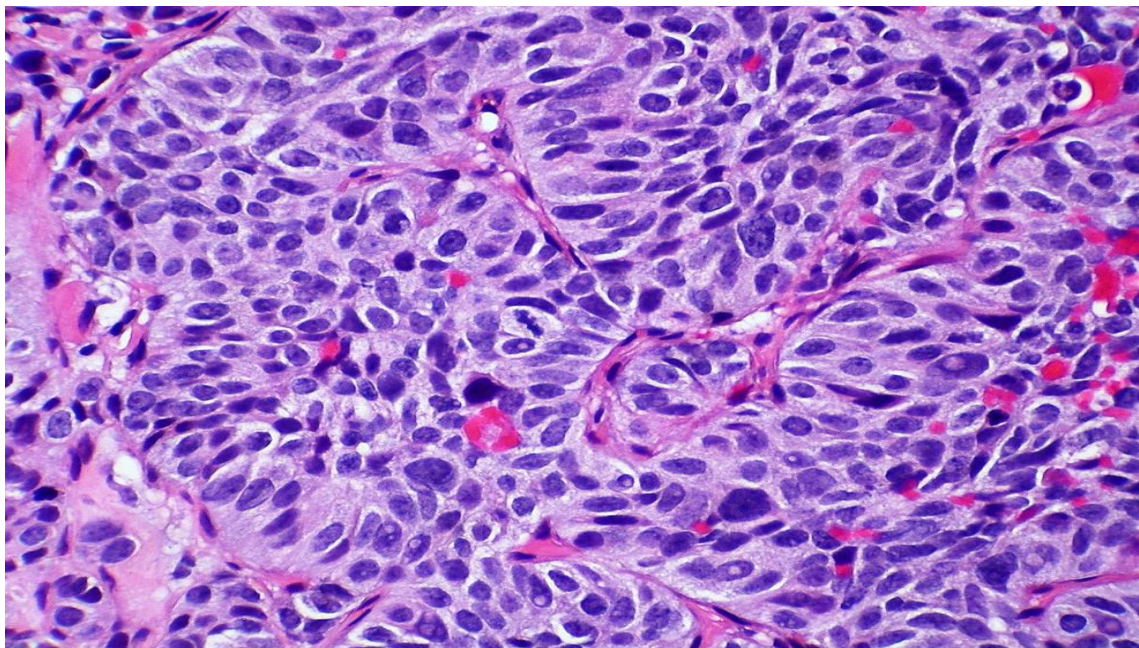


Εικόνα 16. Τυπικό καρκινοειδές, πηγή webpathology

3.2.2. Άτυπο καρκινοειδές

Όπως και το τυπικό καρκινοειδές, έτσι και το άτυπο, είναι συχνότερο σε νεότερες ηλικίες σε σχέση με τα υπόλοιπα νεοπλάσματα του πνεύμονα και παρουσιάζεται σε πρώιμο στάδιο (88). Η συσχέτισή του με το κάπνισμα είναι ισχυρότερη από το τυπικό καρκινοειδές καθώς ο επιπολασμός της καπνιστικής συνήθειας σε ασθενείς με άτυπο καρκινοειδές είναι ο διπλάσιος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Προγνωστικά είναι σημαντικά φτωχότερο σε σχέση με το τυπικό καρκινοειδές, με ποσοστό 5ετούς επιβίωσης μικρότερο του 80% (91). Το άτυπο καρκινοειδές έχει κυτταρομορφολογικά χαρακτηριστικά παρόμοια με του τυπικού, αν και τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν μεγαλύτερο βαθμό ατυπίας (εικόνα 17).

Τα καθοριστικά χαρακτηριστικά του άτυπου καρκινοειδούς που το διαχωρίζουν από το τυπικό, είναι ο ενδιάμεσος ρυθμός κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η παρουσία νεκρώσεων του όγκου, οι οποίες όμως αφορούν σε λιγότερο του 10% της επιφάνειας του νεοπλάσματος (87). Ο αριθμός μιτώσεων κυμαίνεται μεταξύ 2 και 10 ανά 2 mm² και ο δείκτης Ki67 είναι συνήθως μικρότερος από 20-25% (88).



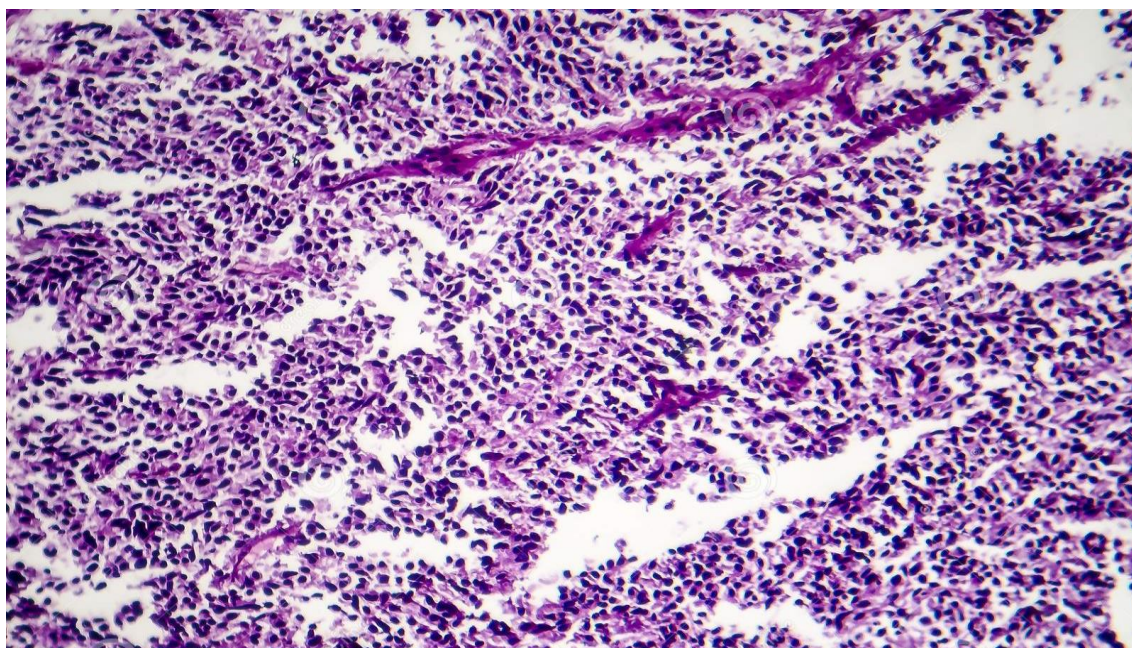
Εικόνα 17. Άτυπο καρκινοειδές, πηγή webpathology

3.2.3. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα

Το μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα αποτελεί λίγο περισσότερο από το 10% του συνόλου των καρκινωμάτων του πνεύμονα (92). Η συσχέτιση με το ιστορικό καπνίσματος είναι πολύ ισχυρή, καθώς στο σύνολο των περιπτώσεων μικροκυτταρικού καρκινώματος υπάρχει ιστορικό χρήσης προϊόντων καπνού (92). Το γεγονός ότι οι περισσότεροι ασθενείς έχουν ήδη μεταστατική νόσο κατά τη στιγμή της διάγνωσης το

καθιστά ένα εξαιρετικά επιθετικό νεόπλασμα. Η πλειοψηφία των ασθενών υποτροπιάζει μέσα στα δύο πρώτα έτη μετά τη χορήγηση συστηματικής χημειοθεραπείας, ενώ το ποσοστό διετούς επιβίωσης για ασθενείς με μεταστατική νόσο είναι κάτω από 10% (93). Η εντόπιση του όγκου είναι κεντρική, κοντά σε μεγάλο αεραγωγό, ενώ συχνή είναι η παρουσία εκτεταμένης νέκρωσης. Τα καρκινικά κύτταρα είναι ωοειδή ή ατρακτόμορφα, με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και μικρά σε μέγεθος συγκρινόμενα με τα κύτταρα των υπολοίπων νεοπλασμάτων του πνεύμονα, καθώς η διάμετρός τους είναι μικρότερη από αυτήν 3 ώριμων λεμφοκυττάρων (71). Η χρωματίνη είναι λεπτοκοκκιώδης ενώ δεν αναγνωρίζεται η παρουσία πυρηνίων. Η μιτωτική δραστηριότητα των κυττάρων αυτών είναι υψηλή, συνήθως μεγαλύτερη από 10 μιτώσεις ανά 2 mm^2 όπως υψηλός είναι και ο ρυθμός κυτταρικής απόπτωσης. Η διάγνωση τίθεται με τη μικροσκοπική παθολογοανατομική εξέταση των χρωσμένων με αιμοτοξυλίνη-ηωσίνη τομών του νεοπλάσματος (εικόνα 18). Ανοσοϊστοχημικά, τα καρκινικά κύτταρα στο μικροκυτταρικό καρκίνο, εκφράζουν πανκρατίνη και νευροενδοκρινικούς δείκτες (χρωμογρανίνη, συναπτοφυσίνη, CD56), αν και τα επίπεδα έκφρασης είναι χαμηλότερα σε σχέση με τα υπόλοιπα νευροενδοκρινή νεοπλάσματα του πνεύμονα (71). Εξαίρεση αποτελεί ο δείκτης TTF1 ο οποίος ανευρίσκεται θετικός σε ποσοστό 90% των περιπτώσεων μικροκυτταρικού καρκίνου (94). Η υψηλή έκφραση του δείκτη κυτταρικού πολλαπλασιασμού Ki67 η οποία κυμαίνεται μεταξύ 70 και 100%, αποτελεί ορόσημο του μικροκυτταρικού καρκινώματος και είναι ιδιαίτερα βοηθητική στη διαφορική διάγνωση του μικροκυτταρικού από τα υπόλοιπα νευροενδοκρινή νεοπλάσματα του πνεύμονα. Η κατηγοριοποίηση του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ. ή WHO) το 2015, διαχώρισε το μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα σε 2 υποτύπους: το γνήσιο και

το συνδυασμένο μικροκυτταρικό καρκίνωμα, με το τελευταίο να εμπεριέχει και στοιχεία ΜΜΚΠ.

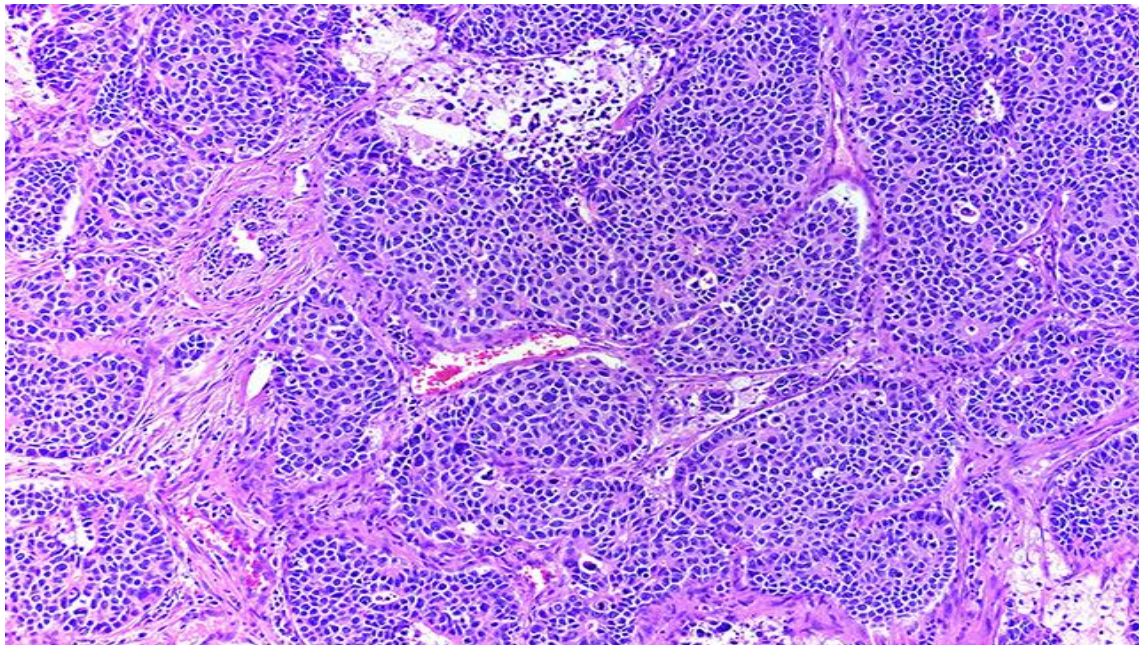


Εικόνα 18. Μικροκυτταρικό καρκίνωμα, πηγή webpathology

3.2.4. Μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα (LCNEC: Large Cell NeuroEndocrine Cancer)

Το LCNEC, όπως και το μικροκυτταρικό, σχετίζεται άμεσα με το θετικό ιστορικό καπνίσματος (92). Συνήθως εντοπίζεται στην περιφέρεια του πνεύμονα και είναι εξαιρετικά επιθετικό νεόπλασμα. Όπως καταδεικνύεται από την ονομασία του, τα καρκινικά κύτταρα είναι μεγάλου μεγέθους με άφθονο κυτταρόπλασμα (εικόνα 19). Άλλα μορφολογικά χαρακτηριστικά περιλαμβάνουν το πολυγωνικό σχήμα των κυττάρων, τη συχνή παρουσία πυρηνίου και την χαμηλή αναλογία πυρήνα-κυτταροπλάσματος (71). Αναγνωρίζεται διακριτή νευροενδοκρινική αρχιτεκτονική, που περιλαμβάνει οργανοειδή διάταξη, δοκιδώδες πρότυπο ανάπτυξης και σχηματισμό ροζετών. Όπως και τα μικροκυτταρικά καρκινώματα, τα LCNEC έχουν υψηλό μιτωτικό ρυθμό (πάνω από 10 μιτώσεις ανά 2 mm^2) και εμφανείς νεκρώσεις. Για τη

διάγνωση θα πρέπει να υπάρχει η έκφραση τουλάχιστον ενός νευροενδοκρινικού δείκτη. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι ένα ποσοστό της τάξης του 20% των ΜΜΚΠ εκφράζουν επίσης νευροενδοκρινικούς δείκτες. Για το λόγο αυτό η διάγνωση του LCNEC πρέπει να στηρίζεται στο συνδυασμό των μακροσκοπικών και ανοσοϊστοχημικών χαρακτηριστικών του νεοπλάσματος. Τέλος, τα LCNEC είναι εξαιρετικά επιθετικά νεοπλάσματα, με την πενταετή επιβίωση να υπολογίζεται στο 30% (95).



Εικόνα 19. Μεγαλοκυτταρικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα, πηγή webpathology

4. Προσυμπτωματικός έλεγχος

Η απογοητευτική πρόγνωση για τους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα οφείλεται κυρίως στο προχωρημένο στάδιο της νόσου κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Πάνω από το ήμισυ των νεοδιαγνωσθέντων ασθενών παρουσιάζονται με μεταστατική νόσο, ενώ η συνολική 5ετής επιβίωσή τους δεν ξεπερνά το 17%. Παρά τις συνεχώς αναπτυσσόμενες τεχνολογίες μοριακής ανίχνευσης και τους νέους θεραπευτικούς παράγοντες, το 90% των ασθενών που έχουν διαγνωστεί με καρκίνο του πνεύμονα θα πεθάνει από τη νόσο. Η έγκαιρη διάγνωση και η άμεση θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα σε πρώιμο στάδιο, είναι ουσιαστικής σημασίας, καθώς τα άτομα με περιορισμένη τοπικά νόσο έχουν σημαντικά βελτιωμένη 5ετή επιβίωση (5).

Η Εθνική Μελέτη Πρόληψης για τον καρκίνο του πνεύμονα (National Lung Screening Trial, NLST) ήταν μια πολυκεντρική τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη, που χρηματοδοτήθηκε από το Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου για να αξιολογήσει εάν η χρήση της αξονικής τομογραφίας χαμηλής δόσης (Low Dose CT scan, LDCT) θα μπορούσε να μειώσει τη θνησιμότητα του καρκίνου του πνεύμονα μέσω της ανίχνευσης της νόσου σε πρώιμο στάδιο, σε άτομα υψηλού κινδύνου. Η δοκιμή ξεκίνησε το 2002, με 53.456 ασθενείς οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν να υποβληθούν σε 1 εξέταση αναφοράς και 2 ετήσιες εξετάσεις LDCT ή ακτινογραφίες θώρακα. Τα άτομα που εντάχθηκαν στη μελέτη ήταν μεταξύ 55 και 74 ετών, καπνιστές με ιστορικό καπνίσματος τουλάχιστον 30 πακέτα-έτη και πρώην καπνιστές που εγκατέλειψαν τη συνήθεια τα τελευταία 15 χρόνια (96). Οι συμμετέχοντες παρακολουθούνταν σε 33 αμερικανικά κέντρα και είχαν διάμεση περίοδο παρακολούθησης 6,5 έτη (96, 97). Η εξέταση αναφοράς και οι μετέπειτα ετήσιες εξετάσεις θεωρήθηκαν θετικές για τον έλεγχο όταν γινόταν ανίχνευση μη ασβεστοποιημένων πνευμονικών

οξιδίων διαμέτρου ≥ 4 mm, αποφρακτικής ατελεκτασίας ή προ υπαρχόντων οξιδίων των οποίων αυξήθηκε το μέγεθος ή η πυκνότητα (96). Το ποσοστό συμμόρφωσης των συμμετεχόντων ήταν υψηλό και στα δύο σκέλη της μελέτης, αγγίζοντας το 90%. Η LDCT σε σχέση με την απλή ακτινογραφία θώρακα απέδωσε τριπλάσιους θετικούς ελέγχους (24.2% η LDCT , 6.9% η απλή ακτινογραφία) ενώ κατάφερε να ανιχνεύσει συνολικά περισσότερους καρκίνους του πνεύμονα (649 με LDCT και 279 με απλή ακτινογραφία). Παράλληλα η LDCT σχεδόν διπλασίασε την ανίχνευση νόσου πρώιμου σταδίου, με 50% των συνολικών όγκων σταδίου IA και IB να ανιχνεύονται με LDCT, σε σύγκριση με 31% με απλή ακτινογραφία. Το αποτέλεσμα ήταν η μείωση ανίχνευσης του απόλυτου αριθμού των προχωρημένου σταδίου καρκίνων του πνεύμονα στις ετήσιες επαναλήψεις, υποδηλώνοντας μια πραγματική μετατόπιση του σταδίου ανίχνευσης μέσω της διαλογής με LDCT (96, 98). Το σημαντικότερο ήταν ότι η NLST ήταν η πρώτη μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη που απέδειξε σημαντική μείωση του σχετικού κινδύνου θανάτου από καρκίνο του πνεύμονα κατά 20% (95% CI: 6.8-26.7, $P = 0,004$) και από κάθε άλλη αιτία κατά 6.7% (95% CI: 1.2-13.6; $P=0.02$) (99). Αυτά τα ευρήματα συνεπάγονταν ότι για την πρόληψη 1 θανάτου από καρκίνο του πνεύμονα στις Ηνωμένες Πολιτείες, χρειάζεται να πραγματοποιηθούν 320 εξετάσεις LDCT. Οι ανθρώπινες ζωές που θα σώζονταν ετησίως εκτιμήθηκε ότι θα ξεπερνούσαν τις 18.000 (99, 100).

Το 2013, η Ειδική Ομάδα Προληπτικών Υπηρεσιών των ΗΠΑ (USPSTF) ενέκρινε σύσταση βαθμού B για ετήσιο προληπτικό έλεγχο για τον καρκίνο του πνεύμονα με LDCT και εξασφάλισε την ασφαλιστική κάλυψη των πολιτών. Ταυτόχρονα αύξησε το όριο ηλικίας προληπτικού ελέγχου στα 80 έτη. Η σύσταση της USPSTF ισχύει επομένως για ενήλικες ηλικίας 55 έως 80 ετών, που έχουν ιστορικό καπνίσματος τουλάχιστον τριάντα

πακέτα-έτη, οι οποίοι είναι καπνιστές ή πρώην καπνιστές που εγκατέλειψαν τα τελευταία 15 χρόνια (101). Μετά την ανασκόπηση των δεδομένων της NLST, τα κέντρα Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS) ακολούθησαν το 2015, με την ανακοίνωση ότι οι ασυμπτωματικοί ενήλικες υψηλού κινδύνου, ηλικίας μεταξύ 55 και 77 ετών θα μπορούν να συμμετέχουν στο πρόγραμμα προληπτικού ελέγχου με LDCT εάν πληρούν τις ακόλουθες προϋποθέσεις: να είναι καπνιστές ή πρώην καπνιστές που εγκατέλειψαν τα τελευταία 15 χρόνια, με ιστορικό καπνίσματος τουλάχιστον 30 πακέτα-έτη (102). Πριν από τη διενέργεια της LDCT, το CMS απαιτεί από τους συμμετέχοντες να ενημερώνονται εκτενώς για τον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του πνεύμονα, συμπεριλαμβανομένης μιας ιατρικής επίσκεψης για να συζητηθούν πιθανές βλάβες και οφέλη, οδηγίες παρακολούθησης, πιθανή υπερευαισθησία στην εξέταση, κίνδυνος ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων και κίνδυνοι από την έκθεση στην ακτινοβολία. Οι δικαιούχοι πρέπει επίσης να ενημερώνονται για τα οφέλη και τη σημασία της διακοπής του καπνίσματος και, εάν χρειάζεται, για την παροχή πρόσθετων συμβουλευτικών υπηρεσιών για την παύση του καπνίσματος (102).

Δεδομένης της βελτίωσης της θνησιμότητας του καρκίνου του πνεύμονα με τη διενέργεια LDCT που παρατηρήθηκε στη μελέτη NLST και την ακόλουθη υποστήριξη του USPSTF και του CMS, σημειώθηκε μια ταχεία και ευρεία αύξηση στην ανάπτυξη προγραμμάτων προσυμπτωματικού ελέγχου της νόσου τα τελευταία χρόνια. Πολλές ιατρικές εταιρίες έχουν δημοσιεύσει κατευθυντήριες οδηγίες για τον προσυμπτωματικό έλεγχο της νόσου, βασιζόμενες εν μέρει σε δημογραφικά δεδομένα από τη μελέτη NLST (πίνακας 6). Ωστόσο, αρκετές επιπλέον ιατρικές εταιρίες, όπως η Αμερικανική Ένωση χειρουργικής θώρακος και το National Comprehensive Cancer Network (NCCN), υποστηρίζουν την διεύρυνση

των κριτηρίων ένταξης. Βάσει προηγούμενων μη τυχαιοποιημένων μελετών, οι εμπειρογνώμονες του NCCN υποστηρίζουν την αναθεώρηση των σημερινών κατευθυντήριων οδηγιών ελέγχου πέραν αυτών της μελέτης NLST (κατηγορία 1) ώστε να συμπεριλαμβάνονται άτομα με ελαφρώς χαμηλότερη ένταση καπνίσματος και πρόσθετους παράγοντες κινδύνου (κατηγορία 2) (103, 104).

Πίνακας 6. Σύγκριση των συστάσεων για διενέργεια LDCT από τις ιατρικές εταιρίες (102).

Ιατρική εταιρεία	Συστάσεις
• USPSTF • American Cancer Society (105) American College of Chest Physicians (ACCP) • American Society of Clinical Oncologists (ASCO) • American Thoracic Society (ATS)	Ενήλικες ηλικίας 55-80 ετών, καπνιστές με ιστορικό 30 πακέτα-έτη ή πρώην καπνιστές που διέκοψαν τα τελευταία 15 έτη
American Association of Thoracic Surgery (AATS)	Βαθμίδα 1: Ενήλικες 55-79 ετών, καπνιστές με ιστορικό ≥ 30 πακέτα-έτη Βαθμίδα 2: Επιζήσαντες από καρκίνο του πνεύμονα Ή άτομα ηλικίας ≥ 50 ετών με ιστορικό καπνίσματος ≥ 20 πακέτα-έτη ΚΑΙ επιπλέον

	κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου πνεύμονα $\geq 5\%$ στα επόμενα 5 χρόνια*
National Comprehensive Cancer Network (NCCN)	Κατηγορία 1: ή πρώην καπνιστές που διέκοψαν τα τελευταία 15 έτη Κατηγορία 2: Ηλικία ≥ 50 έτη με ιστορικό καπνίσματος ≥ 20 πακέτα-έτη ΚΑΙ ένας επιπλέον παράγοντας κινδύνου*
Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS)	Ενήλικες ηλικίας 55-74 ετών, ασυμπτωματικοί καπνιστές με ιστορικό 30 πακέτα-έτη ή πρώην καπνιστές που διέκοψαν τα τελευταία 15 έτη
* Οι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (FEV1 <70%), την περιβαλλοντική / επαγγελματική έκθεση σε καρκινογόνα, το ιστορικό καρκίνου ή ακτινοθεραπείας.	

Πολλές μελέτες προσυμπτωματικού ελέγχου για τον καρκίνο του πνεύμονα έχουν διεξαχθεί έκτοτε και στην Ευρώπη. Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της NLST, καμία από αυτές τις μελέτες δεν κατάφερε να δείξει παρόμοια μείωση της θνησιμότητας από τη νόσο (102, 106). Τα

αίτια των διαφορετικών αποτελεσμάτων είναι πιθανώς πολυπαραγοντικά και σχετίζονται με τον υποκείμενο σχεδιασμό των μελετών, το σχετικά μικρό αριθμό συμμετεχόντων ή τη σύντομη περίοδο παρακολούθησης (107). Εξαίρεση των παραπάνω αποτέλεσε η μελέτη NELSON (Nederlands-Leuvens Longkanker Screening Onderzoek), στην οποία εντάχθηκαν 15.822 συμμετέχοντες από 4 κέντρα της Ολλανδίας και του Βελγίου και τυχαιοποιήθηκαν σε 2 σκέλη. Στο πρώτο σκέλος της μελέτης οι συμμετέχοντες ($n = 7915$) θα υποβάλλονταν σε έλεγχο με LDCT 3 φορές σε διάστημα 5,5 ετών και στο δεύτερο οι συμμετέχοντες ($n = 7907$) δεν θα υποβάλλονταν σε κανενός είδους προσυμπτωματικό έλεγχο. Τα άτομα που εντάχθηκαν ήταν ενήλικες ηλικίας 50-75 ετών, καπνιστές με ιστορικό καπνίσματος 15 ή περισσότερα τσιγάρα την ημέρα για περισσότερα από 25 χρόνια ή 10 ή περισσότερα τσιγάρα την ημέρα για περισσότερο από 30 χρόνια ή είχαν σταματήσει να καπνίζουν λιγότερο από 10 χρόνια πριν. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν τα χρόνια προβλήματα υγείας, η μη ικανότητα του ατόμου να ανέβει 2 επίπεδα με σκάλες, το σωματικό βάρος 140 κιλών ή περισσότερο, το ιστορικό καρκίνου νεφρού, μελανώματος, καρκίνου του μαστού ή καρκίνου του πνεύμονα που διαγνώστηκε λιγότερο από 5 χρόνια πριν ή τέλος η διενέργεια αξονικής τομογραφίας θώρακα πριν από λιγότερο από 1 χρόνο (108).

Κατά τους 2 πρώτους κύκλους της μελέτης, οι ακτινολόγοι κατέγραψαν νέα συμπαγή οζίδια σε 787 (11%) από τους 7295 συμμετέχοντες. Σε 49 (6%) από 787 συμμετέχοντες το νέο οζίδιο διαγνώστηκε ως καρκίνος του πνεύμονα. Οι περισσότεροι καρκίνοι διαγνώστηκαν στο στάδιο I και αφορούσαν σε αδenoκαρκίνωμα, καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων και μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Το κύριο καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν μείωση της θνησιμότητας από καρκίνο του πνεύμονα κατά

26% στους άνδρες υψηλού κινδύνου στο πλαίσιο 10ετούς παρακολούθησης (109, 110).

Παρά τα ενθαρρυντικά αυτά αποτελέσματα, η υιοθέτηση πρακτικών πρώιμης ανίχνευσης του καρκίνου του πνεύμονα δεν έχει τύχει ευρείας αποδοχής σε πολλές χώρες, μεταξύ των οποίων και η Ελλάδα. Τα αίτια αφορούν κυρίως στο πρόβλημα της ασφαλιστικής κάλυψης, στα δευτερογενή έξοδα, στο υψηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων, στους κινδύνους από την έκθεση στην ακτινοβολία, στη δυσφορία των ασθενών λόγω της ανάγκης για παρατεταμένη παρακολούθηση. Επίσης θέματα επιστημονικής αντιπαράθεσης είναι ο ρόλος του προσυμπτωματικού ελέγχου της νόσου σε άτομα που έχουν διακόψει το κάπνισμα για περισσότερο από 15 έτη καθώς και η διαχείριση των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.

5. Κλινική εικόνα και διάγνωση

5.1. Κλινική εικόνα

Τα σημεία και τα συμπτώματα των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα εξαρτώνται κυρίως από τον ιστολογικό τύπο του όγκου και τον βαθμό της τοπικής διήθησης αλλά και από τον αριθμό, το μέγεθος και την εντόπιση των απομακρυσμένων μεταστάσεων. Βέβαια, ένας σημαντικός αριθμός ασθενών ανακαλύπτει την ύπαρξη της νόσου σαν τυχαίο εύρημα σε ακτινογραφία θώρακος, ενώ είναι εντελώς ασυμπτωματικοί.

Οι όγκοι που εντοπίζονται στους μεγάλους αεραγωγούς συνήθως προκαλούν επίμονο βήχα, συριγμό και αιμόπτυση (πίνακας 7). Ο βήχας είναι ένα από τα πιο συνήθη κλινικά ευρήματα, αν και η ειδικότητά του για τον καρκίνο του πνεύμονα είναι χαμηλή. Κυρίως η αλλαγή των χαρακτήρων του βήχα σε ένα καπνιστή ή πρώην καπνιστή είναι το σημείο που πρέπει να θέτει την υποψία κακοήθειας. Τυπικά οι ασθενείς με αιμόπτυση έχουν απόχρεμψη αιμόφυρτων πτυέλων, ενώ η μαζική αιμορραγία είναι σπάνια κλινική εκδήλωση. Η συνεχιζόμενη ενδοβρογχική ανάπτυξη του όγκου έχει συχνά σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση ατελεκτασίας με ή χωρίς πνευμονία. Η μείωση της αναπνευστικής λειτουργικότητας λόγω επέκτασης του όγκου μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση δύσπνοιας, η σοβαρότητα της οποίας εξαρτάται από το ποσοστό του εμπλεκόμενου αναπνευστικού παρεγχύματος και τις αναπνευστικές εφεδρίες του ασθενούς. Η δύσπνοια μπορεί να εμφανιστεί και εξαιτίας υπεζωκοτικής συλλογής, παράλυσης του ημιδιαφράγματος, πνευμονικής εμβολής ή πνευμοθώρακα (111).

Οι όγκοι που επεκτείνονται στο θωρακικό τοίχωμα ή τον υπεζωκότα τυπικά προκαλούν επίμονο διαξιφιστικό ή καυστικού τύπου άλγος με ή χωρίς υπεζωκοτική συλλογή. Η θωρακαλγία μπορεί να είναι επίσης

συνέπεια οστικών πλευριτικών μεταστάσεων, πνευμονικής εμβολής ή σπανιότερα ανάπτυξης πνευμοθώρακα (111).

Η διήθηση του οισοφάγου ή του παλίνδρομου λαρυγγικού νεύρου από τον όγκο συνήθως έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσφαγίας. Η ανάπτυξη βρογχοοισοφαγικού συριγγίου εκδηλώνεται κλινικά με βήχα κατά τις καταποτικές κινήσεις και μπορεί να καταλήξει σε πνευμονία εξ εισροφήσεως (111).

Οι καρδιαγγειακές εκδηλώσεις της νόσου οφείλονται σε διήθηση της καρδιάς, είτε λόγω μεταστάσεων είτε λόγω τοπικής επέκτασης του όγκου. Το συνηθέστερο εύρημα είναι η περικαρδιακή συλλογή που στην πλειοψηφία των περιπτώσεων είναι ασυμπτωματική. Ο καρδιακός επιπωματισμός αποτελεί μία σπάνια κλινική εκδήλωση. Αντιθέτως, το σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας που παρατηρείται λόγω πίεσης του φλεβικού δικτύου από τον όγκο, είναι αρκετά σύνηθες σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και κυρίως μικροκυτταρικό. Εκδηλώνεται κλινικά με κεφαλαλγία, δύσπνοια, βήχα και οίδημα προσώπου, ενώ στην κλινική εξέταση ανακαλύπτεται διάταση των φλεβών του τραχήλου και του πρόσθιου θωρακικού τοιχώματος.

Οι νευρολογικές εκδηλώσεις του καρκίνου του πνεύμονα εμφανίζονται όταν ο όγκος διηθήσει τη θωρακική μοίρα του αυτόνομου ή περιφερικού νευρικού συστήματος. Το σύνδρομο Horner είναι η πιο κλασική νευρολογική εκδήλωση της νόσου και οφείλεται σε διήθηση του βραχιονίου πλέγματος και του δορυφορικού γαγγλίου. Οι κλινικές εκδηλώσεις του συνδρόμου περιλαμβάνουν ετερόπλευρο ενόφθαλμο, μύση, ανιδρωσία προσώπου και βλεφαρόπτωση. Στις περισσότερες περιπτώσεις το σύνδρομο προκαλείται από καρκίνωμα που εντοπίζεται στην κορυφή του πνεύμονα κοντά στο βραχιόνιο πλέγμα (όγκος Pancoast). Ο όγκος Pancoast μπορεί επίσης να προκαλέσει παραισθησίες και

αδυναμία του άνω άκρου. Εκτός του συνδρόμου Horner, η διήθηση του παλίνδρομου λαρυγγικού νεύρου μπορεί να προκαλέσει βράγχος φωνής, ενώ η διήθηση του φρενικού νεύρου παράλυση του ημιδιαφράγματος με συνοδό μείωση του όγκου του αντίστοιχου πνεύμονα και κατ' επέκταση έντονη δύσπνοια (111).

Πίνακας 7. Συνήθη σημεία και συμπτώματα στον καρκίνο του πνεύμονα (111)

Συμπτώματα λόγω κεντρικής/ενδοβρογχικής ανάπτυξης του όγκου

- Βήχας
- Αιμόπτυση
- Συριγμός
- Δύσπνοια λόγω απόφραξης
- Πνευμονίτιδα (παρουσία πυρετού, παραγωγικού βήχα)

Συμπτώματα λόγω περιφερικής ανάπτυξης του όγκου

- Θωρακικός πόνος
- Βήχας
- Δύσπνοια λόγω περιορισμού

Συμπτώματα που σχετίζονται με την επέκταση/μεταστατική διήθηση του όγκου εντός της θωρακικής κοιλότητας

- Δύσπνοια λόγω τοπικής πίεσης της τραχείας
- Δύσπνοια λόγω παράλυσης του φρενικού νεύρου
- Δυσφαγία λόγω διήθησης οισοφάγου
- Βράγχος φωνής λόγω διήθησης παλίνδρομου λαρυγγικού νεύρου
- Σύνδρομο Horner
- Σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας
- Καρδιακή ανεπάρκεια, αρρυθμία
- Δύσπνοια με υποξαιμία λόγω λεμφαγγειίτιδας

Η πλειονότητα των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα θα εμφανίσει κάποιας μορφής κλινική συμπτωματολογία που σχετίζεται με τη νόσο. Μη

ειδικά συμπτώματα όπως καταβολή, μειωμένη δραστηριότητα, απώλεια βάρους, αναφέρονται από το 80% των ασθενών. Εκτός της συμπτωματολογίας που οφείλεται στην πρωτοπαθή νόσο στο θώρακα, υπάρχουν και συμπτώματα που σχετίζονται με την παρουσία μεταστατικής νόσου ή παρανεοπλασματικών συνδρόμων. Τα συμπτώματα λόγω των εξωθωρακικών μεταστάσεων περιλαμβάνουν νευρολογική σημειολογία (κεφαλαλγία, σπασμοί, έμετοι, ημιπάρεση, διαταραχές οπτικών πεδίων) λόγω διήθησης του κεντρικού νευρικού συστήματος, οστικά άλγη και παθολογικά κατάγματα λόγω οστικών μεταστάσεων, ανορεξία και επιγαστραλγία λόγω διήθησης του ήπατος και σπάνια επινεφριδιακή ανεπάρκεια λόγω συμμετοχής των επινεφριδίων.

Οι παρανεοπλασματικές εκδηλώσεις που παρατηρούνται στον καρκίνο του πνεύμονα αφορούν στο 20% περίπου των ασθενών ενώ η εμφάνιση τους δε σχετίζεται με το στάδιο της νόσου. Οι κυριότερες εκδηλώσεις είναι οι ακόλουθες, ενώ στο σύνολό τους καταγράφονται στον [πίνακα 8](#):

Σύνδρομο απρόσφορης έκκρισης αντιδιουρητικής ορμόνης (SIADH): Εκδηλώνεται στο 10-45% των ασθενών με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Το σύνδρομο οφείλεται στην απρόσφορη έκκριση από τα κύτταρα του όγκου της ορμόνης αργινίνη-βαζοπρεσσίνη καθώς και κοιλιακού νατριουρητικού πεπτιδίου. Η διάγνωση τίθεται με την ανεύρεση υπονατριαιμίας και υπερνατριουρίας καθώς και μειωμένης ωσμωτικής πίεσης ορού και αυξημένης ούρων. Για τη διάγνωση του συνδρόμου πρέπει να αποκλειστεί νεφρική, επινεφριδιακή ή θυρεοειδική παθολογία. Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει ανορεξία, ναυτία, έμετο και νευρολογικές εκδηλώσεις όπως διέγερση, σύγχυση, ευερεθιστότητα, σπασμούς, λήθαργο, κώμα (112).

Σύνδρομο Cushing: οφείλεται στην έκτοπη παραγωγή αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης (ACTH) ή ορμόνη εκλύουσας την

κορτικοτροπίνη (CRH), με αποτέλεσμα την υπερέκκριση γλυκοκορτικοειδών και μεταλλοκορτικοειδών από τα επινεφρίδια. Οι ασθενείς εμφανίζουν οίδημα ανά σάρκα, υπέρταση, υπεργλυκαιμία, μυϊκή αδυναμία και υποκαλιαιμία. Η διάγνωση τίθεται με την ανεύρεση υψηλής τιμής ελεύθερης κορτιζόλης στα ούρα 24ώρου (112).

Υπερασβεστιαιμία: οφείλεται στην παρουσία οστικών μεταστάσεων ή στην έκκριση από τα κύτταρα του όγκου μίας πρωτεΐνης που ομοιάζει με την παραθορμόνη (PTH). Τα συμπτώματα εξαρτώνται από τη βαρύτητα της υπερασβεστιαιμίας και περιλαμβάνουν αταξία, αδυναμία, λήθαργο, υπέρταση, νεφρική ανεπάρκεια, βραδυκαρδία, ναυτία, πολυουρία/πολυδιψία. Αποτελεί εξαιρετικά δυσμενές προγνωστικό σημείο (53).

Μυοσκελετικές εκδηλώσεις: Η πληκτροδακτυλία χαρακτηρίζεται από αύξηση του συνδετικού ιστού στις τελικές φάλαγγες των άνω και κάτω άκρων. Κλινικά παρατηρούνται διόγκωση των άκρων των δακτύλων, αποστρογγύλωση των ονύχων και άμβλυνση της γωνίας μεταξύ της βάσης της ονυχοφόρου κοίτης και της επιδερμίδας (53).

Πίνακας 8. Παρανεοπλασματικά σύνδρομα σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα (Cancer 9th edition, DeVita, Hellman and Rosenbeg's)

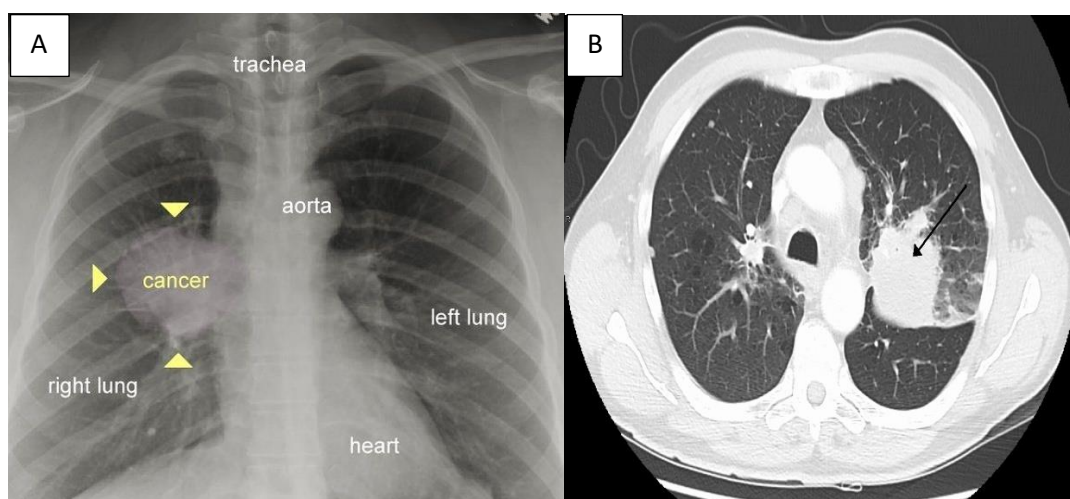
Ενδοκρινικά:	Νευρολογικά:
• Υπερκαλιαιμία • Σύνδρομο Cushing • Σύνδρομο απρόσφορης έκκρισης αντιδιουρητικής ορμόνης (SIADH) • Καρκινοειδές σύνδρομο • Γυναικομαστία	• Εγκεφαλοπάθεια • Υποξεία αισθητική νευροπάθεια • Πολλαπλή μονονευρίτιδα • Περιφερική νευροπάθεια • Πολυμυοσίτιδα • Αυτόνομη νευροπάθεια

• Υπερασβεστιαμία • Αυξημένα επίπεδα αυξητικής ορμόνης • Αυξημένα επίπεδα προλακτίνης • Υπογλυκαιμία • Υπερθυρεοειδισμός	• Σύνδρομο Lambert Eaton • Οπτική νευρίτιδα • Προοδευτική λευκοεγκεφαλοπάθεια
Σκελετικά: • Πληκτροδακτυλία • Υπερτροφική οστεοαρθροπάθεια	Αιματολογικά: • Αναιμία • Λευχαιμοειδής αντίδραση • Θρομβοκυττάρωση • Θρομβοπενία • Ηωσινοφιλία • Απλασία της ερυθράς σειράς • Λευκοερυθροβλάστωση
Δερματολογικά: • Υπερκεράτωση • Δερματομυοσίτιδα • Νεγρική ακάνθωση • Υπερτρίχωση • Ουρτικάρια • Ερυθροδερμία	Άλλα: • Νεφριτιδικό σύνδρομο • Υπερουριχαιμία • Υπεραμυλασαιμία • Ανορεξία/καχεξία • Διάχυτη ενδαγγειακή πήξη • Φλεβοθρόμβωση

5.2. Διάγνωση

Όταν η κλινική εικόνα ενός ασθενούς θέτει την υποψία καρκίνου του πνεύμονα πρέπει να γίνει άμεσα επιβεβαίωση της διάγνωσης και σταδιοποίηση της νόσου. Η τεκμηρίωση της ύπαρξης καρκίνου του πνεύμονα βασίζεται στα ευρήματα του ακτινολογικού ελέγχου και κυρίως στην ιστολογική εξέταση από δείγμα βιοψίας, κυτταρολογικό υλικό ή από χειρουργικό παρασκεύασμα.

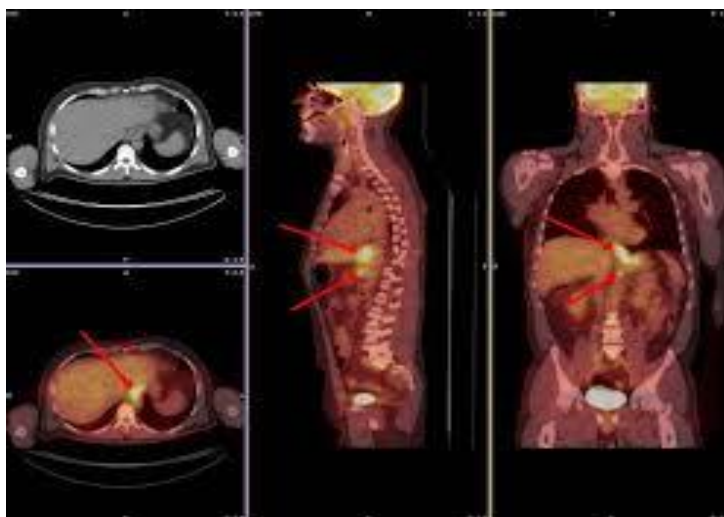
Η ανεύρεση πνευμονικής μάζας στη συμβατική ακτινογραφία θώρακος αποτελεί έναν από τους συνηθέστερους τρόπους ανίχνευσης της νόσου (εικόνα 20Α). Η αξονική τομογραφία θώρακος και άνω κοιλίας με χορήγηση σκιαγραφικού μέσου υπερέχει ξεκάθαρα της απλής ακτινογραφίας θώρακα για τη σταδιοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα, προσφέροντας πληροφορίες για την τοπική επέκταση του πρωτοπαθούς όγκου (εικόνα 20Β), την παρουσία υπεζωκοτικής συλλογής και τη πιθανή διήθηση των λεμφαδένων (113).



Εικόνα 20. Απεικόνιση καρκίνου του πνεύμονα Α) με απλή ακτινογραφία, Β) με αξονική τομογραφία

Η μαγνητική τομογραφία (MRI) υπερέχει της αξονικής στην ανεύρεση μεταστατικών εστιών στον εγκέφαλο, και στη διαφορική διάγνωση της μεταστατικής εστίας από το αδένωμα στα επινεφρίδια. Επίσης, η MRI στη σπονδυλική στήλη ενδείκνυται σε ασθενείς με υποψία επισκληρίδιων μεταστάσεων στο νωτιαίο σωλήνα ή πιθανό καρκίνο του πνεύμονα με συνοδό ραχιαλγία ή προσβολή του βραχιόνιου πλέγματος (114).

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων (PET) με 18-φθόριο- δεοξυγλυκόζη (F-18 FDG) είναι μία καθιερωμένη μέθοδος που χρησιμοποιείται ευρέως τα τελευταία χρόνια για τη διάγνωση και σταδιοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα. Βασίζεται στη διαφορά της πρόσληψης ραδιοσημασμένης γλυκόζης από το νεοπλασματικό ιστό σε σχέση με το φυσιολογικό. Χρησιμοποιείται επίσης στην εκ νέου σταδιοποίηση της νόσου μετά από θεραπεία (εικόνα 21). Ψευδώς θετικά αποτελέσματα μπορεί να υπάρξουν σε παρουσία λοίμωξης, φλεγμονής ή μετά από χημειο/ακτινοθεραπεία, ενώ ψευδώς αρνητικά προκύπτουν συνήθως σε καλά διαφοροποιημένα αδеноκαρκινώματα (113).



Εικόνα 21. Απεικόνιση καρκίνου του πνεύμονα σε CT και PET scan

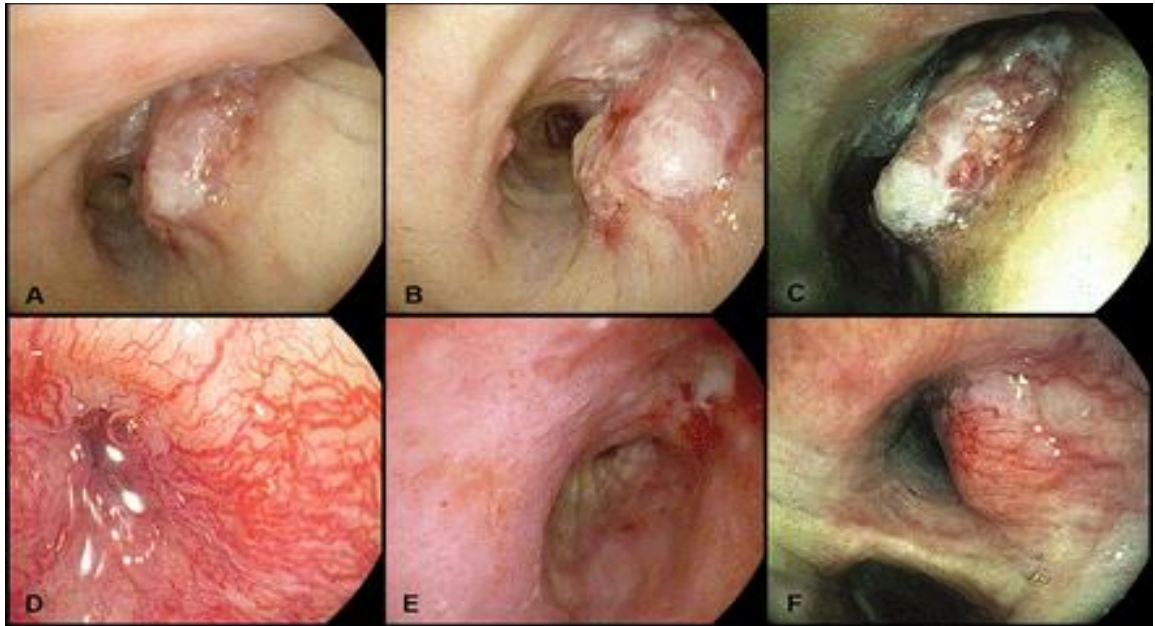
Η κυτταρολογική εξέταση πτυέλων αποτελεί μία γρήγορη και οικονομική διαγνωστική μέθοδο του καρκίνου του πνεύμονα. Ενώ στο παρελθόν ήταν πάγια εξέταση, σήμερα έχει αντικατασταθεί από τη βρογχοσκόπηση με εύκαμπτο ενδοσκόπιο. Οι περισσότερες μελέτες αναφέρουν διαγνωστική

ευαισθησία περίπου 65% της μεθόδου για τα καρκινώματα κεντρικής εντόπισης και μόνο 15-20% για τα περιφερικής εντόπισης.

Η διαδερμική βιοψία πνεύμονα υπό αξονικό τομογράφο είναι μία ακριβής, ελάχιστα επεμβατική μέθοδος που μπορεί να οδηγήσει με ασφάλεια στην τελική διάγνωση. Ενδείκνυται για την ιστολογική διάγνωση μιας περιφερικής βλάβης (πρωτοπαθούς ή δευτεροπαθούς) και την επιβεβαίωση μεταστατικών αλλοιώσεων. Η διαγνωστική ακρίβεια της μεθόδου εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος της αλλοίωσης, με την αύξηση του μεγέθους να αυξάνει την ακρίβεια, και την απόσταση της βλάβης από το σημείο εισόδου. Συγκεκριμένα για απόσταση >4 cm, η διαφορά είναι στατιστικά σημαντική. Ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα οφείλονται σε διάφορους παράγοντες όπως η αδυναμία συνεργασίας με τον ασθενή, η παρουσία υπερκείμενης οστικής δομής και η λήψη νεκρωτικού πνευμονικού ιστού (115).

Η βρογχοσκόπηση με εύκαμπτο βρογχοσκόπιο αποτελεί τη σημαντικότερη εξέταση για τη λήψη κυτταρολογικού και ιστολογικού υλικού για τη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για κεντρικούς ενδοβρογχικούς όγκους (εικόνα 22). Κατά τη διάρκεια της εξέτασης λαμβάνονται βρογχικά εκπλύματα (washing) και ιστολογικά δείγματα με λαβίδα βιοψίας, κυτταρολογική βούρτσα (brushing) και κυτταρολογική βελόνη (TBNA/B). Η διαγνωστική ευαισθησία της μεθόδου που προκύπτει όταν συνδυαστούν όλες οι τεχνικές λήψης, φτάνει το 88% όταν πρόκειται για κεντρική βλάβη. Τα τελευταία χρόνια η ανάπτυξη πιο εξελιγμένων βρογχοσκοπίων που συνδυάζουν τη χρήση ενδοβρογχικού υπερήχου κατά τη διάρκεια της εξέτασης (EBUS), βελτίωσε σημαντικά τη διαγνωστική ευαισθησία της μεθόδου (116). Η χρήση των υπερήχων καθιστά πλέον εφικτή τη λήψη υλικού από πυλαίους και μεσοθωρακικούς λεμφαδένες, επιτυγχάνοντας την ταυτόχρονη

διάγνωση και σταδιοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα (116). Η εξέλιξη των βρογχοσκοπίων και η τεχνική EBUS, έχουν περιορίσει σημαντικά την χρήση των παλαιότερων μεθόδων της μεσοθωρακοσκόπησης και της θωρακοτομής για τη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα.



Εικόνα 22. Ανάδειξη πλακώδους καρκινώματος του πνεύμονα κατά τη διενέργεια βρογχοσκόπησης (117).

6. Σταδιοποίηση

Η κατάταξη των όγκων βάσει του σταδίου αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο για την παροχή φροντίδας στους ογκολογικούς ασθενείς, έχοντας σημαντικό αντίκτυπο τόσο στην πρόγνωση όσο και στην επιλογή θεραπευτικής στρατηγικής. Η θεμελιώδης δομή της σταδιοποίησης είναι το σύστημα TNM: ο παράγοντας T αναφέρεται στα χαρακτηριστικά του πρωτεύοντος όγκου, ο N στη συμμετοχή των λεμφαδένων και ο M στις απομακρυσμένες μεταστάσεις. Τα όργανα που αποφασίζουν επίσημα σχετικά με τους ορισμούς των κατηγοριών T, N και M είναι η Αμερικανική Κοινή Επιτροπή για τον Καρκίνο (American Joint Commission on Cancer, AJCC) στις Ηνωμένες Πολιτείες και η Διεθνής Ένωση για τον Καρκίνο (Union for International Cancer Control, UICC) (118).

Το 2015, η πρόταση για νέα ταξινόμηση του αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα έγινε δεκτή από την Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, ενώ ένα χρόνο αργότερα δημοσιεύθηκε η 8^η έκδοση της ταξινόμησης των όγκων, των λεμφαδένων και των μεταστάσεων (TNM) από κοινού από την Διεθνή Ένωση για τον Καρκίνο (UICC), την Αμερικανική Μεικτή Επιτροπή για τον Καρκίνο (American Joint Committee on Cancer - AJCC) και την Διεθνή Ένωση για τη Μελέτη του Καρκίνου του Πνεύμονα (International Association for the Study of Lung Cancer - IASLC) (119). Σύμφωνα με τη νέα έκδοση, οι όγκοι κατηγοριοποιούνται με βάση το μέγεθος τους, εισάγονται οι έννοιες του αδενοκαρκινώματος *in situ* (Adenocarcinoma *in situ*, AIS) και του ελάχιστα διηθητικού αδενοκαρκινώματος (Minimal Invasive Adenocarcinoma, MIA) και γίνεται σύσταση για τον τρόπο μέτρησης του μεγέθους του όγκου (119). Επιπροσθέτως γίνεται επαναταξινόμηση ορισμένων κατηγοριών του παράγοντα T, αλλάζει ο τρόπος εκτίμησης των λεμφαδενικών μεταστάσεων και η

υποκατηγοριοποίηση των εξωθωρακικών μεταστάσεων, ενώ γίνεται αναδιάταξη κάποιων υποομάδων (119).

Το μέγεθος του όγκου αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους προγνωστικούς παράγοντες για τους ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Στην 8^η έκδοση της ταξινόμησης TNM, αποδείχθηκε πιο σημαντικός σε σχέση με τις προηγούμενες εκδόσεις, καθώς μπορεί να διαχωρίσει τους όγκους σε κατηγορίες με σημαντικά διαφορετική επιβίωση με βάση διαφορά μεγέθους της τάξης του 1 cm (119). Η αξονική τομογραφία παραμένει η καλύτερη διαγνωστική μέθοδος για την εκτίμηση του μεγέθους του όγκου αλλά και της διήθησης των μεγάλων αγγείων. Ο διαθωρακικός υπέρηχος και η μαγνητική τομογραφία προσφέρουν καλύτερα αποτελέσματα στην εκτίμηση της διήθησης των δομών του θωρακικού τοιχώματος. Μάλιστα, στην προεγχειρητική σταδιοποίηση των όγκων Pancoast, η μαγνητική τομογραφία έδειξε καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με την αξονική (119).

Το 2009, το IASLC πρότεινε ένα νέο χάρτη λεμφαδένων, ομαδοποιημένων σε ζώνες και σταθμούς που πρέπει να εξεταστούν προσεκτικά κατά τη σταδιοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα. Μια έρευνα από τους El-Sherief et al (120) κατέδειξε ότι η χρήση του συγκεκριμένου χάρτη λεμφαδένων ενδέχεται να οδηγήσει σε εσφαλμένη ταξινόμηση και μη σωστή διαχείριση του καρκίνου του πνεύμονα σε ορισμένους ασθενείς. Κλασικά, οι λεμφαδένες που απεικονίζονται στην αξονική τομογραφία με διάμετρο άνω των 10 mm θεωρούνται παθολογικοί. Στη διάγνωση της συμμετοχής των λεμφαδένων, οι Shim et al (114) κατέδειξαν ευαισθησία 0,70 για την αξονική τομογραφία και 0,85 για το PET-CT scan. Επιπλέον, οι Prenzel et al (121) έδειξαν ότι το 77% των ασθενών χωρίς λεμφαδενική συμμετοχή είχαν λεμφαδένες με διάμετρο μεγαλύτερη από 1 cm και ότι 12% των ασθενών με όγκους N1 ή N2 δεν παρουσίασαν κανένα

λεμφαδένα με διάμετρο > 1 cm. Το PET-CT scan παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με την εφαρμογή μόνο αξονικής τομογραφίας ή μόνο PET scan στη διάγνωση της λεμφαδενικής διήθησης. Τέλος, η ευαισθησία του PET-CT σχετίζεται με το μέγεθος των λεμφαδένων, με ευαισθησία 0,85 για διάμετρο μεγαλύτερη ή ίση με 10 mm, αλλά μόνο 0,32 για διάμετρο μικρότερη από 10 mm (119).

Οι μεταστάσεις του καρκίνου του πνεύμονα μπορεί να είναι ενδο- ή εξωθωρακικές και μπορούν να αναγνωριστούν με την αξονική τομογραφία. Η 8^η έκδοση της ταξινόμησης TNM παρέχει συστάσεις για τον τρόπο διαφοροποίησης των ξεχωριστών οζιδίων του όγκου από τα πολυεστιακά αδеноκαρκινώματα. Η μεταστατική διήθηση του υπεζωκότα μπορεί να ταυτοποιηθεί τόσο με αξονική τομογραφία όσο και με PET-CT scan, ενώ οι εξωθωρακικές μεταστάσεις, όπως οι επινεφριδιακές, μπορούν να απεικονιστούν εύκολα με PET- CT scan χωρίς να απαιτούνται άλλες τεχνικές. Όσον αφορά τη διάγνωση μεταστατικών εστιών στον εγκέφαλο, η μαγνητική τομογραφία παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα συγκριτικά με την αξονική (119).

Η 8^η έκδοση της ταξινόμησης TNM για τον καρκίνο του πνεύμονα εισάγει νέα δεδομένα στην κατηγοριοποίηση των όγκων τα οποία συνοψίζονται ως εξής:

- Το μέγεθος του όγκου αντανakλά τη μέγιστη διάσταση της συμπαγούς μοίρας αυτού, όπως αυτή καθορίζεται κλινικά με την αξονική τομογραφία ή παθολογοανατομικά
- Το μέγεθος του όγκου υποδιαιρείται σε κατηγορίες με βάση το όριο του 1 cm (για όγκους μεγέθους έως 5 cm)
- Όγκοι με μέγεθος >5 cm και ≤ 7 cm ταξινομούνται πλέον ως T3
- Όγκοι με μέγεθος >7 cm ταξινομούνται πλέον ως T4

- Όγκοι που περιλαμβάνουν κύριο βρόγχο ή προκαλούν ατελεκτασία πνεύμονα ή αποφρακτική πνευμονίτιδα ταξινομούνται ως T2 ανεξάρτητα από την απόσταση τους από την τρόπιδα της τραχείας ή από το αν προκαλούν μερική ή πλήρη ατελεκτασία πνευμόνων
- Όγκοι που εμπλέκουν το διάφραγμα ταξινομούνται ως T4
- Όγκοι που εμπλέκουν μονήρη απομακρυσμένη (εξωθωρακική) μετάσταση ταξινομούνται ως M1b
- Όγκοι που εμπλέκουν πολλαπλές απομακρυσμένες (εξωθωρακικές) μεταστάσεις ταξινομούνται ως M1c (118)

Η σταδιοποίηση και ταξινόμηση των όγκων σύμφωνα με την 8^η έκδοση της ταξινόμησης TNM παρατίθεται στους [πίνακες 9 και 10](#).

Πίνακας 9. Σταδιοποίηση του καρκίνου του πνεύμονα με βάση την 8^η έκδοση ταξινόμησης TNM (118)

T/M	Subcategory	N0	N1	N2	N3
T1	T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB
	T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB
	T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB
T2	T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1	M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

Πίνακας 10. 8^η έκδοση ταξινόμησης TNM (118)

T – Primary Tumour		
Tx		Primary tumour cannot be assessed
T0		No evidence of primary tumour
T1		Tumour 3 cm or less in greatest diameter surrounded by lung or visceral pleura, without evidence of main bronchus
	T1a(mi)	Minimally invasive adenocarcinoma
	T1a	Tumour 1 cm or less in greatest diameter
	T1b	Tumour more than 1 cm but not more than 2 cm
	T1c	Tumour more than 2 cm but not more than 3 cm
T2		Tumour more than 3 cm but not more than 5 cm; or tumour with any of the following features: Involves main bronchus (without involving the carina), invades visceral pleura, associated with atelectasis or obstructive pneumonitis that extends to the hilar region
	T2a	Tumour more than 3 cm but not more than 4 cm
	T2b	Tumour more than 4 cm but not more than 5 cm
T3		Tumour more than 5 cm but not more than 7 cm or one that directly invades any of the following: chest wall, phrenic nerve, parietal pericardium, or associated separate tumour nodule(s) in the same lobe as the primary
T4		Tumours more than 7 cm or one that invades any of the following: diaphragm, mediastinum, heart, great vessels, trachea, recurrent laryngeal nerve, oesophagus, vertebral body, carina; separate tumour nodule(s) in a different ipsilateral lobe to that of the primary

N – Regional Lymph Nodes		
Nx		Regional lymph nodes cannot be assessed
N0		No regional lymph node metastasis
N1		Metastasis in ipsilateral peribronchial and/or ipsilateral hilar lymph nodes and intrapulmonary nodes, including involvement by direct extension
N2		Metastasis in ipsilateral mediastinal and/or subcarinal lymph node(s)
N3		Metastasis in contralateral mediastinal, contralateral hilar, ipsilateral or contralateral scalene or supraclavicular lymph node(s)

M – Distant Metastasis		
M0		No distant metastasis
M1		Distant metastasis
	M1a	Separate tumour nodule(s) in a contralateral lobe; tumour with pleural or pericardial nodules or malignant pleural or pericardial effusion
	M1b	Single extrathoracic metastasis in a single organ
	M1c	Multiple extrathoracic metastases in one or several organs

7. Θεραπευτική αντιμετώπιση

Η θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών με ΜΜΚΠ εξαρτάται άμεσα από το στάδιο της νόσου κατά τη στιγμή της διάγνωσης. Οι ασθενείς με νόσο σταδίου I ή II θα πρέπει να υποβάλλονται σε χειρουργική εκτομή του όγκου, εφόσον αυτή δεν αντενδείκνυται. Οι μη χειρουργήσιμοι ασθενείς θα πρέπει να είναι υποψήφιοι για συμβατική ή στερεοτακτική ακτινοθεραπεία. Οι διαδικασίες διαδερμικής θερμικής αφαίρεσης και η αφαίρεση με τη χρήση ραδιοσυχνοτήτων έχουν βρεθεί ότι είναι χρήσιμες θεραπευτικές επιλογές σαν θεραπεία διάσωσης μετά από χειρουργική επέμβαση, ακτινοθεραπεία ή χημειοθεραπεία ή σαν παρηγορητική θεραπεία.

7.1. Χειρουργική αντιμετώπιση

Η χειρουργική προσέγγιση του ασθενούς με ΜΜΚΠ περιλαμβάνει εκτός από την κλασσική λοβεκτομή, η οποία θεωρείται η επέμβαση εκλογής για ασθενείς αρχικού σταδίου, τη σφηνοειδή εκτομή, την τμηματεκτομή, τη διλοβεκτομή, τη λοβεκτομή με βρογχοπλαστική και την πνευμονεκτομή (κλασσική, ενδοπερικαρδιακή, συμπληρωματική/completion ή δίκην περιχειρίδος/sleeve). Οι πνευμονεκτομές που δεν ξεπερνούν τον ένα λοβό δεν έχουν σαν αποτέλεσμα περιορισμένη πνευμονική λειτουργία ή ικανότητα του ασθενούς προς άσκηση. Τα τελευταία χρόνια η εφαρμογή της ενδοσκοπικής θωρακοχειρουργικής με τη χρήση βιντεοκάμερας (VATS) είχε σαν αποτέλεσμα λιγότερες μετεγχειρητικές επιπλοκές και μικρότερο χρόνο νοσηλείας. Οι προϋποθέσεις για την εφαρμογή της μεθόδου VATS αφορούν στο κλινικό στάδιο (I και II), στη διάμετρο του όγκου (<4cm) και στη θέση του όγκου (αποκλείονται οι όγκοι που επεκτείνονται στο θωρακικό τοίχωμα). Απόλυτη αντένδειξη αποτελεί η

χορήγηση εισαγωγικής χημειοθεραπείας για νόσο N2 και σχετική η προηγηθείσα θωρακοτομή.

Η εγχειρησιμότητα του όγκου καθώς και το είδος της επέμβασης που θα εφαρμοστεί καθορίζονται κυρίως από το στάδιο της νόσου, τις πνευμονικές και καρδιαγγειακές εφεδρείες καθώς και από τη γενική κατάσταση του ασθενούς. Γενικά ασθενείς σταδίου IA-IIIB πρέπει θεωρούνται υποψήφιοι για χειρουργική εξαίρεση εκτός αν υπάρχουν απόλυτες αντενδείξεις. Ασθενείς με στάδιο νόσου III μπορούν να υποβληθούν σε χειρουργική εξαίρεση, η οποία θα πρέπει να συνοδεύεται από επικουρική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία για το στάδιο N1 και νεοεπικουρική χημειοθεραπεία με ή χωρίς ακτινοθεραπεία για το στάδιο N2. Η σπιρομέτρηση και η δοκιμασία κόπωσης (εργομετρία, εργοσπιρομετρία) αποτελούν χρήσιμες προεγχειρητικές εξετάσεις από τις οποίες λαμβάνονται σημαντικές πληροφορίες για τις πνευμονικές εφεδρείες του ασθενούς. Παράλληλα ο καρδιολογικός έλεγχος θα πρέπει τουλάχιστον να περιλαμβάνει ηλεκτροκαρδιογράφημα, υπερηχογράφημα καρδιάς και δοκιμασία κοπώσεως. Τέλος για τη γενικότερη κατάσταση του ασθενούς χρησιμοποιούνται οι κλίμακες Karnofski και ECOG.

7.2. Ακτινοθεραπεία

Η ριζική ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται σε ασθενείς σταδίου I-II, οι οποίοι δεν μπορούν να υποβληθούν σε χειρουργική εξαίρεση του όγκου λόγω συμπαρομαρτούντων νοσημάτων και σε ασθενείς σταδίου III, σε συνδυασμό με τη χορήγηση χημειοθεραπείας. Η παρηγορητική ακτινοθεραπεία εφαρμόζεται με στόχο την ανακούφιση συμπτωμάτων, όπως ο επίμονος βήχας, η αιμόπτυση, το θωρακικό άλγος και η δύσπνοια, προσφέροντας ανακούφιση σε ποσοστό 60-70% των ασθενών.

Τα τελευταία χρόνια η εφαρμογή της ρομποτικής στερεοτακτικής ακτινοχειρουργικής με Cyberknife (στοχευμένη χορήγηση μεγάλων δόσεων ακτινοβολίας με φωτόνια από γραμμικό επιταχυντή) αποτελεί μία θεραπευτική επιλογή με πολύ καλά αποτελέσματα σε ασθενείς αρχικών σταδίων, που δεν θεωρούνται εγχειρήσιμοι, αλλά και σε περιπτώσεις ασθενών με υποτροπή της νόσου μετά από ακτινοθεραπεία.

7.3. Συστηματική χημειοθεραπεία

Νεοεπικουρική Χημειοθεραπεία (Neoadjuvant)

Τα δυνητικά πλεονεκτήματα της νεοεπικουρικής χημειοθεραπείας περιλαμβάνουν την έγκαιρη αντιμετώπιση των μικρομεταστάσεων, τη μείωση του μεγέθους του όγκου, η οποία μπορεί να επιτρέψει την πλήρη εκτομή του και την καλύτερη ανεκτικότητα από τον ασθενή σε σύγκριση με την επικουρική χημειοθεραπεία (122). Μια μεγάλη γαλλική μελέτη που συνέκρινε την νεοεπικουρική χημειοθεραπεία με μιτομυκίνη, ιφωσφαμίδη και σισπλατίνη, σε συνδυασμό με χειρουργική εξαίρεση έναντι χειρουργικής εξαίρεσης μόνο, δεν ανέφερε κάποιο όφελος επιβίωσης στην ομάδα ασθενών που είχαν λάβει νεοεπικουρική θεραπεία. Στην ίδια μελέτη, η ανάλυση υποομάδων ανέδειξε όφελος επιβίωσης για τους ασθενείς με νόσο NO και N1, αλλά όχι για αυτούς με N2 (123). Μία επιπλέον μελέτη που συνέκρινε ασθενείς σταδίου IB / IIIA που υποβλήθηκαν μόνο σε χειρουργική εξαίρεση με αυτούς που έλαβαν επιπλέον νεοεπικουρική χημειοθεραπεία με σισπλατίνη και γεμισιταμπίνη, ανέδειξε μια στατιστικά σημαντική βελτίωση στην επιβίωση στην ομάδα της νεοεπικουρικής χημειοθεραπείας. Ωστόσο, σήμερα, ο ρόλος της νεοεπικουρικής χημειοθεραπείας δεν είναι σαφής καθώς δεν υπάρχουν

μελέτες που να αποδεικνύουν ξεκάθαρα ότι προσφέρει σαφές όφελος επιβίωσης.

Επικουρική χημειοθεραπεία (Adjuvant)

Το σκεπτικό χορήγησης επικουρικής χημειοθεραπείας σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα πρώιμου σταδίου, βασίζεται στις παρατηρήσεις ότι η εμφάνιση απομακρυσμένων μεταστάσεων, ακόμα και μετά από μία επιτυχή χειρουργική εξαίρεση του όγκου, είναι ιδιαίτερα συνηθισμένη. Η επικουρική χημειοθεραπεία βασίζεται στο συνδυασμό χημειοθεραπευτικών παραγόντων μαζί με σισπλατίνη και ενδείκνυται σε ασθενείς με νόσο σταδίου II και IIIA μετά από χειρουργική εκτομή. Σε μια συγκεντρωτική ανάλυση 5 κλινικών μελετών με αντικείμενο την επικουρική χημειοθεραπεία, υπήρξε όφελος πενταετούς επιβίωσης 5,4% (124). Άλλες μελέτες ανέφεραν επίσης όφελος επιβίωσης από την επικουρική χημειοθεραπεία, ειδικά για ασθενείς με μεγάλου μεγέθους όγκους (> 4 cm), με νόσο σταδίου II και μετά από πλήρη χειρουργική εκτομή σε ασθενείς με νόσο σταδίου IIIA (124).

7.4. Αντιμετώπιση ολιγομεταστατικής νόσου

Η ολιγομεταστατική νόσος συνεπάγεται περιορισμένες σε αριθμό μεταστατικές εστίες που επηρεάζουν 1 ή 2 συστήματα και οι οποίες μπορούν να αντιμετωπιστούν με τοπική θεραπεία (χειρουργική επέμβαση ή ακτινοβολία) σε συνδυασμό με τον πρωτοπαθή όγκο. Οι θεραπευτικές επιλογές εξαρτώνται από τα όργανα που έχουν προσβληθεί. Οι μεμονωμένες εγκεφαλικές μεταστάσεις συνήθως αντιμετωπίζονται με χειρουργική εκτομή ή με στερεοτακτική χειρουργική με ραδιοσυχνότητες. Στην περίπτωση της μεταστατικής διήθησης των επινεφριδίων, οι εστίες μπορούν να αντιμετωπιστούν μέσω της συστηματικής χημειοθεραπείας σε

ασθενείς που ανταποκρίνονται σε αυτήν. Σε μια αναδρομική μελέτη στις ΗΠΑ με 37 περιπτώσεις διήθησης των επινεφριδίων, αναφέρθηκε 5ετής επιβίωση 34% με επινεφριδεκτομή στις περιπτώσεις μίας μόνο δευτερογενούς αλλοίωσης (125).

Τα πρόσφατα δεδομένα έχουν ενισχύσει το ρόλο της ακτινοθεραπείας στη θεραπεία του ολιγομεταστατικού ΜΜΚΠ. Ασθενείς με λιγότερες από 3 μεταστατικές εστίες και σταθερή νόσο με χορήγηση συστηματικής θεραπείας είχαν βελτιωμένη περίοδο χωρίς εξέλιξη νόσου (progression free disease, PFS) και ολική επιβίωση (41,2 και 17,0 μήνες αντίστοιχα) με το συνδυασμό ακτινοθεραπείας στις μεταστατικές εστίες και χημειοθεραπείας, συγκριτικά με τη συστηματική χημειοθεραπεία μόνη (126, 127)

7.5. Αντιμετώπιση μεταστατικής νόσου

Οι ασθενείς που εμφανίζουν μεταστατική νόσο χρειάζονται συστηματική θεραπεία. Πριν από την εποχή της ανοσοθεραπείας, η τυπική θεραπεία ήταν οι πλατινούχες διπλέτες με τους συνδυασμούς καρβοπλατίνης ή σισπλατίνης με γεμισιταμίνη, βινορελμπίνη, ή ταξάνες (πακλιταξέλη ή δοσιταξέλη). Αρκετές μελέτες έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι σε ασθενείς με ΜΜΚΠ αυτοί οι συνδυασμοί έχουν παρόμοια αποτελεσματικότητα, με διαφορές στο προφίλ της τοξικότητας. Η πεμετρεξίδη, ένας ανταγωνιστής του φολικού οξέος, μελετήθηκε σε συνδυασμό με τη σισπλατίνη και συγκρίθηκε με το συνδυασμό σισπλατίνης με γεμισιταμίνη σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Στην ανάλυση επιβίωσης που έγινε με βάση τον ιστολογικό τύπο του νεοπλάσματος, (πλακώδες ή μη πλακώδες), παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά επιβίωσης υπέρ της ομάδας που έλαβε σισπλατίνη / πεμετρεξίδη

σε ασθενείς με μη πλακώδη ιστολογικό τύπο (διάμεση OS, 11,8 έναντι 10,4 μηνών, HR, 0,81, 95% CI, 0,74 -0,94). Ο συνδυασμός πεμετρεξίδης βρέθηκε επίσης ότι ήταν καλύτερα ανεκτός και, επομένως, έγινε η σταθερή επιλογή σε ασθενείς με μη πλακώδη ιστολογικό τύπο. Σε όλους τους ιστολογικούς τύπους, η θεραπεία με πλατινούχες διπλέτες περιορίζεται σε 4 έως 6 κύκλους, επειδή αρκετές μελέτες έχουν υποδείξει την έλλειψη οφέλους επιβίωσης σε συνέχιση της χορήγησης. Σε ασθενείς με μη πλακώδη ιστολογικά ευρήματα, που δεν έχουν καμία ένδειξη εξέλιξης μετά τους αρχικούς 4 κύκλους διπλής χημειοθεραπείας, η συνέχιση μόνο της πεμετρεξίδης έχει συσχετιστεί με βελτίωση στην ολική επιβίωση σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο.

8. Προβλεπτικοί και προγνωστικοί βιοδείκτες

8.1. Μεταλλάξεις στο γονίδιο EGFR

Η οικογένεια των υποδοχέων του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα αποτελείται από 4 μέλη: (i) EGFR / ERBB1 / HER1, ii) ERBB2 / HER2 / NEU, iii) ERBB3 / HER3 και iv) ERBB4 / HER4. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα προκαλεί την ενεργοποίηση καθοδικών σηματοδοτικών μοριακών μονοπατιών όπως το RAS-RAF-MEK και το PI3K-AKT-mTOR μονοπάτι, που προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη, πολλαπλασιασμό και επιβίωση. Αυτή η διαδικασία υπόκειται σε αυστηρό έλεγχο στα φυσιολογικά κύτταρα. Ωστόσο, η συνεχής και ανεξέλεγκτη ενεργοποίηση αυτών των μοριακών μονοπατιών έχει σαν αποτέλεσμα τον υπέρμετρο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την καταστολή της απόπτωσης, που σταδιακά οδηγούν στην καρκινογένεση, τη διήθηση και μετάσταση (128).

Οι πιο συνηθισμένες μεταλλάξεις στο γονίδιο του EGFR που σχετίζονται με την ανάπτυξη MMKP είναι οι εντός πλαισίου διαγραφές στο εξόνιο 19 (E746-A750del) και η αντικατάσταση του αμινοξέος λευκίνη με αργινίνη στο εξόνιο 21 στη θέση 858 (L858R) (129). Συνολικά αυτές οι μεταλλάξεις αντιστοιχούν στο 85% του συνόλου των μεταλλάξεων του EGFR στο MMKP (128).

Η συχνότητα εμφάνισης αυτών των μεταλλάξεων στον πληθυσμό ποικίλλει. Σε ασθενείς με καταγωγή από την Ανατολική Ασία, οι μεταλλάξεις του EGFR ανιχνεύονται στο 20-40% των MMKP, ενώ ο επιπολασμός τους είναι σημαντικά χαμηλότερος στους Καυκάσιους (15-20%) και στους Αφροαμερικανούς (12%). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η συχνότητα των μεταλλάξεων είναι σημαντικά πιο αυξημένη σε ασθενείς που δεν κάπνισαν ποτέ (129).

Υπάρχουν δύο κύριες θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη στόχευση των μεταλλάξεων του EGFR: οι αναστολείς κινάσης τυροσίνης (TKIs) και τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του EGFR. Οι EGFR TKIs περιλαμβάνουν τους TKIs πρώτης γενιάς erlotinib και gefitinib, τους δεύτερης γενιάς afatinib και dacomitinib και τον τρίτης γενιάς osimertinib (130, 131). Οι EGFR TKIs παρατείνουν σημαντικά την περίοδο χωρίς πρόοδο νόσου (PFS) σε σύγκριση με την χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα σε ασθενείς με προχωρημένο MMΚΠ που φέρουν ενεργό μετάλλαξη στον EGFR. Ωστόσο, αυτοί οι θεραπευτικοί παράγοντες είχαν μικρή ή καμία επίδραση στην ολική επιβίωση των ασθενών σε μεγάλες κλινικές δοκιμές, κυρίως επειδή αυτοί οι παράγοντες χορηγούνται ως θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά την πρόοδο της νόσου με τη χορήγηση χημειοθεραπείας. Μια μετα-ανάλυση από τους Lee et al (132), στην οποία συνοψίζονται 13 κλινικές μελέτες φάσης 3, στις οποίες συγκρίθηκε η θεραπεία με ένα EGFR TKI με τη χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα, το PFS ήταν σημαντικά βελτιωμένο (HR:0,43 95% CI:0,38-0,49), ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στην ολική επιβίωση (HR:1,01 95% CI: 0,87-1,18). Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι οι ασθενείς που έλαβαν EGFR TKI είχαν χαμηλότερα ποσοστά ανεπιθύμητων ενεργειών αλλά και καλύτερο έλεγχο των συμπτωμάτων τους.

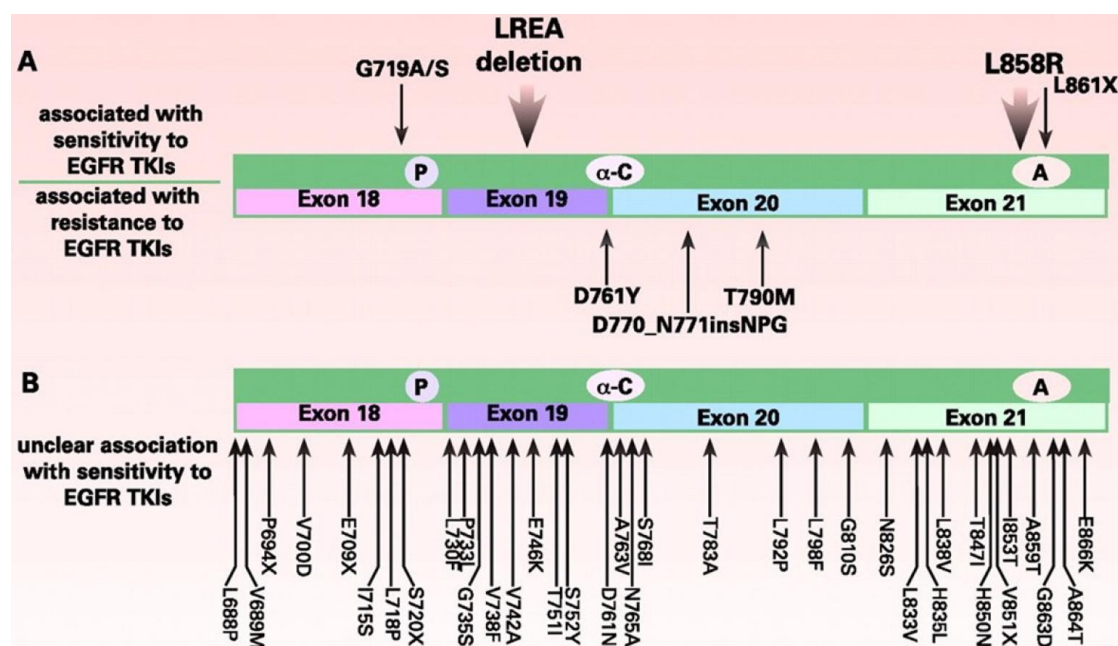
Το τοπίο της θεραπευτικής του EGFR μεταλλαγμένου MMΚΠ έχει αλλάξει δραματικά τα τελευταία χρόνια, με τα νέα δεδομένα να αναφέρουν σημαντική βελτίωση στην PFS με την χορήγηση osimertinib σαν θεραπεία πρώτης γραμμής σε σύγκριση με το gefitinib ή το erlotinib. Το osimertinib έχει πλέον εγκριθεί από τον FDA ως θεραπεία πρώτης γραμμής για ασθενείς με μεταστατικό MMΚΠ, οι οποίοι φέρουν εξαλείψεις στο εξόνιο 19 ή μεταλλάξεις L858R στο εξόνιο 21. Στην φάσης 3 κλινική μελέτη FLAURA (131), που αφορούσε σε ασθενείς με μεταλλαγμένο EGFR

ΜΜΚΠ, οι συμμετέχοντες τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν osimertinib έναντι πρώτης γενιάς EGFR TKIs. Το osimertinib επέδειξε βελτίωση στο PFS (18,9 έναντι 10,2 μηνών) και μεγαλύτερης διάρκειας απόκριση (17,2 έναντι 8,5 μηνών) σε σύγκριση με τους TKIs πρώτης γενιάς. Το όφελος του PFS ήταν εμφανές σε όλες τις υποομάδες των ασθενών, συμπεριλαμβανομένων εκείνων και με εγκεφαλικές μεταστάσεις, γεγονός που υποδηλώνει μεγαλύτερη ενδοκράνια συγκέντρωση και αποτελεσματικότητα του φαρμάκου.

Το dacomitinib έχει επίσης εγκριθεί στις ΗΠΑ σαν θεραπεία πρώτης γραμμής σε ασθενείς με μεταστατικό ΜΜΚΠ που φέρουν EGFR μεταλλάξεις. Σε μια πολυκεντρική κλινική δοκιμή φάσης 3, το dacomitinib παρουσίασε βελτιωμένο PFS σε σύγκριση με το gefitinib (14,7 έναντι 9,2 μήνες) καθώς και βελτιωμένη ολική επιβίωση (34 έναντι 27 μήνες) (133). Ωστόσο, η συχνότητα εμφάνισης της grade 3-4 δερματίτιδας ήταν πιο συχνή με το dacomitinib (14% έναντι 0%), όπως ήταν και η συχνότητα εμφάνισης διαρροϊκού συνδρόμου grade 3-4 (9% έναντι 1%).

Παρά τα υψηλά ποσοστά απόκρισης που επιτεύχθηκαν με τους EGFR TKIs, στους περισσότερους ασθενείς σημειώθηκε πρόοδος νόσου μετά από 6 έως 12 μήνες θεραπείας μέσω ανάπτυξης "αντίστασης" στον αρχικό θεραπευτικό παράγοντα. Αν και όλοι οι μηχανισμοί αντίστασης δεν είναι πλήρως κατανοητοί, μία δευτερογενής μετάλλαξη στο εξόνιο 20 (T790M) φαίνεται να αναπτύσσεται στο 40%-60% των ασθενών, για τους οποίους η θεραπεία μπορεί να συνεχιστεί με osimertinib. Το osimertinib στοχεύει τόσο τη μετάλλαξη T790M όσο και τις πρωτογενείς μεταλλάξεις του EGFR. Η φάσης 2 κλινική δοκιμή για την χορήγηση osimertinib μετά την πρόοδο νόσου με EGFR TKIs, ανέφερε ρυθμό απόκρισης 61% και διάμεση PFS 10 μήνες (134).

Επιπλέον, ανάπτυξη δευτερογενούς αντίστασης φαίνεται να προκαλείται από την ενίσχυση του ογκογονιδίου MET σε 5%-20% των ασθενών κατά τη διάρκεια της θεραπείας με erlotinib ή gefitinib (135), και πιθανώς έως και στο 30% των ασθενών με επίκτητη αντοχή στο osimertinib. Μεταλλάξεις στο PIK3CA και ενίσχυση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα 2 (HER-2) έχουν επίσης αναφερθεί ως μηχανισμοί ανάπτυξης αντίστασης. Σε μια μικρή ομάδα ασθενών, ο μετασχηματισμός σε μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα έχει επίσης αναφερθεί ως ένας μηχανισμός αντίστασης στους EGFR TKIs (136). Η θεραπεία των συγκεκριμένων ασθενών συνήθως συνεχίζεται με τη χορήγηση πλατινούχων χημειοθεραπευτικών παραγόντων. Στην [εικόνα 23](#) απεικονίζονται όλες οι μέχρι σήμερα γνωστές, μεταλλάξεις του EGFR, που σχετίζονται τόσο με ευαισθησία όσο και με αντίσταση στους EGFR TKIs.



Εικόνα 23: Μεταλλάξεις του EGFR που εντοπίστηκαν στο MMKP (A) Μεταλλάξεις που συνδέονται με την ευαισθησία στους TKIs (άνω) και τις μεταλλάξεις που σχετίζονται με την αντίσταση στους TKIs (κάτω). (B) Μεταλλάξεις που απομονώθηκαν από όγκους MMKP χωρίς απόκριση σε TKIs

Τέλος, τα μονοκλωνικά αντισώματα κατά του EGFR αφορούν στο cetuximab και στο necitumumab. Δύο κλινικές μελέτες φάσης 3 που έχουν

ενσωματώσει αντι-EGFR μονοκλωνικά αντισώματα, αναφέρουν αμφοτέρως μέτρια βελτίωση στην ολική επιβίωση των ασθενών για το cetuximab (HR: 0,87, $P < .04$) ή το necitumumab (HR: 0,84 ; $P < .01$), μόνο όταν αυτά προστίθεται στη συστηματική κυτταροτοξική θεραπεία (137).

8.2. Μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS

Η KRAS πρωτεΐνη ανήκει στην οικογένεια των G πρωτεϊνών RAS, η ενεργοποίηση των οποίων οδηγεί στην κινητοποίηση αρκετών καθοδικών σηματοδοτικών μονοπατιών όπως τα Raf-MEK-ERK, PI3K-AKT-mTOR και RalGDS-RalA / B, που ελέγχουν πολλαπλές κυτταρικές λειτουργίες συμπεριλαμβανομένων του πολλαπλασιασμού, της απόπτωσης και της επιβίωσης. Οι περισσότερες μεταλλάξεις στο γονίδιο KRAS επηρεάζουν τα εξόνια 2 και 3, προάγοντας τη συνεχή ενεργοποίηση της πρωτεΐνης. Οι μεταλλάξεις G12D ή G13D, σαν αποτέλεσμα της αντικατάστασης G→A στα κωδικόνια 12 ή 13, κυριαρχούν μεταξύ των KRAS μεταλλάξεων, ακολουθούμενες από τη G12V, λόγω αντικατάστασης G→T (138). Η συχνότερη KRAS μετάλλαξη στο MMΚΠ είναι η G12C, που αφορά στο 41% περίπου των περιπτώσεων. Οι μεταλλάξεις G12C και G12V εμπλέκονται συνήθως με την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού RalA / B ενώ και οι δύο σχετίζονται με μικρότερη διάρκεια επιβίωσης χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS). Οι ασθενείς που φέρουν τη μετάλλαξη G12C είναι πιο πιθανό να παρουσιάσουν οστικές μεταστάσεις, ενώ εκείνοι με τη G12V, συνήθως εμφανίζουν μεταστάσεις στον υπεζωκότα και το περικάρδιο. Το σύνολο των παραπάνω μεταλλάξεων παρουσιάζει αυξημένη συχνότητα σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα, ενώ σχετίζονται άμεσα με το κάπνισμα. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι G12D ή

G13D μεταλλάξεις παρουσιάζονται σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα, οι οποίοι δεν υπήρξαν ποτέ καπνιστές (139). Γενικά, οι KRAS μεταλλάξεις εμφανίζονται σαν ένα αρχικό γεγονός στην πορεία της καρκινογένεσης, καθώς είναι ανιχνεύσιμες σε προκαρκινικές βλάβες και στην άτυπη αδενωματώδη υπερπλασία (139).

Οι περισσότεροι ασθενείς με προχωρημένο MMKP λαμβάνουν χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα. Η παρουσία μεταλλάξεων KRAS έχει μελετηθεί ως βιοδείκτης για την πρόβλεψη του κλινικού αποτελέσματος της χημειοθεραπείας σε αυτούς τους ασθενείς. Το 1997, οι Rodenhuis et al. αξιολόγησαν την επίδραση των μεταλλάξεων KRAS στην ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία (καρβοπλατίνη, ιφωσφαμίδη και ετοποσίδη) σε ασθενείς με μεταστατικό MMKP (140). Ο ρυθμός ανταπόκρισης και η μέση ολική επιβίωση δεν συσχετίστηκαν με την παρουσία των μεταλλάξεων. Ούτε οι Schiller et al. διαπίστωσαν διαφορές στην ολική επιβίωση κατά την αξιολόγηση του δυνητικού οφέλους της μετεγχειρητικής χημειοθεραπείας (σισπλατίνη και ετοποσίδη) σε ασθενείς με MMKP σταδίου II και IIIA, ανάλογα με την παρουσία μεταλλάξεων KRAS (141). Το 2005, δημοσιεύτηκαν τα αποτελέσματα από την κλινική μελέτη φάσης 3 TRIBUTE, σε ασθενείς με προχωρημένο MMKP που συνέκρινε σαν θεραπεία πρώτης γραμμής τον συνδυασμό καρβοπλατίνη / πακλιταξέλη με erlotinib ή εικονικό φάρμακο (142). Ο ρυθμός ανταπόκρισης, ο μέσος χρόνος έως την πρόοδο νόσου και η μέση ολική επιβίωση δε διέφεραν ανάλογα με την παρουσία KRAS μεταλλάξεων. Στην κλινική δοκιμή φάσης 3 IFCT-0002, η οποία συνέκρινε 2 χημειοθεραπευτικούς συνδυασμούς (καρβοπλατίνη και πακλιταξέλη έναντι σισπλατίνης και γεμισιταμπίνης) σε ασθενείς με MMKP σταδίου I και II (143), η μονοπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι το προφίλ KRAS συσχετίστηκε με την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία. Ωστόσο, αυτή η

συσχέτιση δεν παρέμεινε στατιστικά σημαντική στην πολυπαραγοντική ανάλυση. Παρ' όλα αυτά, σε μια πρόσφατα δημοσιευμένη αναδρομική μελέτη για ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ, όσοι έφεραν μεταλλάξεις του γονιδίου KRAS εμφάνισαν μικρότερο ποσοστό ανταποκρίσεων στην κυτταροτοξική χημειοθεραπεία και μειωμένη ολική επιβίωση σε σύγκριση με όσους δεν είχαν KRAS μεταλλάξεις (144).

Η μελέτη για την προσπάθεια επαγωγής ενός διαφορετικού προτύπου ευαισθησίας ανάλογα με την ειδική μετάλλαξη KRAS, οδήγησε στη δημιουργία κυτταρικών σειρών ΜΜΚΠ που υπερεκφράζουν τις τρεις πιο κοινές μεταλλάξεις (G12C, G12V και G12D) (145). Μελέτες που βασίστηκαν στις συγκεκριμένες κυτταρικές σειρές, έδειξαν ότι, ενώ η μετάλλαξη G12V δείχνει αντίσταση στην πεμετρεξίδη και την πακλιταξέλη και ευαισθησία στο sorafenib και τη σισπλατίνη, η παρουσία της G12C σχετίζεται με μειωμένη ανταπόκριση στη σισπλατίνη και ευαισθησία στην πεμετρεξίδη και την πακλιταξέλη. Δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ των μεταλλάξεων KRAS και της ανταπόκρισης στους αναστολείς της γεμισιταμπίνης και του EGFR. Συνολικά, οι μελέτες που δημοσιεύθηκαν μέχρι σήμερα σχετικά με την προβλεπτική αξία των μεταλλάξεων KRAS δεν παρουσιάζουν συνεπή δεδομένα και ως εκ τούτου το KRAS προφίλ των ασθενών δεν θα πρέπει να χρησιμοποιείται ως προγνωστικός παράγοντας για την επιλογή ασθενών για συγκεκριμένα σχήματα χημειοθεραπείας.

Το KRAS προφίλ έχει επίσης μελετηθεί ευρέως ως προγνωστικός βιοδείκτης για την ανταπόκριση σε TKIs, με τις περισσότερες μελέτες να καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η παρουσία των συγκεκριμένων μεταλλάξεων σχετίζεται με αντίσταση στην θεραπεία με αναστολείς του EGFR (TKIs και cetuximab) (139, 142, 146). Αναφορικά με τη συσχέτιση συγκεκριμένων μεταλλάξεων KRAS και την ανταπόκριση σε EGFR

αναστολείς, σε μια μελέτη 38 ασθενών οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με erlotinib ή genitininib, παρατηρήθηκε ότι όσοι έφεραν τη μετάλλαξη G12C, είχαν μικρότερο PFS και ολική επιβίωση από εκείνους χωρίς τη συγκεκριμένη μετάλλαξη (147). Παράλληλα, οι ασθενείς που έφεραν άλλες μεταλλάξεις KRAS, εκτός της G12C, είχαν παρόμοια PFS και ολική επιβίωση συγκριτικά με όσους δεν έφεραν καμία KRAS μετάλλαξη. Τέλος μια άλλη πρόσφατα δημοσιευμένη συγκεντρωτική ανάλυση που περιλαμβάνει τέσσερις κλινικές δοκιμές, τεκμηριώνει ένα όφελος στην ολική επιβίωση των ασθενών που φέρουν τη μετάλλαξη G12D / S, ενώ υποστηρίζει ότι η θεραπεία με EGFR TKIs ήταν επιβλαβής για όσους έφεραν μεταλλάξεις G12V (148).

Μέχρι στιγμής, καμία προσπάθεια στόχευσης των μεταλλάξεων του KRAS γονιδίου δεν έχει αποδειχθεί επιτυχής. Συγκεκριμένα έχουν αναφερθεί αρκετές προσπάθειες για την άμεση αναστολή ειδικών KRAS-μεταλλαγμένων πρωτεϊνών χρησιμοποιώντας στρατηγικές όπως τη μη αναστρέψιμη αλλοστερική αναστολή του G12C RAS (149), τη δημιουργία ενώσεων που στοχεύουν τη δέσμευση νουκλεοτιδίων γουανίνης (SML-8-73- 1) (149) ή τη δημιουργία αναστολέων ειδικών αλληλόμορφων (ARS-853) (150, 151). Αν και αυτές οι ενώσεις έδειξαν μεγάλη εξειδίκευση ως προς την αναστολή των μεταλλαγμένων KRAS όγκων *in vitro*, η μακροπρόθεσμη αποτελεσματικότητα καθώς και η τοξικότητά τους παραμένουν τα σημαντικότερα εμπόδια. Επομένως, η μη ειδική χημειοθεραπεία με συμβατικά κυτταροτοξικά φάρμακα παραμένει ως η συνήθης θεραπευτική επιλογή για τους ασθενείς με KRAS μεταλλαγμένο ΜΜΚΠ.

8.3. Μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF

Οι σωματικές μεταλλάξεις του γονιδίου BRAF εμφανίζονται σε περίπου 2-4% των ασθενών με MMKΠ και προάγουν την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού RAF / MAPK (152). Η πιο κοινή μετάλλαξη BRAF στον καρκίνο του πνεύμονα είναι η μετάλλαξη BRAF V600E, που αφορά στο 1-2% των αδеноκαρκινωμάτων του πνεύμονα και περίπου στο 50% των BRAF μεταλλαγμένων περιπτώσεων MMKΠ. Σε αντίθεση με τους ασθενείς με MMKΠ που φέρουν στοχεύσιμες μεταλλάξεις, όπως EGFR και ALK, οι οποίοι συνδέονται ελάχιστα ή καθόλου με το ιστορικό καπνίσματος, οι ασθενείς με μετάλλαξη BRAF είναι συχνότερα καπνιστές, ιδιαίτερα εκείνοι που δεν φέρουν τη V600E μετάλλαξη (152). Η έλλειψη συσχετίσεων ανάμεσα στην παρουσία της μετάλλαξης BRAF και το φύλο, τον ιστολογικό τύπο ή το στάδιο της νόσου, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το κλινικό προφίλ των συγκεκριμένων ασθενών είναι ετερογενές. Αναφορικά με τις θεραπευτικές επιλογές, ενώ η μονοθεραπεία με Raf αναστολείς όπως το vemurafenib και το dabrafenib, είναι αποτελεσματική στην συγκεκριμένη ομάδα ασθενών, η προσθήκη ενός MEK αναστολέα ενισχύει τη θεραπευτική ανταπόκριση, ελαττώνει το βαθμό τοξικότητας και βελτιώνει τα κλινικά αποτελέσματα (153, 154). Ο συνδυασμός του dabrafenib (BRAF αναστολέας) και του trametinib (MEK αναστολέας) μελετήθηκε σε μια κλινική δοκιμή φάσης 2 σε ασθενείς με προηγουμένως μη θεραπεύσιμο BRAF V600E-μεταλλαγμένο MMKΠ. Ο ρυθμός ανταπόκρισης της ομάδας που έλαβε το θεραπευτικό συνδυασμό ήταν 64% ενώ η μέση ολική επιβίωση ήταν 24,6 μήνες (155). Αυτά τα αποτελέσματα οδήγησαν το 2017 στην έγκριση από τον FDA του συνδυασμού dabrafenib και trametinib για ασθενείς με προχωρημένο MMKΠ που φέρουν τη μετάλλαξη BRAF V600E, ανεξάρτητα από την προηγηθείσα θεραπεία που είχαν λάβει (152). Σχεδόν οι μισές περιπτώσεις

από όλους τους BRAF μεταλλαγμένους MMKΠ, δεν φέρουν τη μετάλλαξη V600E. Σε αντίθεση με την τελευταία, η οποία προάγει τη συνεχή ενεργοποίηση του γονιδίου BRAF ως μονομερές, οι υπόλοιπες BRAF μεταλλάξεις λειτουργούν ως διμερή. Ενώ οι τρέχοντες RAF αναστολείς αναστέλλουν ισχυρά τα μεταλλαγμένα μονομερή, η σύνδεσή τους σε μία θέση σε ένα μεταλλαγμένο διμερές, ελαττώνει τη συγγένεια δέσμευσης τους στη δεύτερη, καθιστώντας έτσι τη θεραπεία αναποτελεσματική (156). Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί 3 ερευνητικές προσεγγίσεις με σκοπό την ανάπτυξη καλύτερων θεραπευτικών επιλογών για αυτούς τους ασθενείς. Η πρώτη είναι η αναστολή καθοδικών μορίων της σηματοδοτικής οδού MEK, για την οποία το trametinib έχει δείξει *in vitro* αποτελεσματικότητα σε κυτταρικές σειρές μη-V600E BRAF μεταλλαγμένου MMKΠ (157-159). Η δεύτερη προσέγγιση αφορά στην ανάπτυξη Raf αναστολέων ικανών να στοχεύουν τα ογκογόνα διμερή των μη-V600E BRAF μεταλλάξεων. Η τρίτη είναι η παρεμπόδιση του RAS διαμεσολαβούμενου BRAF διμερισμού αναστέλλοντας τη σηματοδότηση SHP2 (160).

8.4. Αναδιατάξεις στο γονίδιο ALK

Οι συντήξεις του γονιδίου EML4 και του γονιδίου ALK εντοπίστηκαν για πρώτη φορά ως πιθανός μοριακός στόχος σε ασθενείς με MMKΠ το 2007. Οι αναδιατάξεις του γονιδίου ALK εμφανίζονται σε 5% περίπου των ασθενών με MMKΠ. Μολονότι αρχικά είχε αναγνωριστεί μόνο το προϊόν σύντηξης EML4-ALK, έκτοτε έχουν αναφερθεί συγχωνεύσεις και με άλλα γονίδια, που όλες οδηγούν σε ανεξέλεγκτη υπερέκφραση του γονιδίου ALK (161). Οι ασθενείς με ALK θετικό MMKΠ τείνουν να είναι νεότεροι και χωρίς ιστορικό καπνίσματος. Πιο αναλυτικά, οι αναδιατάξεις του

γονιδίου ALK εμφανίζονται στο 12% των μη καπνιστών με MMKP και μόνο στο 2% των πρώην ή νυν καπνιστών. Οι ασθενείς με ALK θετικούς όγκους είναι πιο πιθανό να είναι γυναίκες, με αδеноκαρκίνωμα πνεύμονα, ενώ σχετίζονται με μεγαλύτερου βαθμού και πολυεστιακή θωρακική λεμφαδενοπάθεια (161). Οι αναδιατάξεις ALK σχεδόν ποτέ δεν συνυπάρχουν με τις μεταλλάξεις των γονιδίων EGFR ή KRAS.

Το crizotinib, ένας αναστολέας τυροσινικής κινάσης (TKI), αναπτύχθηκε αρχικά ως c-MET αναστολέας που αργότερα βρέθηκε να είναι αποτελεσματικός και σε ασθενείς με αναδιατάξεις των γονιδίων ALK και ROS1. Η αποτελεσματικότητα του crizotinib παρουσιάστηκε για πρώτη φορά σε μια μεγάλη κοόρτη ασθενών μιας πολυκεντρικής μελέτης φάσης 1 (162), η οποία ανέφερε ακτινολογική ανταπόκριση στο 57% και σταθερή νόσο στο 33% των ασθενών. Η φάσης 3 κλινική μελέτη PROFILE 10007 επιβεβαίωσε ότι το crizotinib είχε μεγαλύτερο ρυθμό ανταπόκρισης και καλύτερο PFS σε σύγκριση με την θεραπευτική επιλογή των ερευνητών για δοσιταξέλη ή πεμετρεξίδη για ασθενείς με ALK θετικό MMKP, οι οποίοι παρουσίασαν πρόοδο νόσου μετά την πρώτη γραμμή χημειοθεραπείας (συνολικός ρυθμός ανταπόκρισης 65% έναντι 20%, διάμεση PFS 7,7 έναντι 3 μηνών. $P < 0,001$) (163). Το ceritinib, ένας δεύτερης γενιάς ALK TKI, έχει δείξει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα έναντι της χημειοθεραπείας, σαν θεραπεία πρώτης γραμμής, στη δοκιμή ASCEND-4. Συγκεκριμένα, η ομάδα ασθενών που έλαβε ceritinib είχε μεγαλύτερη PFS συγκριτικά με την ομάδα που έλαβε χημειοθεραπεία (16,6 μήνες έναντι 8,1 μήνες. HR, 0,55. 95% CI 0,42-0,73. $P < 0,001$) καθώς και μεγαλύτερη διάρκεια ανταπόκρισης (23,9 έναντι 11,1 μήνες) (164). Το alectinib, ένας ALK TKI δεύτερης γενιάς, αποτελεί σήμερα την FDA εγκεκριμένη θεραπεία πρώτης γραμμής, για ασθενείς με ALK-θετικό MMKP, καθώς και για εκείνους που παρουσίασαν πρόοδο νόσου μετά την

χορήγηση crizotinib. Στην κλινική δοκιμή J-ALEX, το alectinib είχε καλύτερη αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με το crizotinib, καθώς ο βραχίονας ασθενών του alectinib παρουσίασε βελτιωμένη PFS (HR 0,34. 95% CI 0,17-0,70. $P < 0,001$) (165). Στη δοκιμή ALEX, μια παγκόσμια πολυκεντρική μελέτη, η ομάδα του alectinib εμφάνισε παρόμοια αποτελέσματα συγκριτικά με αυτή του crizotinib, με διάμεση PFS 34,8 μήνες έναντι 10,9 μήνες για εκείνους που έλαβαν crizotinib (166). Ωστόσο, τα στατιστικά στοιχεία για την ολική επιβίωση έδειξαν ένα σχετικό κίνδυνο θανάτου 0,76 (95% CI 0,50-1,15). Ένα δευτερεύον όφελος που προέκυψε από την χορήγηση του alectinib αφορούσε στους ασθενείς με εγκεφαλικές μεταστάσεις, οι οποίοι παρουσίασαν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα χωρίς πρόοδο νόσου στο κεντρικό νευρικό σύστημα (HR 0,16. 95% CI 0,10-0,28). Και στις δύο κλινικές μελέτες, το alectinib ήταν καλύτερα ανεκτό σε σύγκριση με το crizotinib. Το lorlatinib είναι ένας νεότερης γενιάς ALK αναστολέας, με δραστικότητα έναντι όλων των γνωστών μεταλλάξεων αντοχής σε αναστολείς ALK. Σήμερα, το lorlatinib αποτελεί τον θεραπευτικό παράγοντα επιλογής για τη ρύθμιση της αντίστασης που αναπτύσσεται στο alectinib (167, 168). Το lorlatinib έχει λάβει έγκριση από τον FDA για ασθενείς με ALK-θετικό MMKP που παρουσίασαν πρόοδο νόσου μετά τη θεραπεία με crizotinib και τουλάχιστον 1 ακόμη αναστολέα ALK, καθώς και για όσους παρουσίασαν πρόοδο νόσου μετά τη θεραπεία πρώτης γραμμής είτε με alectinib είτε με ceritinib. Η έγκριση του FDA βασίστηκε στην κλινική μελέτη φάσης 2 που περιελάμβανε μια υποομάδα 198 ασθενών με ALK θετικό μεταστατικό MMKP, που προηγουμένως είχαν υποβληθεί σε θεραπεία με έναν ή περισσότερους ALK αναστολείς. Ο συνολικός ρυθμός ανταπόκρισης των ασθενών που έλαβαν lorlatinib ήταν 47% (169).

8.5. Αναδιατάξεις στο γονίδιο ROS1

Οι αναδιατάξεις του γονιδίου ROS1 είναι παρούσες στο 1-2% των ασθενών με προχωρημένου σταδίου MMKP. Το γονίδιο ανήκει σε μια οικογένεια κινασών τυροσίνης του υποδοχέα της ινσουλίνης και ενεργοποιείται με χρωμοσωμική αναδιάταξη, οδηγώντας σε καθοδική ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών PI3K-AKT, RAS-MAPK και STAT3. Οι ασθενείς με MMKP που φέρουν αναδιατάξεις του γονιδίου ROS1 είναι παρόμοιοι δημογραφικά με εκείνους με συντήξεις του γονιδίου ALK. Συγκεκριμένα, τείνουν να είναι νεότεροι (μέση ηλικία 49,8 έτη), γυναίκες, μη καπνιστές και με αδеноκαρκίνωμα του πνεύμονα (152).

Οι ATP θέσεις σύνδεσης των γονιδίων ROS1 και ALK μοιράζονται το 77% της ομολογίας των αμινοξέων τους (152). Δεδομένης αυτής της δομικής ομοιότητας, οι παραδοσιακοί ALK αναστολείς όπως το ceritinib και το crizotinib είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στη θεραπεία του μεταλλαγμένου ROS1 MMKP. Το crizotinib εξετάστηκε σε μια κλινική μελέτη 50 ασθενών με MMKP, που έφεραν την αναδιάταξη ROS1. Ο ολικός ρυθμός ανταπόκρισης ήταν 72%, το διάμεσο PFS ήταν 19,2 μήνες ενώ ο βαθμός τοξικότητας ήταν παρόμοιος με εκείνο που παρατηρήθηκε στους ασθενείς με ALK θετικό MMKP (170). Η επιτυχία αυτής της δοκιμής οδήγησε τον FDA το 2016, στην έγκριση του crizotinib ως θεραπεία πρώτης γραμμής για ασθενείς με MMKP με αναδιάταξη του ROS1. Ωστόσο, όπως συμβαίνει με πολλά TKIs, τόσο η έμφυτη όσο και η επίκτητη αντίσταση που αναπτύσσεται περιορίζουν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου. Ο πιο συνηθισμένος μηχανισμός αντοχής στο ROS1-θετικό MMKP είναι η μετάλλαξη G2032R, η οποία είναι δομικά ανάλογη με την μετάλλαξη G1202R που εμφανίζεται σε ασθενείς με ALK θετικό MMKP (171). Οι μεταλλάξεις αυτές

παρεμποδίζουν στερεοχημικά τη δέσμευση του φαρμάκου, παρέχοντας έτσι αντίσταση στη θεραπεία.

Ο δεύτερης γενιάς ALK αναστολέας, ceritinib, μελετήθηκε σε μια δοκιμή φάσης 2 σε 32 ασθενείς και κατέδειξε παρόμοια αποτελεσματικότητα με το crizotinib, με ολικό ρυθμό ανταπόκρισης 62%, PFS 19,3 μήνες, αλλά με μεγαλύτερη εμφάνιση τοξικότητας (172). Μέχρι σήμερα, δεν υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν ότι η αντίσταση που αναπτύσσεται στο crizotinib μπορεί να αντιμετωπιστεί θεραπευτικά με την χορήγηση ceritinib. Το lorlatinib, ένας ALK / ROS1 αναστολέας τρίτης γενιάς, μελετάται σε μια κλινική δοκιμή φάσης I / II για ασθενείς με ROS1-θετικό MMKΠ (169). Το entrectinib είναι ένα μικρό μόριο TKI που αναστέλλει τις συντήξεις των γονιδίων NTRK, ROS1 και ALK. Η πρόσφατα ολοκληρωμένη ανάλυση αποτελεσματικότητας των μελετών φάσης I / II του entrectinib, σε 53 ασθενείς με ROS1-θετικό MMKΠ που δεν είχαν προηγουμένως υποβληθεί σε θεραπεία, κατέδειξε 77,4% ολικό ρυθμό ανταπόκρισης και PFS 19 μήνες (173). Με εξαίρεση το lorlatinib, κανένα από τα φάρμακα που αναφέρθηκαν προηγουμένως δεν έχει αποδείξει σημαντική αποτελεσματικότητα στην ανάπτυξη αντίστασης στο crizotinib. Εναλλακτικά, το cabozantinib, ένας αναστολέας πολλαπλών κινασών που έχει αποδείξει τη δραστηριότητα του έναντι των μεταλλάξεων αντίστασης του ROS1 (συμπεριλαμβανομένης της G2032R), θα μπορούσε να αποτελέσει μια πιθανή θεραπευτική επιλογή για αυτή την υποομάδα των ασθενών (155). Μία κλινική μελέτη φάσης 2 (NCT01639508) του cabozantinib σε ασθενείς με MMKΠ και παρουσία σύντηξης των γονιδίων ROS1/RET/NTRK βρίσκεται σε εξέλιξη και μπορεί να ρίξει φως στην αποτελεσματικότητα αυτού του φαρμάκου στους ασθενείς με MMKΠ που φέρουν αναδιατάξεις του ROS1 γονιδίου.

8.6. Μεταλλάξεις στο γονίδιο ERCC1

Οι ενώσεις πλατίνας όπως η σισπλατίνη, αποτελούν τη ραχοκοκαλιά της αντινεοπλασματικής θεραπείας εδώ και δεκαετίες. Παρόλο που οι παθοφυσιολογικοί και μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η σισπλατίνη ασκεί τις αντινεοπλασματικές της δράσεις δεν είναι πλήρως κατανοητοί, το DNA φαίνεται να αποτελεί τον πρωταρχικό της στόχο. Η σισπλατίνη αλληλεπιδρά με τις βάσεις πουρίνης και σχηματίζει συζευγμένες DNA-πρωτεΐνες καθώς και κλώνους σύντηξης που τελικά οδηγούν σε βλάβη του DNA (174). Υπάρχει μια κρίσιμη ισορροπία μεταξύ αυτής της βλάβης και των μηχανισμών επιδιόρθωσής της. Εάν ο βαθμός ζημίας του DNA υπερβαίνει την ικανότητα επισκευής και η ζημία συνεχίζει, τα κύτταρα προχωρούν στη διαδικασία της απόπτωσης η οποία σχετίζεται με την επαγόμενη από τη σισπλατίνη κυτταροτοξικότητα. Από την άλλη πλευρά, ο αυξημένος ρυθμός επιδιόρθωσης του DNA μπορεί να συνδέεται αντιστρόφως ανάλογα με την αντινεοπλασματική δράση της χημειοθεραπείας (175, 176). Τα ανθρώπινα κύτταρα διαθέτουν 6 κύριους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA: την αποκατάσταση με εκτομή νουκλεοτιδίου (nucleotide excision repair, NER), την επιδιόρθωση λανθασμένου ζευγαρώματος (mismatch repair, MMR), τον ομόλογο ανασυνδυασμό (homologous recombination, HR), τον μη ομόλογο τελικό σύνδεσμο (non-homologous end-joining, NHEJ), την αποκατάσταση με εκτομή βάσης (base excision repair, BER) και τη σύνθεση μετάφρασης (translation synthesis, TLS) (177). Οι βλάβες που προκαλούνται από τους παράγοντες πλατίνας επιδιορθώνονται από τους μηχανισμούς NER και HR (178), με το NER να αποτελεί τη κυριότερη οδό αποκατάστασης μέσω απομάκρυνσης της σισπλατίνης και των παραγώγων της. Το μονοπάτι του NER είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο και σχετίζεται με αρκετά γονίδια που

κωδικοποιούν σημαντικές πρωτεΐνες όπως οι ERCC1, ERCC2 (XPD), ERCC3 (XPB) (175, 176, 179).

Η πρωτεΐνη ERCC1 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην κυτταρική επιβίωση καθώς απομακρύνει μέσω της οδού NEP τα ογκώδη σύμπλοκα του DNA που σχηματίζονται από τα περιβαλλοντικά και επαγγελματικά καρκινογόνα. Η αυξημένη έκφραση της ERCC1 πρωτεΐνης έχει συσχετιστεί με αυξημένο ποσοστό αντίστασης στη σισπλατίνη και χειρότερη ολική επιβίωση σε διάφορους καρκίνους όπως του ΜΜΚΠ, της ουροδόχου κύστης, των ωοθηκών, του παχέος εντέρου, του στομάχου και του κεφαλής-τραχήλου (175, 176, 179-182). Επιπλέον, διάφοροι πολυμορφισμοί στα γονίδια επιδιόρθωσης του DNA, συμπεριλαμβανομένου και του ERCC1, έχουν συσχετιστεί έντονα με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνων εξαρτώμενων από το κάπνισμα, όπως του πνεύμονα και της ουροδόχου κύστης (183-186).

8.7. Μεταλλάξεις στο γονίδιο RRM1

Το ένζυμο ριβονουκλεοτιδική αναγωγή καταλύει την αναγωγή του 5-διφωσφορικού ριβονουκλεοτιδίου προς 5-διφωσφορικό δεοξυριβονουκλεοτίδιο για τη σύνθεση του DNA και την αποκατάσταση πιθανής βλάβης. Το γονίδιο της καταλυτικής υπομονάδας M1 (RRM1) της ριβονουκλεοτιδικής αναγωγής εντοπίζεται στον γονιδιακό τόπο 11p15.5 και κωδικοποιεί ένα βασικό ένζυμο που εμπλέκεται τόσο στη σύνθεση όσο και στην επισκευή του DNA, καθώς καταλύει τη βιοσύνθεση των δεοξυριβονουκλεοτιδίων (187, 188)

Η γεμισταμπίνη, είναι ένα ανάλογο δεοξυκυτιδίνης και αποτελεί τον ισχυρότερο αναστολέα ριβονουκλεοτιδικής αναγωγής που

χρησιμοποιείται στα χημειοθεραπευτικά σχήματα ασθενών με ΜΜΚΠ, κυρίως σε συνδυασμό με παράγωγα πλατίνας ή νεότερους παράγοντες. Ασκει την αντινεοπλασματική της δράση μέσω ενσωμάτωσης στο DNA, του οποίου αναστέλλει ανταγωνιστικά τη σύνθεση απενεργοποιώντας την υπομονάδα RRM1 (189, 190). Αν και θεωρείται ένας ισχυρός και με μεγάλη ειδικότητα αντινεοπλασματικός παράγοντας, ορισμένοι ασθενείς με ΜΜΚΠ εμφανίζουν ανθεκτικότητα στα θεραπευτικά σχήματα που περιέχουν γεμισιταμίνη.

Οι προκλινικές μελέτες κατέδειξαν στενή σχέση μεταξύ της έκφρασης RRM1 και του βαθμού χημειοευαισθησίας σε σχήματα που περιέχουν γεμισιταμίνη σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του ΜΜΠΚ, του παγκρέατος και του ρινοφάρυγγα (188, 191-193). Συγκεκριμένα, το χαμηλό επίπεδο έκφρασης της RRM1 φαίνεται να σχετίζεται με καλύτερη ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία που περιέχει γεμισιταμίνη (194, 195), ενώ ασθενείς με υπερέκφραση της RRM1 φάνηκε ότι εμφάνιζαν αντίσταση στη συγκεκριμένη θεραπεία (196-198). Η RRM1, η οποία εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11p15.5, φαίνεται ότι εμπλέκεται και στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού του όγκου, της διεισδυτικότητας και της μετάστασης (199). Παράλληλα, ο συγκεκριμένος γονιδιακός τόπος, επίσης γνωστός ως LOH11A, εμφανίζει συχνά απώλεια ετεροζυγωτίας σε ασθενείς με ΜΜΚΠ (187, 188)

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, η RRM1 θα μπορούσε να είναι ένας προγνωστικός βιοδείκτης για την ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία με γεμισιταμίνη σε ασθενείς με ΜΜΚΠ.

8.8. Άλλες στοχεύσιμες μοριακές αλλαγές

Οι αναδιατάξεις του γονιδίου RET εντοπίζονται στο 1-2% των ασθενών με MMKP. Συχνά απαντώνται σε νεότερους ασθενείς, κάτω των 60 ετών, μη καπνιστές ή πρώην ελαφρείς καπνιστές και σε ασθενείς με χαμηλής διαφοροποίησης αδеноκαρκίνωμα (200). Οι αναστολείς πολλαπλών κινάσεων όπως το Cabozantinib και το Lenvatinib έχουν δείξει συνολικά ποσοστά ανταπόκρισης 28% και 16%, αντίστοιχα (201). Το Vandetanib, ένας αναστολέας πολλαπλών κινάσεων, έδειξε συνολική ανταπόκριση 53% με 4,7 μήνες PFS στη μελέτη LURET (202). Πρόσφατα, ο LOXO-292, ένας ισχυρός και εξαιρετικά εκλεκτικός αναστολέας RET, κατέδειξε το εντυπωσιακό ποσοστό συνολικής ανταπόκρισης του 65%, σε ασθενείς με MMKP που έφεραν αναδιάταξη του RET γονιδίου σε μια μελέτη φάσης I (203).

Η μετάλλαξη στο εξόνιο 14 του γονιδίου MET (MET^{Δex14}) εμφανίζεται στο 2-4% των ασθενών με αδеноκαρκίνωμα, σε μεγαλύτερους ηλικιακά ασθενείς και σε μη καπνιστές (204). Οι μεταλλάξεις του γονιδίου MET παρατηρούνται επίσης σε 3-5% των ασθενών με αδеноκαρκίνωμα χωρίς παρουσία μεταλλάξεων του EGFR. Η αποτελεσματικότητα του Crizotinib έχει κλινικώς αποδειχθεί σε ασθενείς με MET μεταλλάξεις (204, 205). Το capmatinib, ένας νέος παράγοντας που στοχεύει το MET, κατέδειξε κλινικό όφελος με συνολικά ποσοστά ανταπόκρισης 39,1% και 79,0% σε ασθενείς με MMKP με παρουσία μετάλλαξης Δex14, που είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε θεραπεία ή όχι, αντίστοιχα (203).

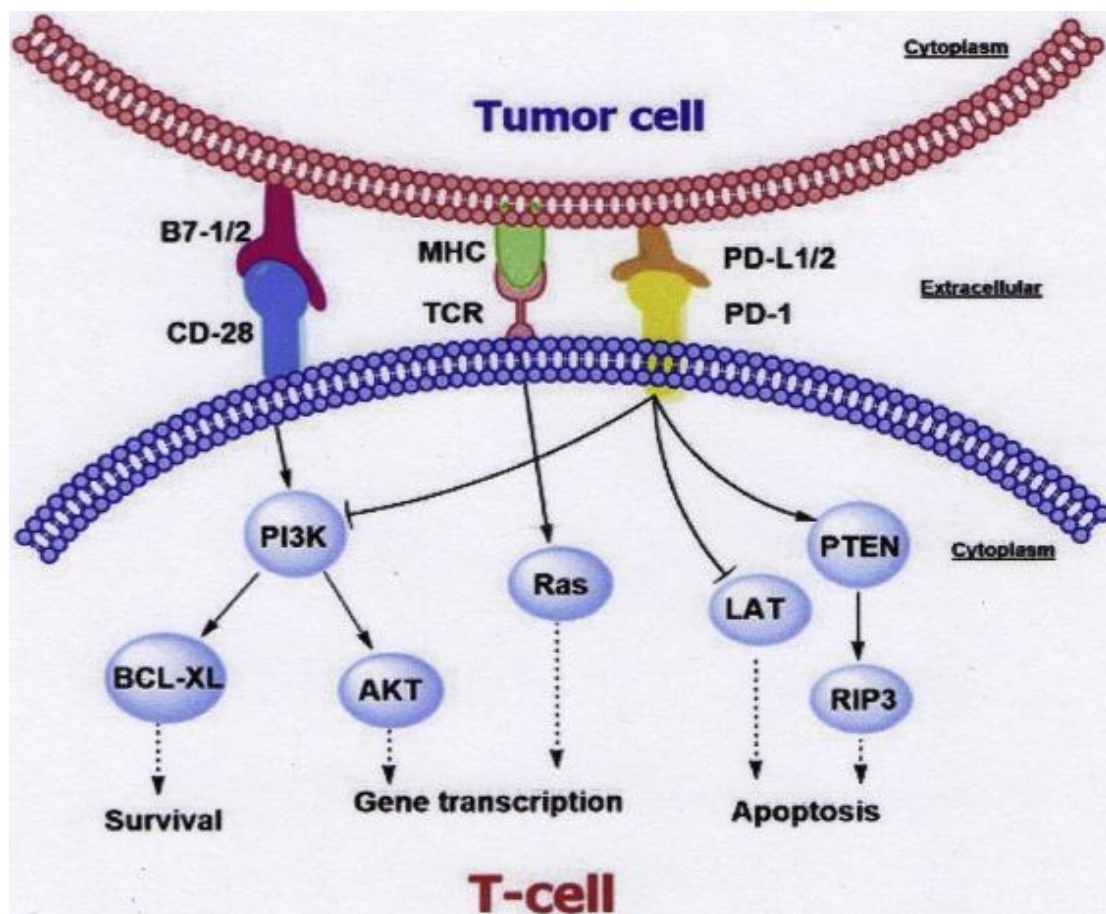
Η παρουσία αναδιατάξεων NTRK εκτιμάται ότι αφορά λιγότερο από το 1% των ασθενών με MMKP. Η larotrectinib και η entrectinib έχουν αναδειχθεί ως αποτελεσματικοί αναστολείς TKI για τη συγκεκριμένη υποομάδα ασθενών (206).

8.9. Το μονοπάτι PD-1/PD-L1

Ένας από τους πιο ουσιαστικούς ρόλους του ανοσοποιητικού συστήματος είναι να αναγνωρίζει και να καταστρέφει τα νεοπλασματικά κύτταρα πριν αυτά γίνουν κλινικά σημαντικά (207). Προκειμένου να περιοριστεί η βλάβη στα υγιή κύτταρα, αυτή η διαδικασία ρυθμίζεται αυστηρά από ενεργοποιητικές και ανασταλτικές οδούς (208). Αλλάζοντας την ισορροπία μεταξύ των παραπάνω οδών, τα νεοπλασματικά κύτταρα μπορούν να ξεφύγουν από την επιτήρηση του ανοσοποιητικού συστήματος και να πολλαπλασιαστούν ανεξέλεγκτα. Μία από αυτές τις οδούς είναι ο άξονας προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου-1 PD-1/ PDL1. Το PD-1 είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας που εκφράζεται στα T και B λεμφοκύτταρα, στα μονοκύτταρα, στα μακροφάγα καθώς και στα κύτταρα φυσικούς φονείς -NK (209). Ο συνδέτης του, PD-L1, είναι μία μεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται φυσιολογικά στα T λεμφοκύτταρα (210). Η αλληλεπίδρασή τους οδηγεί στην αδρανοποίηση των T λεμφοκυττάρων και επομένως στην καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα νεοπλασματικά κύτταρα μπορούν να υπερεκφράζουν το συνδέτη PD-L1, με αποτέλεσμα την αρνητική ρύθμιση της αντινεοπλασματικής απόκρισης, ως μηχανισμό άμυνας κατά του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή. Η συγκεκριμένη αλληλεπίδραση μπορεί να παρεμποδιστεί μέσω αντισωμάτων που στρέφονται κατά του PD-1 ή του συνδέτη του PD-L1, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της ανοσιακής αντινεοπλασματικής απόκρισης (εικόνα 24). Αυτή η στρατηγική αποτέλεσε τη βάση της ανοσοθεραπείας του καρκίνου και αποδείχθηκε μια πολύ αποτελεσματική θεραπευτική επιλογή για αρκετές κακοήθειες, συμπεριλαμβανομένου του ΜΜΚΠ (209). Μέχρι σήμερα έχουν λάβει έγκριση από τον FDA 2 anti-PD-1 αντισώματα, το pembrolizumab και το nivolumab, και 3 anti-PD-L1, το atezolizumab, το avelumab και το durvalumab. Αξιοσημείωτο είναι το

γεγονός ότι ένα υποσύνολο ασθενών που λαμβάνει ανοσοθεραπεία, φαίνεται να έχει μακροχρόνια οφέλη, με κάποιους εξ αυτών να ζουν αρκετά χρόνια μετά τη διάγνωση, κάτι που ήταν αδιανόητο μία δεκαετία πριν (211).

Μέχρι σήμερα ο μόνος προβλεπτικός βιοδείκτης για την χορήγηση ανοσοθεραπείας παραμένει η ανοσοϊστοχημική έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 σε δείγμα του νεοπλασματικού ιστού. Επιπροσθέτως, η εκτίμηση του συνολικού φορτίου μεταλλάξεων του όγκου (Tumor Mutational Burden, TMB), έχει αρχίσει να κερδίζει έδαφος στο ίδιο πεδίο. Τέλος, ο προσδιορισμός της διαλυτής μορφής της πρωτεΐνης PD-L1 στον ορό του ασθενούς έχει προταθεί σαν υποψήφιος προβλεπτικός-προγνωστικός βιοδείκτης (212).



Εικόνα 24. Εικόνα που δείχνει τον μηχανισμό αλληλεπίδρασης μεταξύ PD-1 και PD-L1 / 2 και την ενεργοποίηση των καθοδικών σηματοδοτικών μονοπατιών (213)

Ανοσοθεραπεία σαν μονοθεραπεία

Μια κλινική μελέτη φάσης 3, η KEYNOTE-024, τυχαιοποίησε 305 ασθενείς με MMKΠ που είχαν ποσοστό έκφρασης της PD-L1 πρωτεΐνης στα νεοπλασματικά κύτταρα περισσότερο από 50%, για να λάβουν pembrolizumab ή ένα συμβατικό χημειοθεραπευτικό σχήμα (214). Ο βραχίονας ασθενών που έλαβε θεραπεία με pembrolizumab παρουσίασε αυξημένο ρυθμό ανταπόκρισης (45% έναντι 28%), PFS (10,3 έναντι 6 μήνες; HR, 0.50; 95% CI, 0.37-0.68; $P < .001$) και ολική επιβίωση (30 έναντι 14,2 μήνες), καθιερώνοντας το pembrolizumab ως πρότυπη θεραπευτική επιλογή για αυτό το υποσύνολο των ασθενών (215). Αντίθετα, το nivolumab μελετήθηκε σε μια δοκιμή φάσης 3, την CheckMate 026, όπου ασθενείς με MMKΠ που είχαν έκφραση PD-L1 περισσότερο από 1%, τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν nivolumab ή χημειοθεραπεία με διπλό πλατινούχο παράγοντα (215). Στην αρχική ανάλυση αποτελεσματικότητας δεν ανεδείχθη κάποιο πλεονέκτημα της θεραπείας με nivolumab στο ρυθμό απόκρισης (26% έναντι 33%), στο PFS (4,2 έναντι 5,9 μηνών, HR, 1.15; 95% CI, 0.91-1.45; P 0.25) ή την ολική επιβίωση (14,4 έναντι 13,2 μηνών, HR, 1,02, 95% CI, 0.80-1.30). Στην ανάλυση, που αφορούσε το υποσύνολο των ασθενών με έκφραση του PD-L1 μεγαλύτερη από 50%, τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια (HR για πρόοδο νόσου, 1.07; 95% CI, 0.77-1.49; και HR για θάνατο, 0,90. 95% CI, 0,63-1,29). Οι λόγοι για τους οποίους υπάρχουν διαφορές στην ανταπόκριση μεταξύ του nivolumab και του pembrolizumab, δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Πιθανές εξηγήσεις περιλαμβάνουν διαφορές στον σχεδιασμό των κλινικών δοκιμών, τα κριτήρια επιλεξιμότητας των ασθενών καθώς στην KEYNOTE-024 συμμετείχαν μόνο ασθενείς με έκφραση PD-L1 > 50%, ή την ύπαρξη ετερογένειας μεταξύ των ομάδων.

Συνδυασμός ανοσοθεραπείας με χημειοθεραπεία

Ο συνδυασμός χημειοθεραπείας με βάση την πλατίνα με το pembrolizumab αποδείχθηκε ότι βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας, σε σύγκριση με τη χημειοθεραπεία μόνο, για ασθενείς με μεταστατικό ΜΜΚΠ με πλακώδες και μη ιστολογικό τύπο, ανεξάρτητα από την έκφραση PD-L1 (216-218). Οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με το συνδυασμό είχαν βελτιωμένη ολική επιβίωση, ολικό ρυθμό ανταπόκρισης και PFS, καθιστώντας το θεραπευτικό αυτό συνδυασμό μία πολύ καλή επιλογή. Παρά τις κάποιες αρχικές ανησυχίες για αύξηση των ανεπιθύμητων ενεργειών (ΑΕ), μελέτες φάσης 2 κατέδειξαν ότι η προσθήκη pembrolizumab δε συσχετίστηκε με αύξηση του ποσοστού εμφάνισης ΑΕ βαθμού 3 ή 4 σε σύγκριση με τη χημειοθεραπεία (217). Ωστόσο, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με pembrolizumab είχαν υψηλότερο ποσοστό διακοπής της θεραπείας συγκριτικά με εκείνους που έλαβαν μόνο χημειοθεραπεία (13,8% έναντι 7,9% σε μη πλακώδη ιστολογικό τύπο και 12,2% έναντι 6,4% σε πλακώδη). Όπως παρατηρήθηκε στους ασθενείς που έλαβαν μονοθεραπεία με pembrolizumab, εμφανίστηκαν ΑΕ ανοσολογικού χαρακτήρα σε 22,7% και 28,8% των ασθενών με μη πλακώδες και πλακώδες ΜΜΚΠ, αντίστοιχα, οι περισσότερες εκ των οποίων ήταν διαχειρίσιμες. Το κλινικό όφελος από τη συγχορήγηση pembrolizumab και χημειοθεραπείας παρατηρήθηκε σε όλες τις υποομάδες έκφρασης του PD-L1, αλλά ήταν πιο εντυπωσιακό σε ασθενείς με υψηλή έκφραση του δείκτη (216).

Όσον αφορά τα αντισώματα έναντι του PD-L1, το atezolizumab μελετήθηκε σε μία δοκιμή φάσης 3, στην οποία 1202 ασθενείς με μη πλακώδες ΜΜΚΠ, τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν καρβοπλατίνη, πακλιταξέλη και bevacizumab ή καρβοπλατίνη, πακλιταξέλη και atezolizumab ή καρβοπλατίνη, πακλιταξέλη, atezolizumab και

bevacizumab. Η μελέτη χρησιμοποίησε μια ιεραρχική ανάλυση και η αρχική αναφορά συνέκρινε το βραχίονα της χημειο-ανοσοθεραπείας με bevacizumab με την ομάδα ελέγχου της χημειοθεραπείας με bevacizumab (219). Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με των παραπάνω δοκιμών συνδυασμού χημειο-ανοσοθεραπείας. Είναι ενδιαφέρον ότι σε αυτή τη μελέτη εντάχθηκε ένα υποσύνολο ασθενών με μεταλλάξεις EGFR και ALK. Αυτοί οι ασθενείς φάνηκε ότι είχαν παρόμοιο όφελος σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς μεταλλάξεις EGFR και ALK, αν και ο μικρός αριθμός post hoc αναλύσεων δεν μπόρεσε να οδηγήσει σε οριστικά συμπεράσματα. Το atezolizumab έχει πλέον λάβει έγκριση από τον FDA σαν θεραπεία πρώτης γραμμής σε συνδυασμό με καρβοπλατίνη, πακλιταξέλη και bevacizumab για ασθενείς με μεταστατικό μη πλακώδη MMKΠ χωρίς EGFR, ALK ή άλλες μοριακές μεταβολές.

Συνδυαστική ανοσοθεραπεία

Η πρωτεΐνη CTLA-4 αποτελεί ένα άλλο στοχεύσιμο μόριο, που εκφράζεται στα T λεμφοκύτταρα. Όταν η CTLA-4 ενεργοποιείται, στέλνει ένα ανασταλτικό σήμα που ρυθμίζει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων και τον πολλαπλασιασμό τους (220). Ο συνδυασμός ενός αντισώματος αντι-PD-1 και ενός CTLA-4 αναστολέα βελτιώνει την αντινεοπλασματική δράση σε ασθενείς με κακόηθες μελάνωμα και επί του παρόντος μελετάται σε ασθενείς με MMKΠ. Η δοκιμή φάσης 1 CheckMate 012 ενέταξε 78 ασθενείς με MMKΠ που δεν είχαν λάβει προηγουμένως χημειοθεραπεία, για να λάβουν nivolumab και το anti-CTLA-4 αντίσωμα ipilimumab σε διαφορετικά σχήματα και δόσεις (221). Η αποτελεσματικότητα αυτής της θεραπείας διέφερε μεταξύ των υποομάδων των ασθενών με βάση την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1. Σε ασθενείς με λιγότερο από 1% έκφραση PD-L1, ο ολικός ρυθμός ανταπόκρισης ήταν 21%, 57% για τους ασθενείς

με τουλάχιστον 1% έκφραση PD-L1 και 92% για όσους είχαν τουλάχιστον 50% έκφραση της πρωτεΐνης (221). Βελτιωμένη PFS παρατηρήθηκε στο βραχίονα του συνδυασμού ανοσοθεραπείας σε σχέση με το βραχίονα που έλαβε μόνο nivolumab: 8 έναντι 3,6 μήνες για ασθενείς με έκφραση PD-L1 λιγότερο από 1% και 12,7 έναντι 3,5 μήνες για εκείνους με έκφραση τουλάχιστον 1%. Ο συνδυασμός των ανοσοθεραπειών έδειξε υψηλότερη επίπτωση ΑΕ βαθμού 3/4, η οποία συγκεκριμένα ήταν 42% για το σκέλος με τη θεραπεία συνδυασμού έναντι 19% για το σκέλος που έλαβε μονοθεραπεία με nivolumab.

Σε μια παρόμοια μελέτη, ο αναστολέας PD-L1 durvalumab χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με τον αναστολέα CTLA-4, tremelimumab, σε μια μελέτη φάσης 1 σε διαφορετικές δόσεις και σχήματα. Ο συνδυασμός έδειξε αυξημένη τοξικότητα σε σύγκριση με κάθε παράγοντα μεμονωμένα, με την επίπτωση ΑΕ βαθμού 3 ή 4 να αγγίζει το 46%, με ιδιαίτερα υψηλά τα ποσοστά εμφάνισης πνευμονίτιδας. Αν και οι περισσότερες περιπτώσεις τοξικότητας ήταν διαχειρίσιμες, σημειώθηκαν 3 θάνατοι που σχετίζονταν με τη θεραπεία (222). Πρώιμες αναφορές από τη μελέτη φάσης 3 (μελέτη ARCTIC) δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντικό όφελος στην ολική επιβίωση ή τη PFS σε ασθενείς με χαμηλή έκφραση PD-L1 που λάμβαναν durvalumab και tremelimumab, αν και τα τελικά αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη εκκρεμούν (223).

Ανοσοθεραπεία για πρόοδο νόσου μετά από χημειοθεραπεία

Στο MMKP, οι ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες ήταν οι πρώτοι που δοκιμάστηκαν σε ασθενείς που εμφάνισαν πρόοδο νόσου μετά από τη χορήγηση χημειοθεραπείας βασισμένη στην πλατίνα. Με μικρές διαφορές στο σχεδιασμό των δοκιμών, τα anti-PD-1 αντισώματα nivolumab (224,

225) και pembrolizumab (226), καθώς και το anti-PD-L1 αντίσωμα atezolizumab (227), έδειξαν να προσφέρουν σημαντικό όφελος επιβίωσης, με αποτέλεσμα να αποτελούν σήμερα θεραπεία επιλογής στη δεύτερη γραμμή θεραπείας για ασθενείς που δεν έχουν λάβει προηγουμένως ανοσοθεραπεία.

Το προφίλ ΑΕ των αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1 / PD-L1 διαφέρει ριζικά από αυτό της χημειοθεραπείας, αλλά, γενικά, οι anti- PD-1 / anti-PD-L1 παράγοντες είναι καλύτερα ανεκτοί. Οι συνηθέστερες ΑΕ είναι οι βαθμοί 1 έως 2 κόπωση και ανορεξία, οι οποίες εμφανίζονται στο 14% έως 24% των ασθενών (228). Σοβαρές ΑΕ, όπως πνευμονίτιδα ή κολίτιδα, είναι σπάνιες και μπορούν να αντιμετωπιστούν στις περισσότερες περιπτώσεις με τη διακοπή της θεραπείας και άμεση έναρξη κορτικοστεροειδών ή άλλων ανοσοκατασταλτικών παραγόντων, όταν τα κορτικοστεροειδή δεν είναι αποτελεσματικά (229).

Ασθενείς με οδηγές γενετικές μεταβολές

Η αποτελεσματικότητα της ανοσοθεραπείας σε ασθενείς με MMΚΠ που έχουν γενετικές μεταβολές όπως EGFR μετάλλαξη ή ALK αναδιάταξη δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Σε μια μετα-ανάλυση ασθενών με MMΚΠ που έφεραν μεταλλάξεις του EGFR και είχαν ενταχθεί στις κλινικές μελέτες CheckMate 057, KEYNOTE-010 και POPLAR, στις οποίες τα nivolumab, pembrolizumab και atezolizumab, αντίστοιχα, συγκρίθηκαν με δοσιταξέλη, οι 186 ασθενείς με EGFR μετάλλαξη δεν φάνηκε να ωφεληθήκαν από την ανοσοθεραπεία (HR, 1,05, 95% CI, 0,70- 1,55; P 0.81). Σε αντίθεση με το ανωτέρω στατιστικό αποτέλεσμα, οι 1362 ασθενείς χωρίς EGFR μετάλλαξη παρουσίασαν σημαντικό όφελος επιβίωσης (HR, 0,66. 95% CI, 0.58-0.76; P <.001) (230). Σήμερα, στην

κλινική πρακτική, η χρήση της ανοσοθεραπείας σε ασθενείς με οδηγές γενετικές μεταβολές ενδείκνυται μόνο αφού έχουν εξαντληθεί όλες οι διαθέσιμες μοριακά στοχευμένες θεραπείες και ενδεχομένως και οι κυτταροτοξικές θεραπείες. Στους [πίνακες 11](#) και [12](#) που ακολουθούν παρουσιάζεται η σύνοψη των θεραπευτικών στρατηγικών καθώς και των υπάρχουσών στοχευουσών θεραπειών για ασθενείς με ΜΜΚΠ.

Πίνακας 11. Σύνοψη συστηματικής θεραπείας για το ΜΜΚΠ (122)

Γραμμή θεραπείας	Μη πλακώδες, οδηγές μεταλλάξεις	Μη πλακώδες, χωρίς οδηγές μεταλλάξεις	Πλακώδες και μη πλακώδες, PD- PD- L1>50%	Πλακώδες, PD- L1<50%
1^η γραμμή	EGFR+: osimertinib ALK/ROS1+: alectinib, crizotinib BRAF+: dabrafenib/trametinib	Platinum/pemetrexed και pembrolizumab ή platinum doublet (carboplatin + taxane), atezolizumab και bevacizumab	Pembrolizumab	Platinum με paclitaxel ή nab-paclitaxel με pembrolizumab
Συντήρηση	Συνέχιση TKI	Pembrolizumab pemetrexed, atezolizumab bevacizumab, erlotinib, ή κανένα	Συνέχιση pembrolizumab μέχρι πρόοδο νόσου ή αυξημένη τοξικότητα	Pembrolizumab
2^η και 3^η γραμμή	2 ^{ης} ή 3 ^{ης} γενιάς TKI αν δεν έχουν χορηγηθεί στην 1 ^η γραμμή (alectinib, osimertinib) Lorlatinib (ALK+) ακολουθούμενα από χημειοθεραπεία	Docetaxel ramucirumab. Μονοθεραπεία: gemcitabine ή necitumumab	Docetaxel ramucirumab. Μονοθεραπεία: gemcitabine, erlotinib, ή necitumumab	Docetaxel ramucirumab. Μονοθεραπεία: gemcitabine, erlotinib, ή necitumumab

Πίνακας 12. Στοχεύουσες θεραπείες στο ΜΜΚΠ (203)

Ιστολογικός τύπος	Μοριακός στόχος	Θεραπευτικός παράγοντας	Έγκριση από FDA	Σημείωση
ΜΜΚΠ	EGFR	Gefitinib	Ναι	Εκλεκτικός-αναστρέψιμος TKI
		Erlotinib	Ναι	Εκλεκτικός -αναστρέψιμος TKI
		Afatinib	Ναι	Αναστρέψιμος ErbB αναστολέας
		Dacomitinib	Ναι	Αναστρέψιμος TKI
		Osimertinib	Ναι	Αναστρέψιμος TKI-Ενεργός έναντι T790M
		Pozotinib	Όχι	Αναστρέψιμος TKI-Ενεργός έναντι μεταλλάξεων στο εξόνιο 20 και HER2
		TAK-788	Όχι	Ενεργός έναντι μεταλλάξεων στο εξόνιο 20 και HER2
		TAS6417	Όχι	Εκλεκτικός TKI έναντι της μετάλλαξης στο εξόνιο 20
	ALK	Crizotinib (1 ^{ης} γενιάς)	Ναι	TKI με πολλαπλούς στόχους
		Alectinib (2 ^{ης} γενιάς)	Ναι	Εκλεκτικός ALK αναστολέας
		Ceritinib (2 ^{ης} γενιάς)	Ναι	Εκλεκτικός ALK αναστολέας
		Brigatinib (2 ^{ης} γενιάς)	Ναι	Αναστολέας ALK/ROS1
		Lorlatinib (3 ^{ης} γενιάς)	Ναι	Αναστολέας ALK/ROS1
	ROS1	Crizotinib	Ναι	
		Lorlatinib	Όχι	
		Entrectinib	Όχι	Αναστολέας ROS1,TRK,ALK
	BRAF	Dabrafenib/trametinib	Ναι	ATP αναστέψιμος-ανταγωνιστικός αναστολέας τυροσινικής κινάσης
	RET	Lenvatinib	Όχι	TKI με πολλαπλούς στόχους
		Cabozantinib	Όχι	TKI με πολλαπλούς στόχους
		Vandetanib	Ναι	TKI με πολλαπλούς στόχους
		LOXO-292	Όχι	Εκλεκτικός RET αναστολέας
	MET	Crizotinib	Όχι	
		Capmatinib	Όχι	Αναστρέψιμος MET αναστολέας
		Tepotinib	Όχι	Αναστρέψιμος MET αναστολέας
	NTRK	Entrectinib	Όχι	
		Larotrectinib	Ναι	TRK αναστολέας
	PD-1	Nivolumab	Ναι	IHC: 28-8
		Pembrolizumab	Ναι	IHC: 22C3
	PD-L1	Atezolizumab	Ναι	IHC: SP142
		Durvalumab	Ναι	IHC: SP263

III. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός

Τα μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα (ΜΜΚΠ) συγκαταλέγονται στα συχνότερα καρκινώματα του ανθρώπου ενώ ταυτόχρονα αποτελούν τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως.

Η ανακάλυψη των μοριακά στοχευουσών θεραπειών και της ανοσοθεραπείας τα τελευταία χρόνια έφερε επανάσταση στον τομέα της θεραπευτικής του καρκίνου του πνεύμονα, υποσχόμενη σαφές όφελος επιβίωσης και λιγότερες παρενέργειες σε σχέση με την κλασσική χημειοθεραπεία. Ο κύριος προβλεπτικός βιοδείκτης για την χορήγηση ανοσοθεραπείας σε ασθενείς με ΜΜΚΠ παραμένει μέχρι σήμερα, η έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 στα νεοπλασματικά κύτταρα. Οι σχέσεις της έκφρασης της πρωτεΐνης PD-L1 με το μοριακό προφίλ του όγκου αλλά και με συγκεκριμένα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών, δεν έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως.

Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την έκφραση των βιοδεικτών PD-L1, ROS1, ERCC1 και RRM1 σε δείγματα μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα, με στόχο τη διερεύνηση ύπαρξης πιθανών συσχετίσεων με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών καθώς και της πιθανής προγνωστικής τους αξίας. Συγκεκριμένα, μελετήσαμε τις συσχετίσεις της έκφρασης των ανωτέρω πρωτεϊνών με δεδομένα του μοριακού προφίλ του όγκου κάθε ασθενούς (EGFR, KRAS, ALK, BRAF), καθώς και με πληροφορίες για την συνολική επιβίωση, τη θεραπευτική προσέγγιση και κυρίως τη χορήγηση ανοσοθεραπείας.

2. Μέθοδοι Και Υλικά

2.1. Ασθενείς

Για την παρούσα μελέτη συγκεντρώθηκε και αναλύθηκε υλικό από τον όγκο 220 ασθενών με ΜΜΚΠ, οι οποίοι διαγνώστηκαν κατά το χρονικό διάστημα 2011-2018. Η μελέτη εγκρίθηκε από την επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Αρ. Πρωτοκόλλου 1718004921), ενώ όλοι οι ασθενείς υπέγραψαν έντυπο συγκατάθεσης για την συμμετοχή των δεδομένων τους στη συγκεκριμένη μελέτη.

2.2. Τεχνικές

2.2.1. Ανοσοϊστοχημική μελέτη των βιοδεικτών PD-L1, ROS1, ERCC1 και RRM1

Η μέθοδος της ανοσοϊστοχημείας είναι μια τεχνική εντοπισμού της έκφρασης φυσιολογικών ή παθολογικών στοιχείων σε κυτταρικό και ιστικό επίπεδο. Η θέση εντοπισμού των υπό μελέτη αντιγόνων-στόχων γίνεται με τη χρήση αντισωμάτων (σημασμένων με ειδικές χρωστικές) τα οποία συνδέονται με τα συγκεκριμένα αντιγόνα με αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας χημικής αντίδρασης που καθιστά ορατό το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος όταν το σύμπλοκο αυτό είναι παρόν.

Για την ανοσοϊστοχημική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν βιοπτικά δείγματα από τον πρωτοπαθή όγκο ασθενών με ΜΜΚΠ μονιμοποιημένα σε φορμόλη 10% και εγκλεισμένα σε παραφίνη, με την τεχνική των δύο βημάτων peroxidase conjugated polymer technique (DAKO Envision kit, DAKO, Carpinteria, CA). Η λήψη τομών παραφίνης έγινε με μικροτόμο

πάχους 4μm, οι οποίες ακολούθως τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες με επικάλυψη poly-l-lysine.

Η αξιολόγηση των χρωσθέντων πλακιδίων έγινε με τη χρήση απλού μικροσκοπίου με τυφλό τρόπο, από δύο παθολογοανατόμους χωρίς γνώση των υπάρχουσών κλινικοπαθολογοανατομικών πληροφοριών. Επί διαφωνίας των δύο αποτελεσμάτων, τα πλακίδια επαναξιολογήθηκαν από κοινού χωρίς γνώση του προηγούμενου αποτελέσματος.

PD-L1

Προκειμένου να εκτιμηθεί η έκφραση του βιοδείκτη PD-L1, τομές παραφίνης πάχους 4μm υποβλήθηκαν στην ακόλουθη διαδικασία:

1. Επώαση στους 60°C για 1 ώρα την ημέρα της ανοσοχρώσης.
2. Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων σε αυτόματο μηχάνημα (PT Link της εταιρείας Dako) για 20 λεπτά στους 97°C, με τη χρήση διαλύματος χαμηλού pH (pH 6) [Envision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION HIGH pH (50x), της εταιρείας Dako].
3. Εξουδετέρωση ενδογενούς υπεροξειδάσης για 5 λεπτά
4. Επώαση των τομών με το πρωτογενές αντίσωμα PDL1 (PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, της εταιρείας Dako) σε αραιώση 1:50 για 30 λεπτά.
5. Επώαση των τομών με το δευτερογενές αντίσωμα PDL1 (PD-L1 IHC 22C3 Linker) για 30 λεπτά.
6. Επώαση των τομών με πολυμερές αποτελούμενο από υπεροξειδάση και δευτερογενές αντίσωμα ειδικό για ανοσοσφαιρίνες ποντικού/κουνελιού/αρουραίου (Poly-HRP-Anti-mouse/rabbit/rat IgG, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά.
7. Επώαση των τομών σε διάλυμα διαμινοβενζιδίνης (DAB sub-chromo) για 5 λεπτά. Η υπεροξειδάση αλληλοεπιδρά με το H₂O₂ και οξειδώνει

το υπόστρωμα της DAB παράγοντας έγχρωμο αδιάλυτο προϊόν το οποίο γίνεται ορατό με το κοινό μικροσκόπιο.

8. Επώαση των τομών σε βοηθητικό ενισχυτικό χρωμογόνο για 5 λεπτά.
9. Χρώση του υποστρώματος σε διάλυμα αιματοξυλίνης για 5 λεπτά.
- 10.Επίστρωση των τομών και επικάλυψή τους με καλυπτρίδα.

Μετά το πέρας κάθε ενός από τα παραπάνω βήματα, έγινε ξέπλυμα των τομών με Wash Buffer [Envision FLET WASH BUFFER (20x), της εταιρείας Dako].

Αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του PD-L1

Για την αξιολόγηση της έκφρασης του βιοδείκτη PD-L1 απαιτείται η παρουσία τουλάχιστον 100 βιώσιμων νεοπλασματικών κυττάρων στην αντικειμενοφόρο πλάκα του προς εξέταση δείγματος. Η αξιολόγηση της έκφρασης έγινε με βάση την μεμβρανική χρώση του δείκτη, ενώ η κυτταροπλασματική χρώση δεν συνεκτιμήθηκε. Επίσης, δεν εκτιμήθηκε στο αποτέλεσμα η χρώση των μη νεοπλασματικών κυττάρων καθώς και η χρώση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος όπως λεμφοκυττάρων και μακροφάγων.

Το αποτέλεσμα της αξιολόγησης εκφράστηκε μέσω του Tumor Proportion Score (TPS), το οποίο αντιπροσωπεύει το ποσοστό των βιώσιμων νεοπλασματικών κυττάρων του δείγματος με μερική ή πλήρη μεμβρανική χρώση. Συγκεκριμένα, ένα δείγμα θεωρήθηκε ότι έχει χαμηλή έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1, όταν το ποσοστό των βιώσιμων νεοπλασματικών κυττάρων με μεμβρανική χρώση σε κάθε ένταση ήταν τουλάχιστον 1% ($TPS \geq 1\%$). Εάν το παραπάνω ποσοστό ξεπερνούσε το 50% ($TPS \geq 50\%$), τότε το δείγμα θεωρείτο ότι είχε υψηλή έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1, ενώ στην αντίθετη περίπτωση χαμηλή ($TPS 1-49\%$).

Όλα τα δείγματα μελετήθηκαν σε ανάλυση x10-40. Ως θετικός μάρτυρες χρησιμοποιήθηκε Control Cell Line Slides (Dako-supplied), που κάθε ένα

περιέχει δείγμα από θετική PD-L1 κυτταρική σειρά. Ως αρνητικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε ιστός από το εκάστοτε δείγμα στον οποίο δεν χρησιμοποιήθηκε το πρωτογενές αντίσωμα.

ROS1

Προκειμένου να εκτιμηθεί η ύπαρξη διαμετάθεσης της πρωτεΐνης ROS1, τομές παραφίνης πάχους 4μm υποβλήθηκαν στην ακόλουθη διαδικασία:

1. Ολονύκτια επώαση στους 37°C.
2. Επώαση στους 60°C για 1 ώρα την ημέρα της ανοσοχρώσης.
3. Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων σε αυτόματο μηχάνημα (PT Link της εταιρείας Dako) για 20 λεπτά στους 96°C, με τη χρήση διαλύματος υψηλού pH (pH 9) [Envision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION HIGH pH(50x), της εταιρείας Dako].
4. Εξουδετέρωση ενδογενούς υπεροξειδάσης με επώαση των τομών σε διάλυμα H₂O₂ 3% για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον.
5. Ολονύκτια επώαση των τομών με το πρωτογενές αντίσωμα ROS-1 [ROS1 (D4D6(R)), Rabbit mAb, της εταιρείας Cell Signaling], σε αραίωση 1:100
6. Επώαση των τομών με ειδικό αντιδραστήριο δέσμευσης του πρωτογενούς αντισώματος (Post Antibody blocking, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το αντιδραστήριο αυτό είναι έτοιμο προς χρήση (Ready-to-use) και χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της χρώσης και την αύξηση της ευαισθησίας.
7. Επώαση των τομών με πολυμερές αποτελούμενο από υπεροξειδάση και δευτερογενές αντίσωμα ειδικό για ανοσοσφαιρίνες

ποντικού/κουνελιού/αρουραίου (Poly-HRP-Anti-mouse/rabbit/rat IgG, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το αντιδραστήριο αυτό είναι έτοιμο προς χρήση (Ready-to-use) και συνδέεται ανοσολογικά με το σύμπλεγμα του πρωτογενούς αντισώματος με το αντιδραστήριο Post Antibody blocking.

8. Επώαση των τομών σε διάλυμα διαμινοβενζιδίνης (DAB), για 6 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον.
9. Χρώση του υποστρώματος σε διάλυμα αιματοξυλίνης για να καθοριστούν τα υπόλοιπα μορφολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των ιστών ή κυττάρων.
10. Αφυδάτωση με ανιόντα διαλύματα αιθανόλης (70%, 80%, 96%, 100%).
11. Βύθιση των τομών σε ξυλόλη.
12. Επίστρωση των τομών και επικάλυψή τους με καλυπτρίδα.

Μετά το πέρας κάθε ενός από τα παραπάνω βήματα, έγινε ξέπλυμα των τομών με Wash Buffer [Envision FLET WASH BUFFER (20x), της εταιρείας Dako].

Αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης ROS1

Η αξιολόγηση της έκφρασης του βιοδείκτη ROS1 βασίσθηκε στο H-score. Συγκεκριμένα, υπολογίστηκε το γινόμενο του ποσοστού των νεοπλασματικών κυττάρων με κυτταροπλασματική χρώση επί την ένταση της ανοσοχρώσης (% θετικά νεοπλασματικά κύτταρα * ένταση χρώσης). Η ένταση της χρώσης βαθμολογήθηκε με 1 βαθμό για την ήπια, 2 βαθμούς για την μέτρια και 3 βαθμούς για την έντονη ένταση. Συμπερασματικά, το κάθε δείγμα έλαβε τιμές H-score από 0-300, ενώ θετική θεωρήθηκε η έκφραση του δείκτη για H-score ≥ 150 (231).

Κάθε κυτταροπλασματική χρώση του δείκτη σε νεοπλασματικά κύτταρα προσμετρήθηκε στο τελικό αποτέλεσμα. Τα δείγματα μελετήθηκαν σε ανάλυση x10-40.

Ως θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν οι ROS1 Analyte Controls HCL023 (Histocyte Laboratories Ltd). Πρόκειται για αντικειμενοφόρες πλάκες που κάθε μία περιέχει δείγμα από θετική και δείγμα από αρνητική ROS1 κυτταρική σειρά.

ERCC1

Προκειμένου να εκτιμηθεί η έκφραση της πρωτεΐνης ERCC1, τομές παραφίνης πάχους 4μm υποβλήθηκαν στην ακόλουθη διαδικασία:

1. Ολονύκτια επώαση στους 37°C.
2. Επώαση στους 60°C για 1 ώρα την ημέρα της ανοσοχρώσης.
3. Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων σε αυτόματο μηχάνημα (PT Link της εταιρείας Dako) για 20 λεπτά στους 96°C, με τη χρήση διαλύματος υψηλού pH (pH 9) [Envision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION HIGH pH(50x), της εταιρείας Dako].
4. Εξουδετέρωση ενδογενούς υπεροξειδάσης με επώαση των τομών σε διάλυμα H₂O₂ 3% για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον.
5. Ολονύκτια επώαση των τομών με το πρωτογενές αντίσωμα ERCC1 [ERCC1 (D6G6(XP)), Rabbit mAb, της εταιρείας Cell Signaling], σε αραιώση 1:125
6. Επώαση των τομών με ειδικό αντιδραστήριο δέσμευσης του πρωτογενούς αντισώματος (Post Antibody blocking, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το αντιδραστήριο αυτό είναι έτοιμο προς χρήση (Ready-to-use) και

χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της χρώσης και την αύξηση της ευαισθησίας.

7. Επώαση των τομών με πολυμερές αποτελούμενο από υπεροξειδάση και δευτερογενές αντίσωμα ειδικό για ανοσοσφαιρίνες ποντικού/κουνελιού/αρουραίου (Poly-HRP-Anti-mouse/rabbit/rat IgG, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το αντιδραστήριο αυτό είναι έτοιμο προς χρήση (Ready-to-use) και συνδέεται ανοσολογικά με το σύμπλεγμα του πρωτογενούς αντισώματος με το αντιδραστήριο Post Antibody blocking.
8. Επώαση των τομών σε διάλυμα διαμινοβενζιδίνης (DAB), για 6 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον. Το χρωμογόνο αυτό χρησιμοποιείται προκειμένου να επιτευχθεί αναγνώριση των ανοσοσυμπλεγμάτων με το κοινό μικροσκόπιο.
9. Χρώση του υποστρώματος σε διάλυμα αιματοξυλίνης για να καθοριστούν τα υπόλοιπα μορφολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των ιστών ή κυττάρων.
10. Αφυδάτωση με ανιόντα διαλύματα αιθανόλης (70%, 80%, 96%, 100%).
11. Βύθιση των τομών σε ξυλόλη.
12. Επίστρωση των τομών και επικάλυψή τους με καλυπτρίδα.

Μετά το πέρας κάθε ενός από τα παραπάνω βήματα, έγινε ξέπλυμα των τομών με Wash Buffer [Envision FLET WASH BUFFER (20x), της εταιρείας Dako].

Αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης ERCC1

Η αξιολόγηση της έκφρασης της πρωτεΐνης ERCC1 βασίσθηκε στο H-score όπως η αξιολόγηση της ROS1. Υπολογίστηκε το ποσοστό των νεοπλασματικών κυττάρων με οποιαδήποτε έντασης πυρηνική χρώση και

στη συνέχεια πολλαπλασιάστηκε με την ένταση της ανοσοχρώσης. Η ένταση της χρώσης βαθμολογήθηκε με 1 βαθμό για την ήπια, 2 βαθμούς για την μέτρια και 3 βαθμούς για την έντονη ένταση. Συμπερασματικά το κάθε δείγμα έλαβε τιμές H- score από 0-300, ενώ θετική θεωρήθηκε η έκφραση του δείκτη για H- score ≥ 100 (232).

Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε δείγμα από φυσιολογικό ιστό παρωτίδας ενώ σαν αρνητικός τομές του ιστού του δείγματος με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, χωρίς την προσθήκη του πρωτογενούς αντισώματος.

RRM1

Προκειμένου να εκτιμηθεί η έκφραση της πρωτεΐνης RRM1, τομές παραφίνης πάχους 4 μ m υποβλήθηκαν στην ακόλουθη διαδικασία:

1. Ολονύκτια επώαση στους 37°C.
2. Επώαση στους 60°C για 1 ώρα την ημέρα της ανοσοχρώσης.
3. Αποπαραφίνωση, ενυδάτωση και αποκάλυψη των αντιγονικών επιτόπων σε αυτόματο μηχανήμα (PT Link της εταιρείας Dako) για 20 λεπτά στους 96°C, με τη χρήση διαλύματος υψηλού pH (pH 9) [Envision FLEX TARGET RETRIEVAL SOLUTION HIGH pH(50x), της εταιρείας Dako].
4. Εξουδετέρωση ενδογενούς υπεροξειδάσης με επώαση των τομών σε διάλυμα H₂O₂ 3% για 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον.
5. Ολονύκτια επώαση των τομών με το πρωτογενές αντίσωμα RRM1 [RRM1 (D12F12(XP)), Rabbit mAb, της εταιρείας Cell Signaling], σε αρραίωση 1:100
6. Επώαση των τομών με ειδικό αντιδραστήριο δέσμευσης του πρωτογενούς αντισώματος (Post Antibody blocking, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το

αντιδραστήριο αυτό είναι έτοιμο προς χρήση (Ready-to-use) και χρησιμοποιείται για την ενίσχυση της χρώσης και την αύξηση της ευαισθησίας.

7. Επώαση των τομών με πολυμερές αποτελούμενο από υπεροξειδάση και δευτερογενές αντίσωμα ειδικό για ανοσοσφαιρίνες ποντικού/κουνελιού/αρουραίου (Poly-HRP-Anti-mouse/rabbit/rat IgG, της εταιρείας Immunologic), για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
8. Επώαση των τομών σε διάλυμα διαμινοβενζιδίνης (DAB), για 6 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και σε σκοτεινό περιβάλλον. Το χρωμογόνο αυτό χρησιμοποιείται προκειμένου να επιτευχθεί αναγνώριση των ανοσοσυμπλεγμάτων με το κοινό μικροσκόπιο.
9. Χρώση του υποστρώματος σε διάλυμα αιματοξυλίνης για να καθοριστούν τα υπόλοιπα μορφολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά των ιστών ή κυττάρων.
10. Αφυδάτωση με ανιόντα διαλύματα αιθανόλης (70%, 80%, 96%, 100%).
11. Βύθιση των τομών σε ξυλόλη.
12. Επίστρωση των τομών και επικάλυψή τους με καλυπτρίδα.

Μετά το πέρας κάθε ενός από τα παραπάνω βήματα, έγινε ξέπλυμα των τομών με Wash Buffer [Envision FLET WASH BUFFER (20x), της εταιρείας Dako].

Αξιολόγηση της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης της πρωτεΐνης RRM1
Σε κάθε δείγμα υπολογίστηκε η ένταση της κυτταροπλασματικής χρώσης (0: απύκνω, 1: ασθενής, 2: ήπια, 3: έντονη) και το ποσοστό των θετικών νεοπλασματικών κυττάρων (0: απόντα, 1: <10%, 2: 11-50%, 3: >50%). Η

έκφραση του κάθε δείγματος προέκυψε από το γινόμενο των δύο παραμέτρων, ενώ θετικό θεωρήθηκε κάθε αποτέλεσμα ≥ 6 (199).

Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε δείγμα από αδenoκαρκίνωμα παρωτίδας ενώ σαν αρνητικός τομές του ιστού του δείγματος με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης, χωρίς την προσθήκη του πρωτογενούς αντισώματος.

2.2.2. Chromogenic In Situ Hybridization (CISH)

Η μέθοδος του in situ υβριδισμού (FISH, CISH) αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα σημεία προόδου στην κυτταρογενετική. Έχει εφαρμοστεί στην ταυτοποίηση και τον καθορισμό των χρωμοσωμικών ανωμαλιών που σχετίζονται με συγγενείς ανωμαλίες και καρκίνο και έχει αποδειχθεί πολύτιμο εργαλείο στη χαρτογράφηση γονιδίων. Η τεχνική περιλαμβάνει την παρασκευή ειδικών ανιχνευτών DNA, σημασμένων με ενσωμάτωση χημικά τροποποιημένων νουκλεοτιδίων που είτε φθορίζουν άμεσα, είτε μπορούν να ανιχνευτούν με την πρόσδεση ενός φθορίζοντος μορίου αναφοράς. Αυτοί οι μονόκλωνοι ανιχνευτές μπορούν να υβριδοποιηθούν με μεταφασικά χρωμοσώματα (όπως στις κλασικές κυτταρογενετικές τεχνικές) αλλά μπορούν να υβριδοποιηθούν επιπλέον άμεσα με ακινητοποιημένους μεσοφασικούς πυρήνες μη διαιρούμενων κυττάρων. Έτσι ενώ η κλασική κυτταρογενετική απαιτεί διαιρούμενα κύτταρα και χρωμοσώματα στη μετάφαση, με την τεχνική του in situ υβριδισμού η ανάλυση των χρωμοσωμάτων έχει επεκταθεί και στα μεσοφασικά κύτταρα. Η εφαρμογή της μεθόδου στη διάγνωση περιλαμβάνει την ανίχνευση και τον χαρακτηρισμό τόσο των αριθμητικών, όσο και των δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών στις μεταφασικές επιστρώσεις. Η μέθοδος CISH έγκειται στην χρησιμοποίηση χρωμογόνων υποστρωμάτων αντί φθορίζοντων ανιχνευτών (FISH). Παρόλο που και οι δύο τεχνικές

χρησιμοποιούν σαν βάση τους τον *in situ* υβριδισμό για τη διαπίστωση της παρουσίας ή έλλειψης τμημάτων DNA, η μέθοδος CISH είναι πολύ πιο πρακτική λόγω της χρήσης μικροσκοπίων φωτεινού πεδίου κι όχι μικροσκοπίων φθορισμού που είναι ιδιαίτερα ακριβά και περίπλοκα στη χρήση. Επίσης, καθώς τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στη CISH είναι πιο σταθερά από αυτά της FISH, προσφέροντας μόνιμη χρώση, τα δείγματα με τη μέθοδο CISH μπορούν να αποθηκευτούν και να εξετασθούν περισσότερες από μία φορές.

Στην συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος CISH προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα θετικά για τη διαμετάθεση της ROS1 πρωτεΐνης δείγματα, όπως αυτά προέκυψαν με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Για κάθε δείγμα χρησιμοποιήθηκε 1 αχρωμάτιστη τομή παραφίνης πάχους 4μm η οποία υποβλήθηκε στην ακόλουθη διαδικασία:

A. Προεπεξεργασία (αποπαραφίνωση, πρωτεόλυση)

1. Επώαση των τομών παραφίνης για 10 λεπτά στους 70° C
2. Επώαση των τομών παραφίνης για 2x5 λεπτά σε ξυλόλη
3. Επώαση των τομών παραφίνης για 3x3 λεπτά σε 100% αιθανόλη
4. Επώαση των τομών παραφίνης για 5 λεπτά σε διάλυμα 3% H₂O₂ σε μεθανόλη
5. Έκπλυση 2x1 λεπτό σε απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό
6. Οι τομές τοποθετούνται στο προθερμασμένο διάλυμα EDTA εντός υδατόλουτρου 75-80°C και επωάζονται για 15 λεπτά
7. Μεταφορά των τομών σε απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό, έκπλυση 2x2 λεπτά και στέγνωμα
8. Τοποθέτηση πεψίνης σταγονομετρικά στην τομή και επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου

9. Βύθιση των τομών σε απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό και στέγνωμα
10. Αφυδάτωση σε 70%, 90% και 100% αιθανόλη για 1 λεπτό έκαστη και ξήρανση των τομών στον αέρα

B. Αποδιάταξη και Υβριδισμός

1. Ανακίνηση του ZytoDot® 2C SPEC ROS1 Break Apart Probe (ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Germany) μοριακού ανιχνευτή και λήψη 10μL
2. Εφαρμογή του ανιχνευτή με αποφυγή φυσαλίδων και κάλυψη της τομής με καλυπτρίδα (22mm x 22mm). Μόνωση της καλυπτρίδας με ειδική κόλλα
3. Αποδιάταξη του DNA στόχου και του μοριακού ανιχνευτή με θέρμανση των τομών σε 78-80°C για 5 λεπτά
4. Μεταφορά των τομών σε κλίβανο 37 °C και υβριδισμός ολονύκτια για 16-20 ώρες

Γ. Μετα-υβριδισμός και Ανίχνευση

1. Απομάκρυνση της ειδικής κόλλας
2. Απομάκρυνση της καλυπτρίδας με εμβάπτιση σε διάλυμα έκπλυσης SSC σε θερμοκρασία δωματίου για λεπτά
3. Έκπλυση των τομών σε προθερμασμένο SSC σε υδατόλουτρο 75-80 °C για 5 λεπτά
4. Έκπλυση για 2x1 λεπτά σε απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό
5. Βύθιση των τομών σε 1x διάλυμα έκπλυσης TBS και στέγνωμα
6. Εφαρμογή του μείγματος αντισωμάτων έναντι της διγιξιγενίνης και του δικτροφαινυλίου σταγονομετρικά (3-4

σταγόνες/τομή) στις τομές και επώαση για 15 λεπτά σε κλίβανο 37 °C

7. Έκπλυση 3x1 λεπτά στο TBS και στέγνωμα
8. Εφαρμογή του μείγματος αντισωμάτων που φέρουν τα ένζυμα HRP και AP σταγονομετρικά (3-4 σταγόνες/τομή) στις τομές και επώαση για 15 λεπτά σε κλίβανο 37 °C
9. Έκπλυση 3x1 λεπτά στο TBS
10. Εφαρμογή του κόκκινου χρωμογόνου, του υποστρώματος της AP για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
11. Έκπλυση 3x1 λεπτά σε απεσταγμένο νερό
12. Εφαρμογή του πράσινου χρωμογόνου, του υποστρώματος της HRP για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου
13. Έκπλυση 3x1 λεπτά σε απεσταγμένο νερό
14. Χρώση των τομών με διάλυμα NuclearBlue για 2 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Με το διάλυμα NuclearBlue χρωματίζεται ο ιστός, γεγονός που επιτρέπει την ιστολογική εκτίμηση
15. Έκπλυση με τρεχούμενο νερό για 2 λεπτά
16. Αφυδάτωση με 100% αιθανόλη για 3x30 δευτερόλεπτα
17. Βύθιση σε ξυλόλη για 2x30 δευτερόλεπτα, επικάλυψη με ειδικό διάλυμα επίστρωσης (alcoholic mounting solution) και εφαρμογή καλυπτρίδας

Αξιολόγηση της μεθόδου CISH για τη διαμετάθεση ROS1

Η αξιολόγηση έγινε με τη χρήση μικροσκοπίου φωτεινού πεδίου με ανάλυση μεγέθυνσης 60x. Θετικά για τη διαμετάθεση θεωρήθηκαν τα κύτταρα στα οποία ανιχνεύονταν ένα πράσινο σήμα σε απόσταση από το κόκκινο, ή ένα πράσινο σήμα χωρίς την παρουσία κόκκινου σήματος, υπό την προϋπόθεση ότι το δεύτερο πράσινο σήμα, φυσιολογικά βρισκόταν,

πλησίον του του κόκκινου σήματος. Ένα δείγμα θεωρήθηκε θετικό όταν το ποσοστό των θετικών κυττάρων ξεπερνούσε το 15% των καταμετρημένων νεοπλασματικών .

2.3. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με σκοπό τη διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ της έκφρασης του βιοδείκτη PD-L1 και του μοριακού προφίλ του νεοπλάσματος καθώς και των κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών του εκάστοτε ασθενούς. Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε με τον στατιστικό έλεγχο Fisher test (two tailed Fisher's exact test), και συγκεκριμένα με τη δοκιμή Chi-square (χ^2) για τις κατηγορικές μεταβλητές. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας α ορίστηκε στο 0,05 (5%).

Η κανονικότητα της κατανομής των μεταβλητών ελέγχθηκε με το τεστ Kolmogorov-Smirnov, ώστε να εφαρμοστεί η χρήση παραμετρικών ή όχι δοκιμασιών. Οι διαφορές στην ολική επιβίωση μεταξύ των ομάδων των ασθενών διερευνήθηκαν με τη στατιστική ανάλυση log rank statistics ενώ για τις καμπύλες επιβίωσης χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier. Για την πολυπαραγοντική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο αναλογικού κινδύνου Cox με σκοπό την ανάδειξη των ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων επιβίωσης για τους ασθενείς. Κατά την πολυπαραγοντική ανάλυση Cox αναδείχθηκε η αναλογία κινδύνου (hazard ratio-HR) και το διάστημα εμπιστοσύνης 95% (95% CI) για την κάθε παράμετρο που εξετάστηκε. Η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα στατιστικής ανάλυσης SPSS έκδοση 25.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

3. Αποτελέσματα

3.1. Χαρακτηριστικά ασθενών

Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν 220 ασθενείς με μη ΜΜΚΠ. Η μέση ηλικία κατά τη στιγμή της διάγνωσης ήταν τα 66 έτη (εύρος 24-96 έτη) ενώ η μέση ολική επιβίωση ήταν 22 μήνες. Παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό ανδρών (81%, 178/220), με λόγο άρρεν:θήλυ 4.2:1. Τα δείγματα ταξινομήθηκαν ως αδενοκαρκινώματα (65%, 142/220), πλακώδη καρκινώματα (27%, 60/220) ή ΜΜΚΠ μη περαιτέρω ταυτοποιούμενα-NOS (8%, 18/220) σύμφωνα με την International Association for the study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma/2011, WHO 4th edition 2015. Τα ιστολογικά δείγματα των ασθενών αφορούσαν κυρίως σε βιοψίες από σημεία της ανατομικής περιοχής του θώρακα (πνεύμονες, λεμφαδένες, οστά πλευρών) σε ποσοστό 75% (165/220) και σε χειρουργικά παρασκευάσματα (19%, 41/220). Ωστόσο ένας μικρός αριθμός (6%, 14/220), αφορούσε σε βιοψίες από απομακρυσμένες μεταστατικές εστίες (εγκέφαλος, μηριαίο οστό). Η κατάταξη του κλινικού σταδίου των ασθενών έγινε με βάση την 8^η έκδοση της κατάταξης TNM για τον καρκίνο του πνεύμονα και είχε ως εξής: στάδιο IA=3, IB=6, IIA=2, IIB=6, IIIA=8, IIIB=9, IVA=133, IVB=53. Το ιστορικό καπνίσματος ήταν γνωστό για όλους τους ασθενείς: οι καπνιστές και οι πρώην καπνιστές θεωρήθηκαν θετικοί για το ιστορικό καπνίσματος ενώ οι πρώην καπνιστές με διακοπή μεγαλύτερη των 10 ετών και όσοι δεν κάπνισαν ποτέ, θεωρήθηκαν αρνητικοί. Όσον αφορά τη θεραπευτική προσέγγιση, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ομάδες με βάση τη λήψη ή όχι ανοσοθεραπείας (pembrolizumab). Η ομάδα που δεν έλαβε ανοσοθεραπεία περιλάμβανε

ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα ή TKIs (tyrosine kinase inhibitor). Ανοσοθεραπεία χορηγήθηκε αποκλειστικά σε ασθενείς με θετική έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης, υψηλή ή χαμηλή. Συγκεκριμένα σαν θεραπεία πρώτης γραμμής δόθηκε σε 20 ασθενείς οι οποίοι παρουσίαζαν υψηλή έκφραση του βιοδείκτη ($TPS \geq 50\%$), εκ των οποίων 15 είχαν ταυτόχρονα μετάλλαξη του KRAS γονιδίου και σαν θεραπεία δεύτερης/τρίτης γραμμής σε 35 ασθενείς με χαμηλή έκφραση του βιοδείκτη ($50\% > TPS \geq 1\%$), στους οποίους περιλαμβάνονταν 9 με KRAS μετάλλαξη. Συνολικά, 14 ασθενείς με υψηλή και 47 με χαμηλή έκφραση του PD-L1 δεν έλαβαν ανοσοθεραπεία με pembrolizumab. Η ολική επιβίωση των ασθενών αντιπροσωπεύει τον χρόνο σε μήνες από τη στιγμή της επέμβασης-βιοψίας μέχρι τη στιγμή του θανάτου από οποιαδήποτε αιτιολογία. Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών παρουσιάζονται στον [πίνακα 13](#).

Στην συγκεκριμένη μελέτη των 220 ασθενών, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στο φύλο και την ηλικία των ασθενών ($p < 0,001$), καθώς η πλειοψηφία των γυναικών (69%, 29/62) ήταν νεότερες από τη μέση ηλικία των 66 ετών. Επίσης το φύλο συσχετίστηκε με τον ιστολογικό τύπο του νεοπλάσματος ($p = 0,045$) και το ιστορικό καπνίσματος ($p < 0,001$) καθώς οι άνδρες εμφάνισαν σημαντικά συχνότερα πλακώδες καρκίνωμα (31% ,55/178) σε σχέση με τις γυναίκες (12%, 5/42) και ήταν συχνότερα καπνιστές (85%, 152/178) σε σχέση με τις γυναίκες (55%, 23/42). Τέλος, το στάδιο νόσου συσχετίστηκε με το ιστορικό καπνίσματος καθώς οι ασθενείς σταδίου IV φάνηκε να είναι συχνότερα καπνιστές ($p < 0,001$).

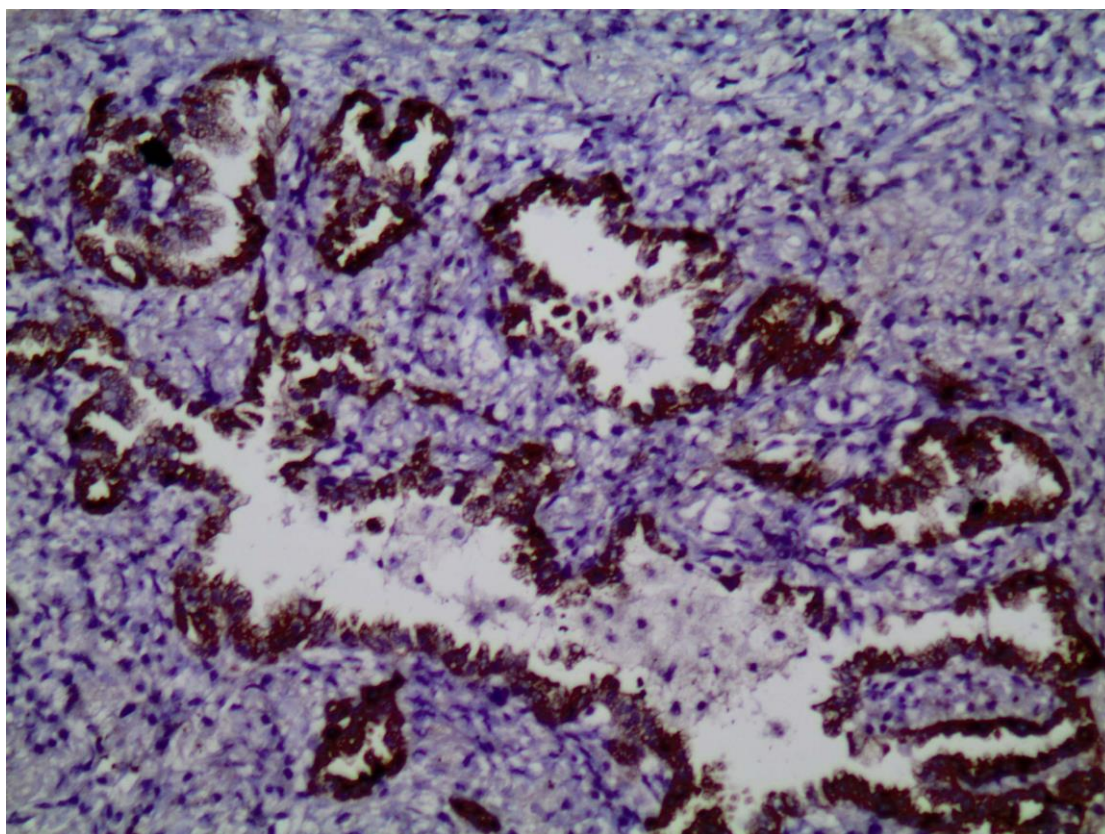
Πίνακας 13. Κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών

Χαρακτηριστικό	Ασθενείς	Χαρακτηριστικό	Ασθενείς
Σύνολο	220		
Φύλο		Ιστολογικός τύπος	
Γυναίκες	42	Αδενοκαρκίνωμα	142
Άνδρες	178	Πλακώδες καρκίνωμα	60
Ηλικία		NSCLC NOS	18
Μέση (εύρος) σε έτη	66 (24-96)	Στάδιο νόσου	
Ιστορικό καπνίσματος		IA	3
Καπνιστές	175	IB	6
Μη καπνιστές	45	IIA	2
Βαθμός διαφοροποίησης		IIB	6
Χαμηλός	158	IIIA	8
Μέσος-Υψηλός	62	IIIB	9
Θεραπεία		IVA	133
Pembrolizumab	55	IVB	53
Άλλη (ΧΜΘ, TKIs)	165		

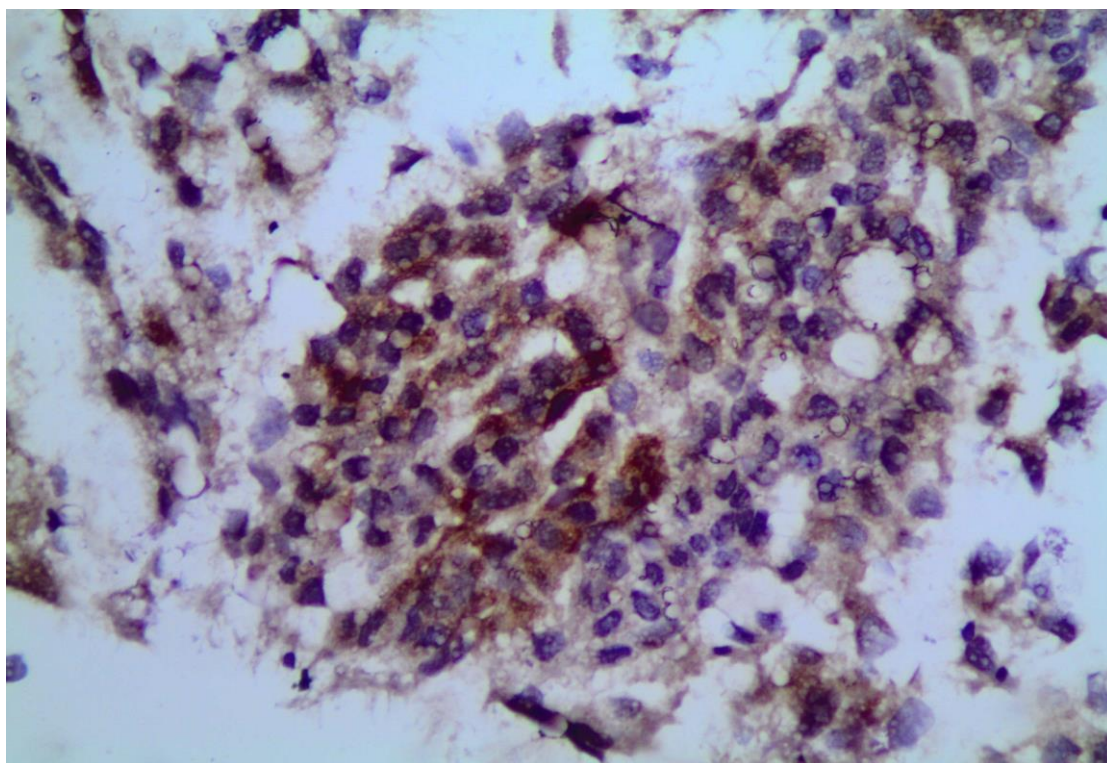
NSCLC NOS, (non-small cell lung cancer not otherwise specified): Μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα μη περαιτέρω ταυτοποιούμενο.

3.2 Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής μελέτης των βιοδεικτών ROS1, ERCC1, RRM1 με το μοριακό προφίλ του όγκου και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών

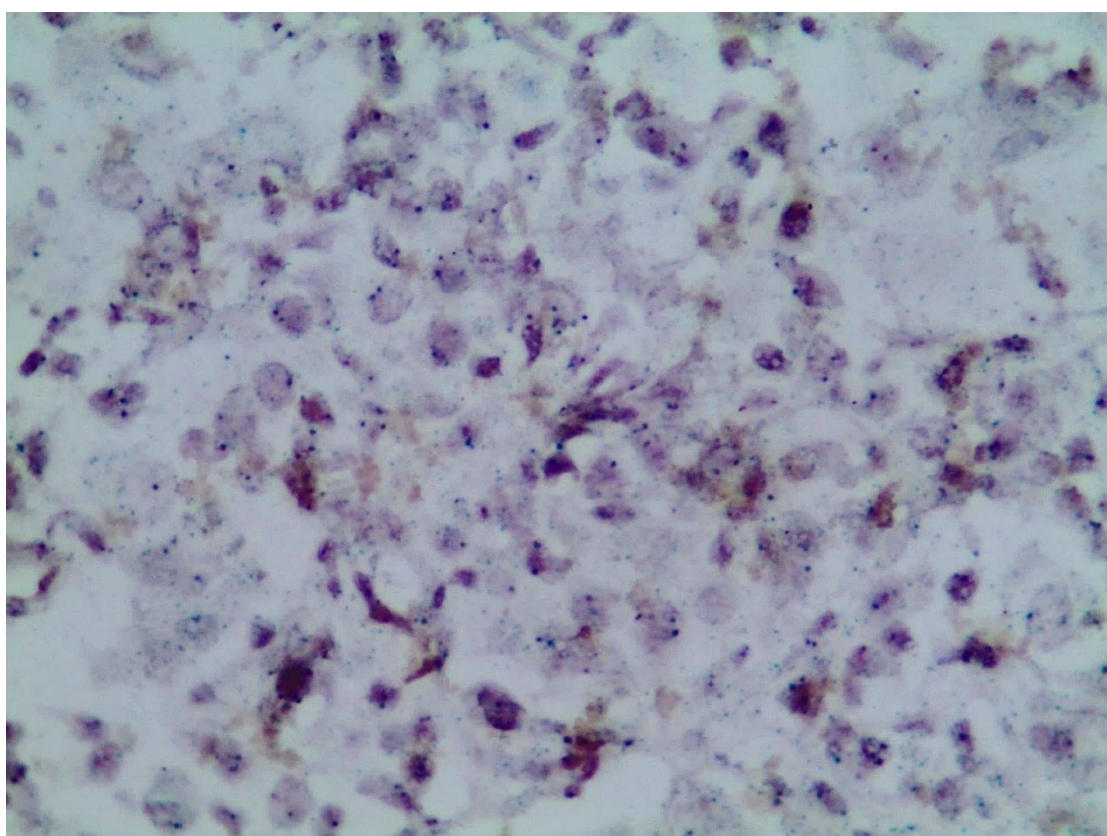
Η ύπαρξη διαμετάθεσης ROS1 εξετάστηκε σε 115 δείγματα ασθενών με 2 εξ αυτών (1.7%) να είναι θετικά (εικόνα 25A,B) τόσο ανοσοϊστοχημικά (H-scores 200 και 300) όσο και με τη μέθοδο του in situ υβριδισμού (CISH) (εικόνα 26A,B,Γ,Δ). Και τα δύο δείγματα ήταν αδenoκαρκινώματα σταδίου IVB σε ασθενείς μικρότερης ηλικίας από τη μέση των 66 ετών και χωρίς ιστορικό καπνίσματος. Η ROS1 διαμετάθεση δεν συνυπήρχε με καμία άλλη μοριακή ή ανοσοϊστοχημική μεταλλαγή ($p < 0.001$).



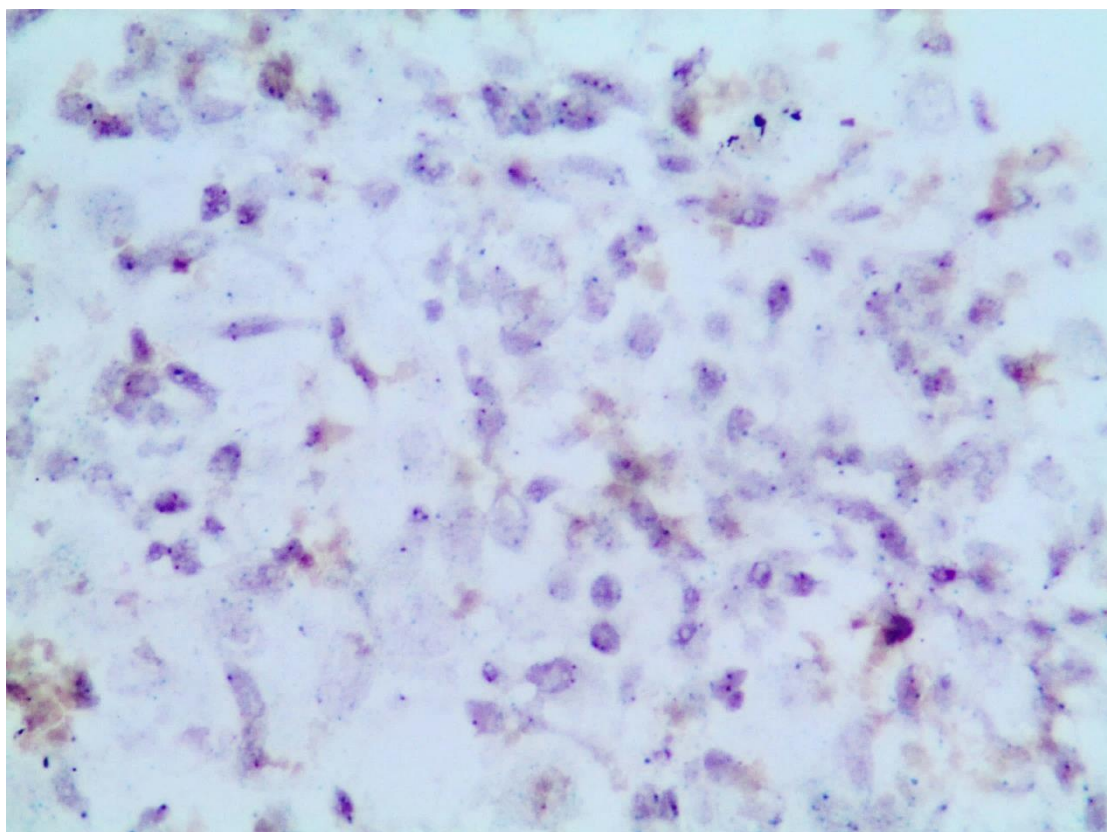
Εικόνα 25A. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ROS1 πρωτεΐνης με H-score 300 (x20)



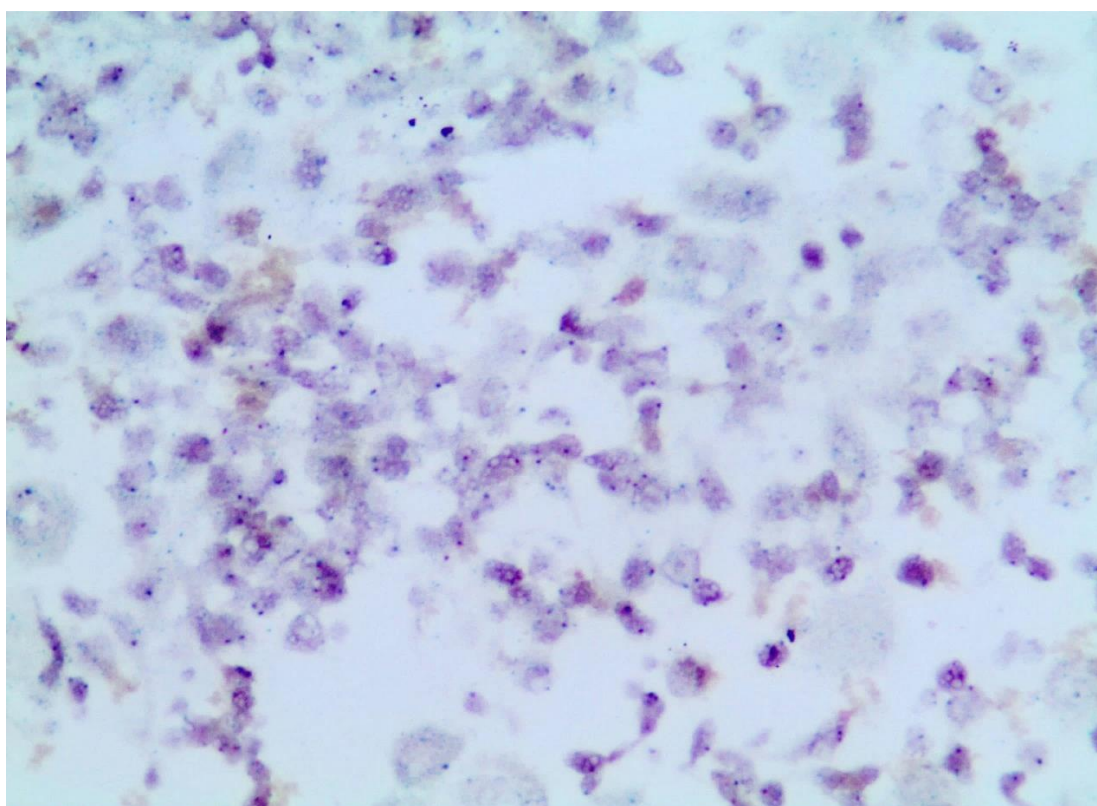
Εικόνα 25B. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ROS1 πρωτεΐνης με H-score 200 (x40)



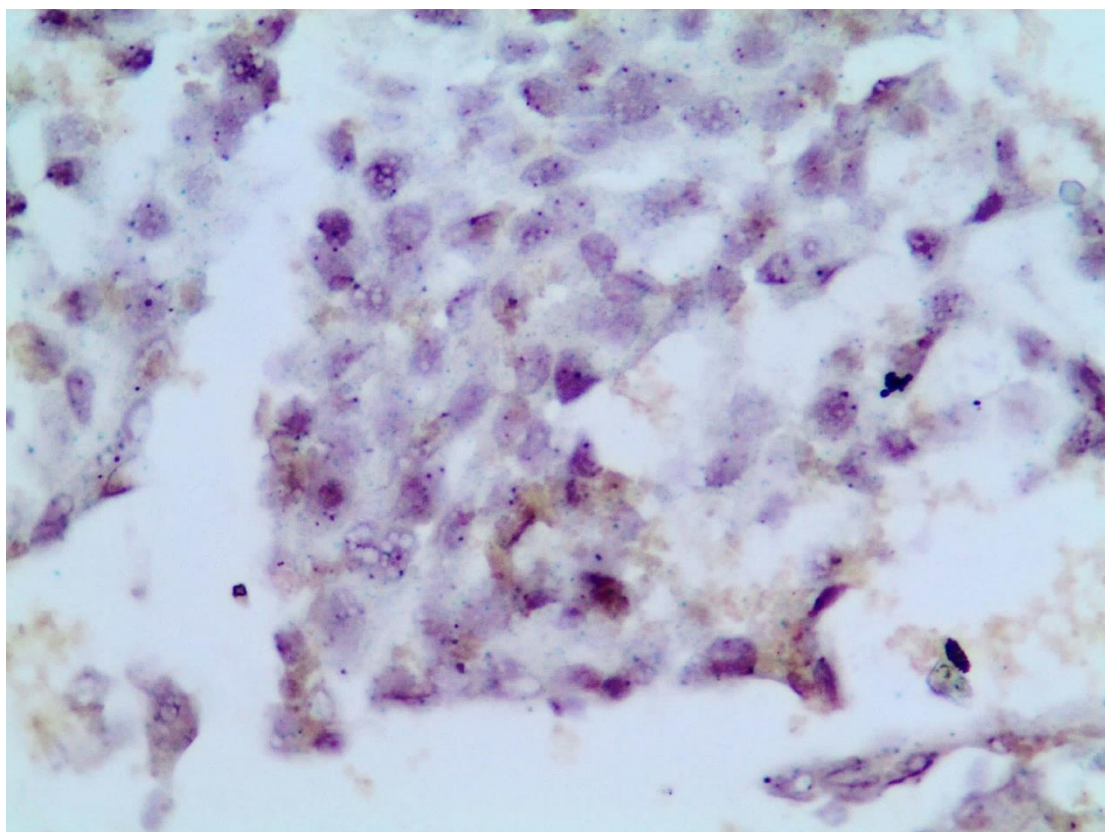
Εικόνα 26A. CISH με θετικό αποτέλεσμα για τη ROS1 διαμετάθεση (x60)



Εικόνα 26B. CISH με θετικό αποτέλεσμα για τη ROS1 διαμετάθεση (x60)

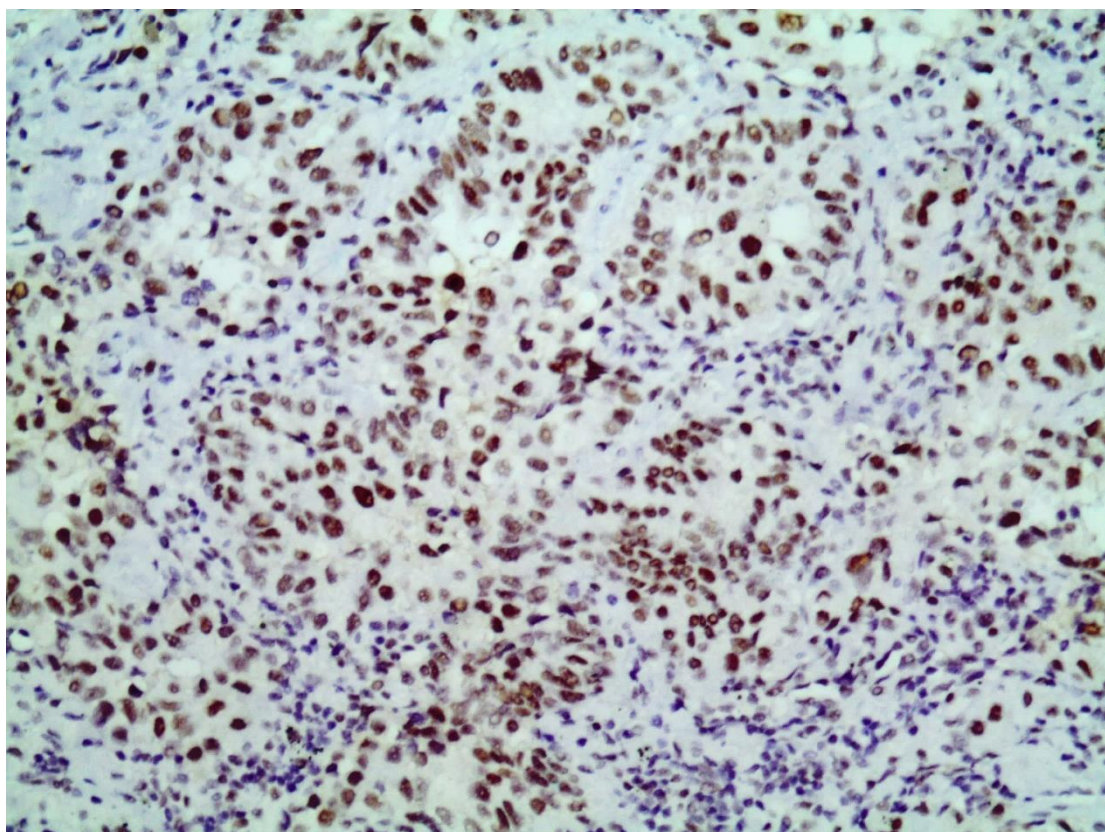


Εικόνα 26Γ. CISH με θετικό αποτέλεσμα για τη ROS1 διαμετάθεση (x60)

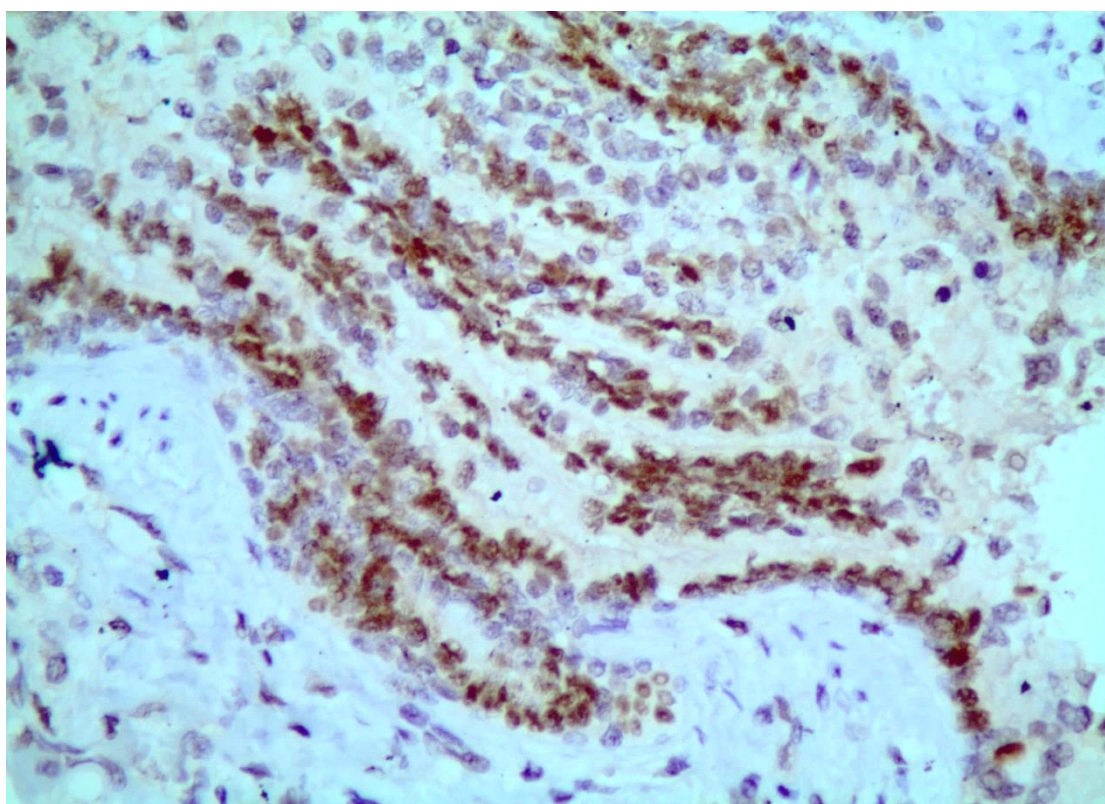


Εικόνα 26Δ. CISH με αρνητικό αποτέλεσμα για τη ROS1 διαμετάθεση (x60)

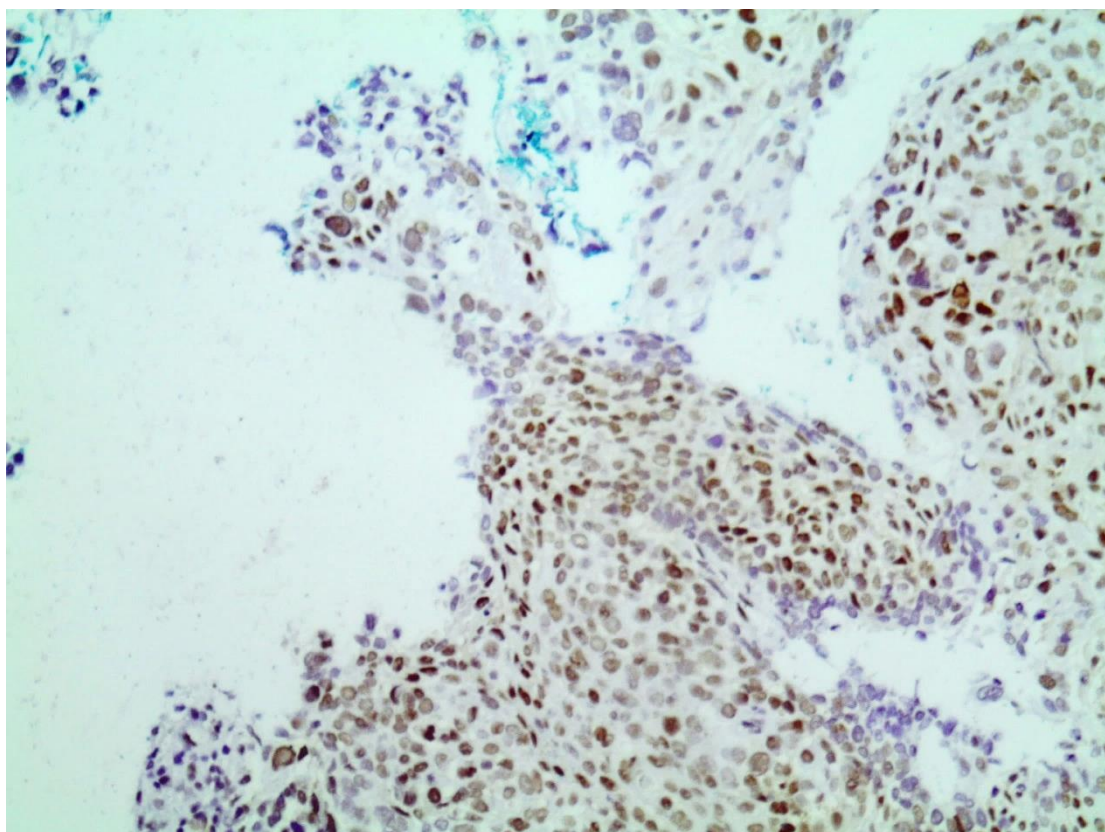
Η ανοσοϊστοχημική μελέτη της πρωτεΐνης ERCC1 πραγματοποιήθηκε σε 115 δείγματα ασθενών, με ποσοστό θετικότητας 46,1% (53/115). Η βαθμολόγηση των θετικών δειγμάτων ήταν η ακόλουθη: 13 δείγματα είχαν H-score μεταξύ 100-150, 22 δείγματα μεταξύ 150-200, 12 μεταξύ 200-250 και 6 από 250-300 (εικόνα 27Α,Β,Γ). Η έκφραση της πρωτεΐνης ERCC1 σημειώθηκε συχνότερα σε άνδρες (35/53, 66%), σε ασθενείς καπνιστές (40/53, 75%) ενώ ελαφρά συχνότερη ήταν η συχνότητα σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα (30/53, 57%).



Εικόνα 27Α. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ERCC1 πρωτεΐνης με H-score 300 (x20)

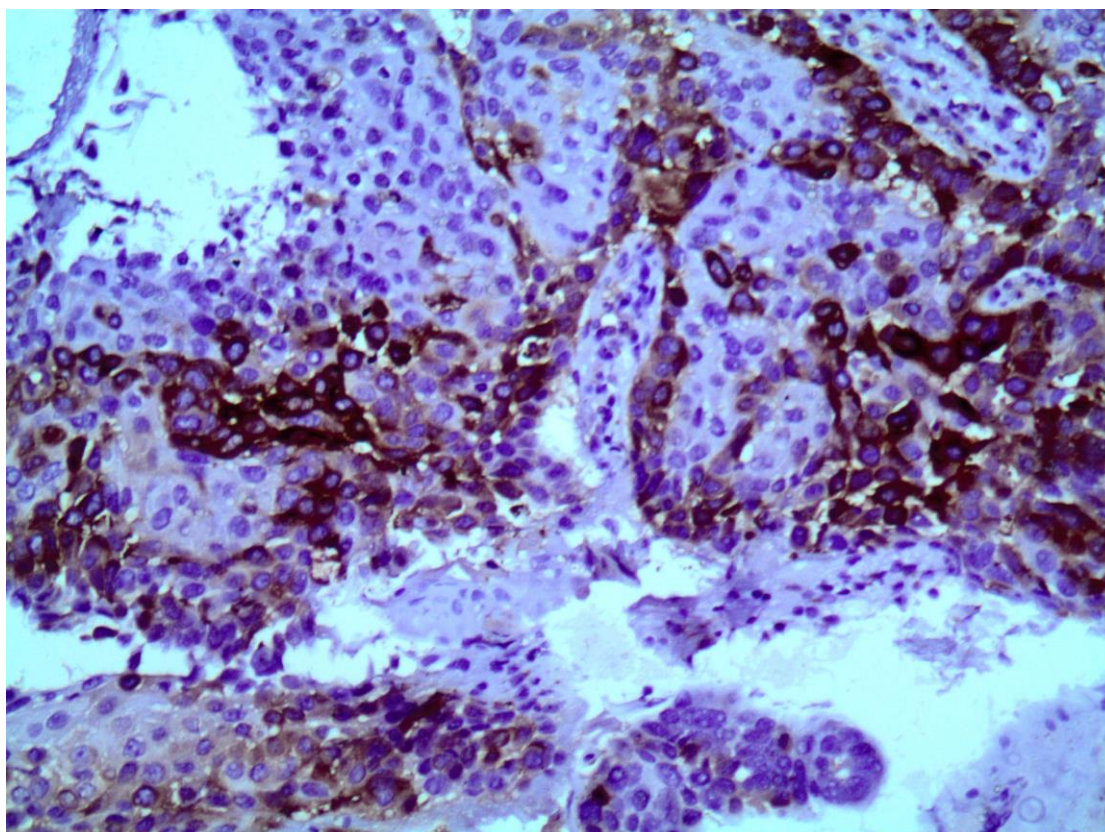


Εικόνα 27Β. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ERCC1 πρωτεΐνης σε καλής διαφοροποίησης αδενοκαρκίνωμα με H-score 240 (x40)

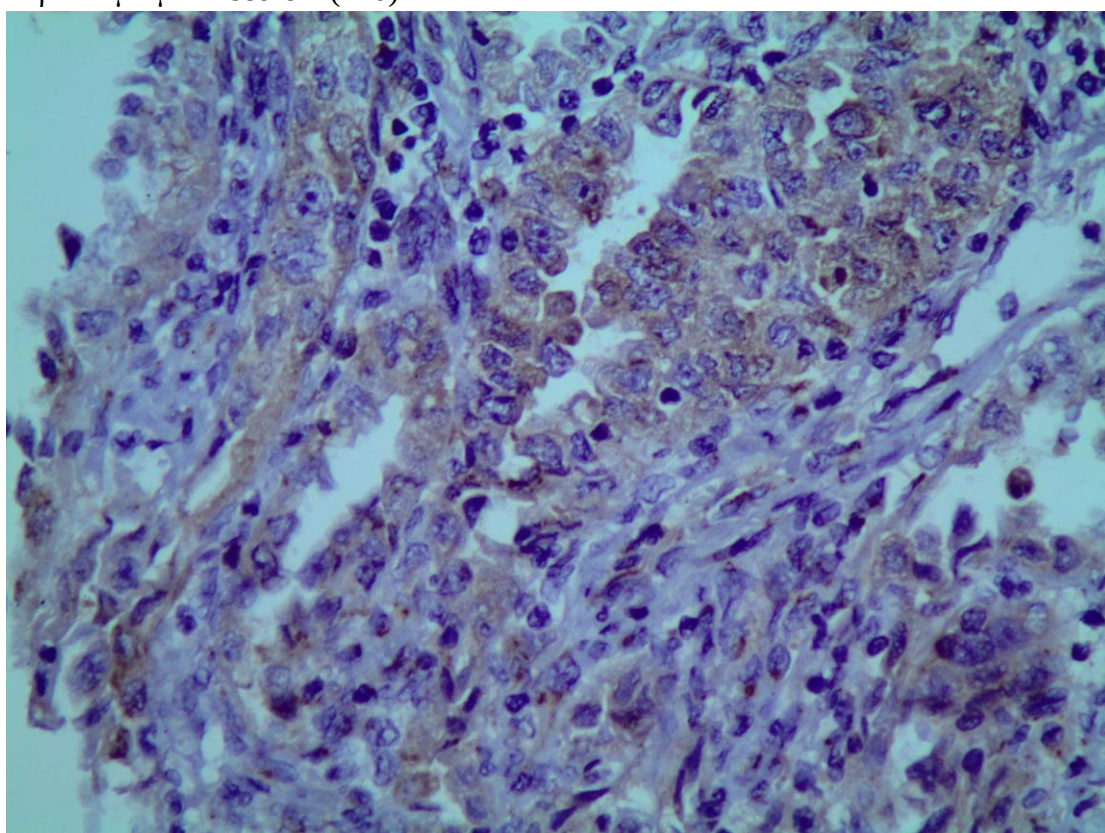


Εικόνα 27Γ. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της ERCC1 πρωτεΐνης σε πλακώδες καρκίνωμα με H-score 250 (x20)

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη της πρωτεΐνης RRM1 πραγματοποιήθηκε επιτυχώς σε 115 δείγματα (**εικόνα 28Α,Β**). Έκφραση της πρωτεΐνης σημειώθηκε σε 57/115 δείγματα (49,6%), τα οποία αφορούσαν συχνότερα σε άνδρες (42/57, 73,6 %), καπνιστές (31/57, 54%), μεγαλύτερους από τη μέση ηλικία της κοορτής (33/57, 57,8%) και με ιστολογικούς τύπους εκτός αδενοκαρκινώματος (30/57, 52,6%). Από τις ανωτέρω παρατηρούμενες συσχετίσεις, στατιστικά σημαντική βρέθηκε αυτή με το ανδρικό φύλο ($p= 0.026$).



Εικόνα 28Α. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της RRM1 πρωτεΐνης σε πλακώδες καρκίνωμα με H-score 7 (x20)



Εικόνα 28Β. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της RRM1 πρωτεΐνης σε πλακώδες καρκίνωμα με H-score 8 (x40)

Μεταλλάξεις στο γονίδιο του EGFR παρατηρήθηκαν σε 18 δείγματα από το σύνολο των 220 που εξετάστηκαν (8.2%). Μεταξύ των ανωτέρω μεταλλάξεων η πιο συχνά παρατηρούμενη ήταν η διαγραφή στο εξώνιο 19 καθώς ταυτοποιήθηκε στις 12 από τις 18 περιπτώσεις (66%). Επιπλέον 3 δείγματα (17%, 3/18) εμφάνισαν μετάλλαξη στο εξώνιο 21, όλα εκ των οποίων είχαν την μετάλλαξη p.Leu858Arg ενώ οι υπόλοιπες 3 περιπτώσεις αφορούσαν εισαγωγές στο εξώνιο 20. Οι μεταλλάξεις του EGFR δεν συνυπήρχαν με τις μεταλλάξεις του KRAS σε κανένα δείγμα ($p < 0.001$). Στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τα υπόλοιπα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά δεν ανευρέθησαν.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο του KRAS παρατηρήθηκαν στο 28% (62/220) των ασθενών που εξετάστηκαν, ενώ η πιο συχνά παρατηρούμενη μετάλλαξη ήταν η c. 34G>T (p.Gly12Cys) στο κωδικόνιο 12 (89%, 55/62). Η παρουσία μεταλλάξεων στο KRAS συσχετίστηκε με το ιστορικό καπνίσματος ($p = 0.004$), αφού η πλειονότητα των ασθενών με KRAS μεταλλάξεις (98%, 61/62) ήταν καπνιστές, καθώς και με τον ιστολογικό τύπο ($p = 0.009$). Τα KRAS θετικά δείγματα, κυρίως αδενοκαρκινώματα (87%, 54/62), δεν είχαν άλλη στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά που εξετάστηκαν.

Ο μοριακός έλεγχος για τις μεταλλάξεις BRAF έγινε σε 115 δείγματα, 3 εκ των οποίων (2,6%, 3/115) ήταν θετικά για την μετάλλαξη και συγκεκριμένα για την c.1799 T>A (p.Val600Glu). Τέλος ο ανοσοϊστοχημικός έλεγχος για την παρουσία της διαμετάθεσης ALK ανέδειξε 11 θετικά δείγματα (11/200, 5.5%) τα οποία επιβεβαιώθηκαν και με τη μέθοδο του ins situ υβριδισμού (FISH).

Στους πίνακες 14 και 15 που ακολουθούν συνοψίζονται το μοριακό/ανοσοϊστοχημικό προφίλ των ασθενών καθώς και οι συσχετίσεις που προέκυψαν κατά τη στατιστική ανάλυση.

Πίνακας 14. Μοριακό και ανοσοϊστοχημικό προφίλ των ασθενών

Μεταλλαγή	Ασθενείς	
	(n)	(%)
ROS1 διαμετάθεση		
Απουσία	113/115	98,3
Παρουσία	2/115	1,7
ERCC1 έκφραση		
Απουσία	62/115	53,9
Παρουσία	53/115	46,1
RRM1 έκφραση		
Απουσία	58/115	50,4
Παρουσία	57/115	49,6
EGFR μετάλλαξη		
Απουσία	202/220	91,8
Παρουσία	18/220	8,2
KRAS μετάλλαξη		
Απουσία	158/220	72
Παρουσία	62/220	28
BRAF μετάλλαξη		
Απουσία	112/115	97,3
Παρουσία	3/115	2,6
ALK διαμετάθεση		
Απουσία	189/200	94,5
Παρουσία	11/200	5,5

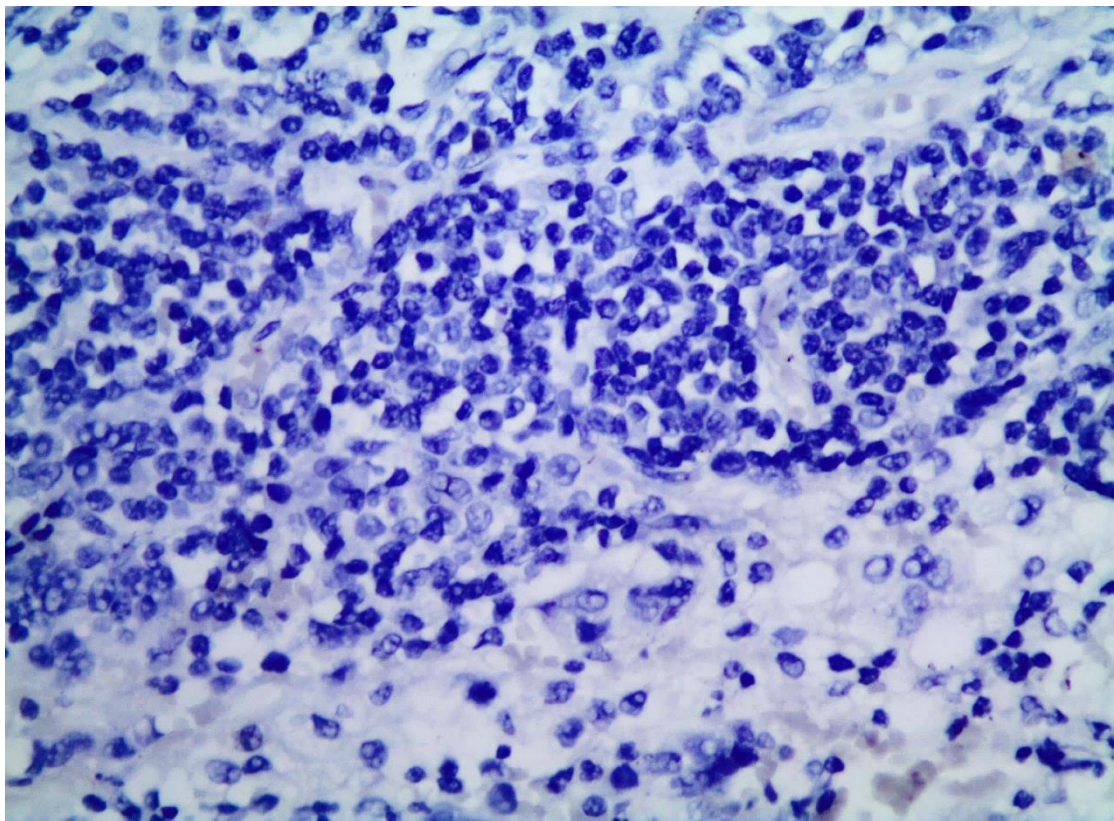
Πίνακας 15. Στατιστικές συσχετίσεις (p) ανάμεσα στις μεταλλάξεις και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών

	ROS1	ERCC1	RRM1	EGFR	KRAS	BRAF	ALK
ΦΥΛΟ	<u>0.004</u>	0.090	<u>0.026</u>	0.328	0.657	0.393	0.883
ΗΛΙΚΙΑ	0.851	0.562	0.096	0.910	0.114	0.124	0.610
ΙΣΤΟΛΟΓ.ΤΥΠΟΣ	0.569	0.120	0.256	0.885	<u>0.009</u>	0.496	0.271
ΣΤΑΔΙΟ	0.636	0.712	0.698	0.162	0.643	0.539	0.312
ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗ	0.523	0.633	0.331	0.825	0.167	0.978	0.963
ΚΑΠΝΙΣΜΑ	0.539	0,212	0.114	0.421	<u>0.004</u>	0.407	0.080

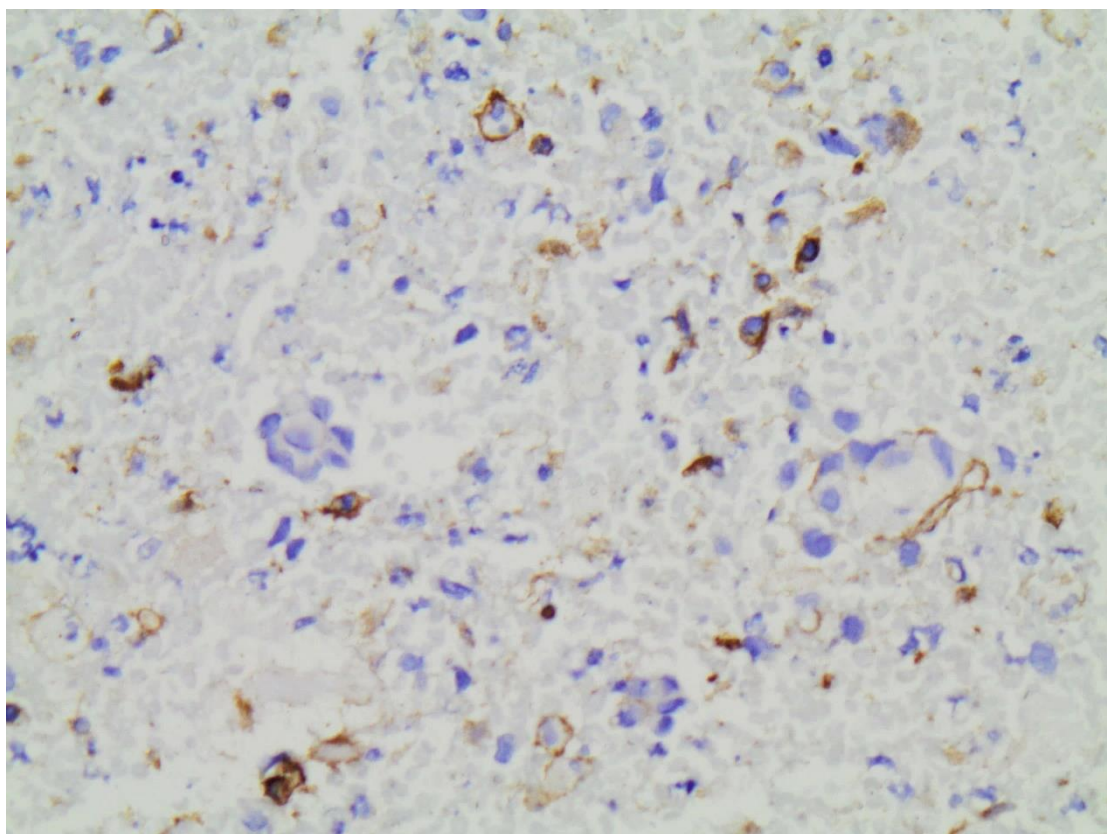
3.3. Συσχέτιση των αποτελεσμάτων της ανοσοϊστοχημικής μελέτης του βιοδείκτη PD-L1 με το μοριακό προφίλ του όγκου και τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών.

Η έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης εκτιμήθηκε επιτυχώς και στους 220 ασθενείς της μελέτης (εικόνα 29A,B,Γ,Δ). Συνολικά σε 34 (15.4%) από αυτούς, παρατηρήθηκε υψηλή έκφραση του βιοδείκτη με TPS μεγαλύτερο του 50%, σε 82 (37.3%) παρατηρήθηκε χαμηλή έκφραση με TPS ανάμεσα σε 1 - 49% ενώ 104 (47.3%) ήταν αρνητικοί για την έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης. Η υψηλή έκφραση του βιοδείκτη σημειώθηκε συχνότερα σε γυναίκες απ' ότι σε άνδρες (21% έναντι 14%) και σε καπνιστές απ' ότι σε μη (17% έναντι 9%). Όσον αφορά τις συσχετίσεις με το μοριακό προφίλ, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης και της παρουσίας μεταλλάξεων KRAS ($p < 0.001$), καθώς οι ασθενείς με θετική έκφραση PD-L1, τόσο υψηλή όσο και

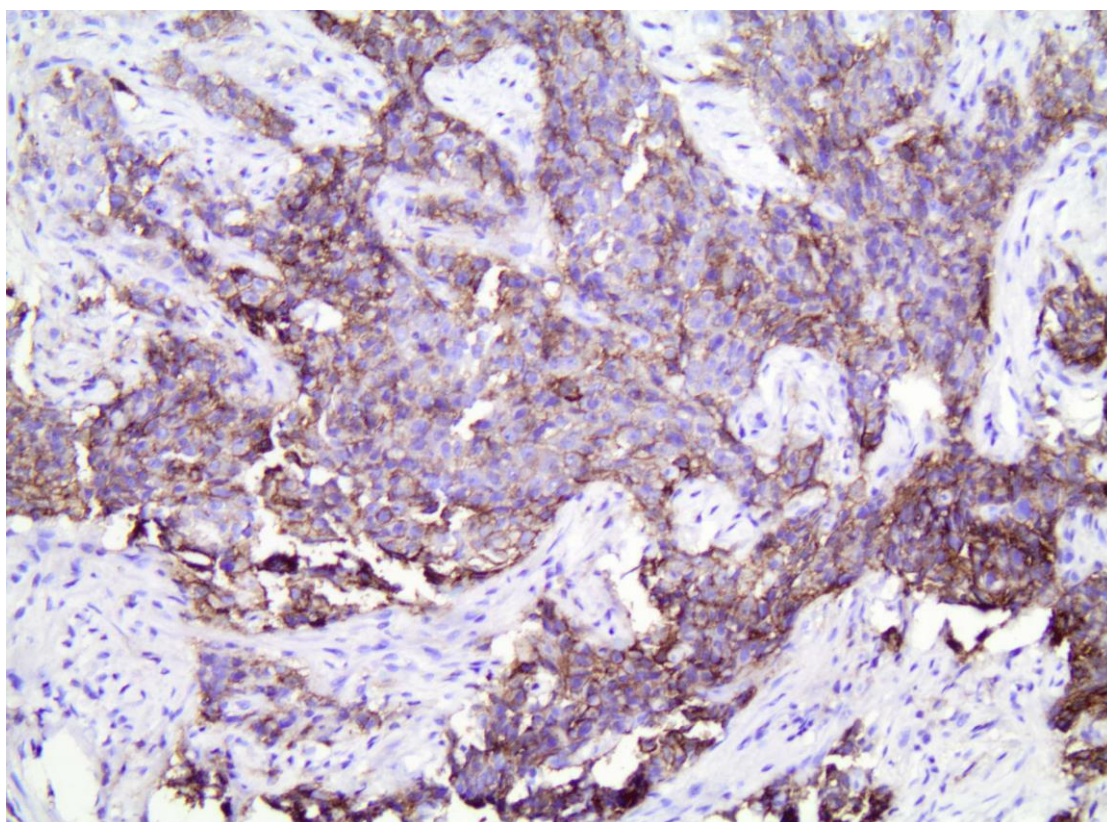
χαμηλή, έφεραν συχνότερα κάποια KRAS μετάλλαξη. Συγκεκριμένα, 24 (39%, 24/62) KRAS μεταλλαγμένα δείγματα είχαν ταυτόχρονα υψηλή έκφραση του PD-L1, 20 (32%, 20/62) είχαν χαμηλή έκφραση και 18 (29%, 18/62) δεν είχαν καθόλου. Δεν σημειώθηκαν άλλες στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της έκφρασης του PD-L1 και των υπολοίπων μοριακών μεταλλαγών που εξετάστηκαν καθώς και των κλινικών χαρακτηριστικών των ασθενών (πίνακας 16).



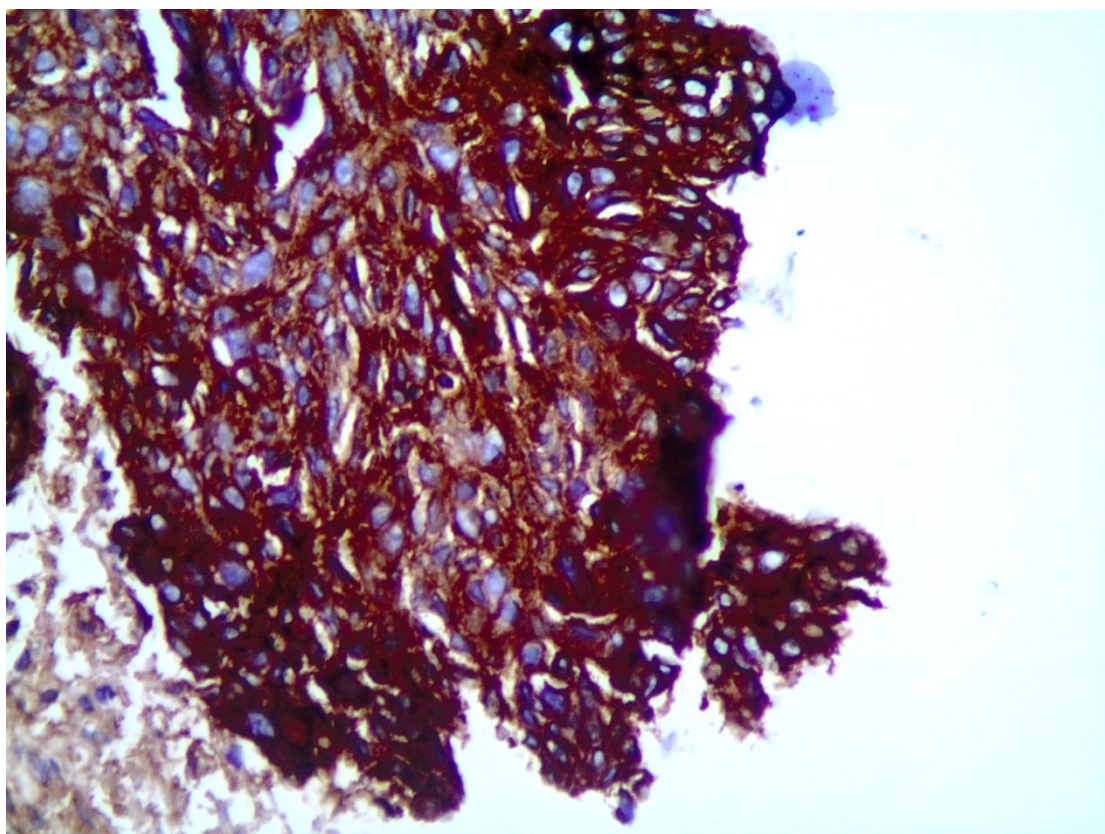
Εικόνα 29Α. Αρνητική ανοσοϊστοχημική έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης (TPS 0%) (x20)



Εικόνα 29Β. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης (TPS 5%) (x40)



Εικόνα 29Γ. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης (TPS 95%) (x20)



Εικόνα 29Δ. Ανοσοϊστοχημική έκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης (TPS 100%) (x40)

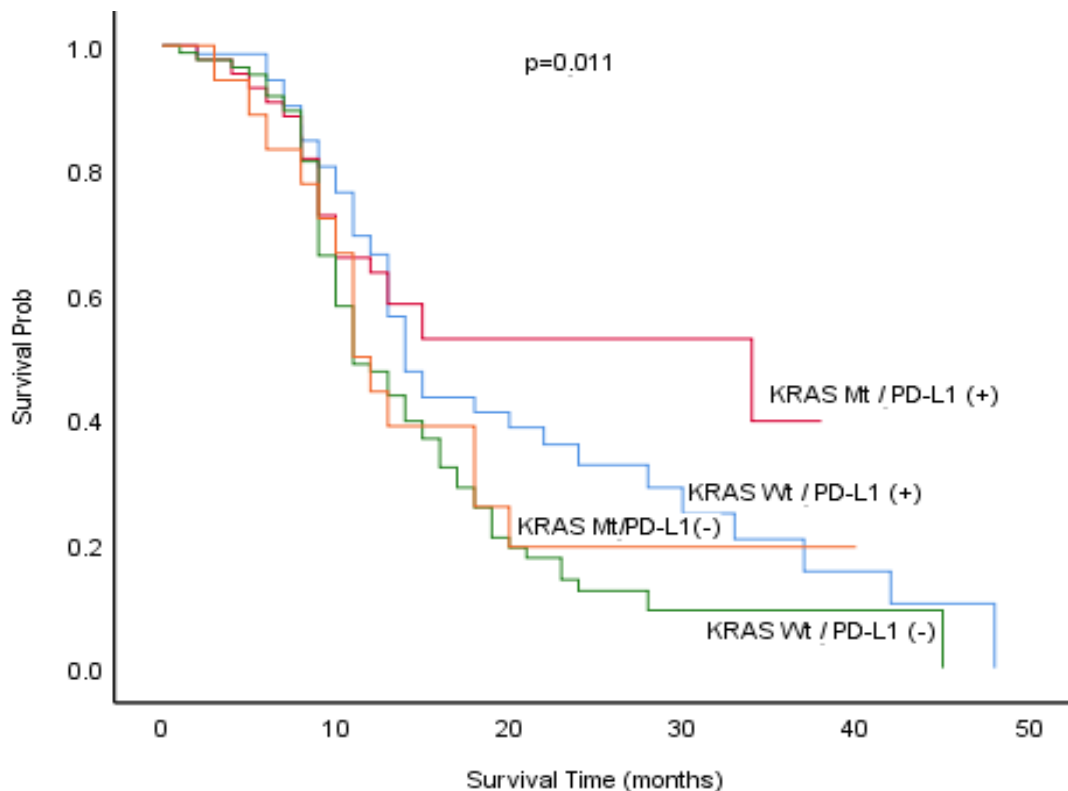
Πίνακας 16. Έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1- συσχέτιση με τα κλινικο-παθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών

		PD-L1<1%		1%≤PDL1<50%		PD-L1≥50%		p
		N	%	N	%	N	%	
		104	47.3	82	37.3	34	15.4	
Ηλικία	<66	45	41	42	38	23	21	0.3
	>66	59	54	40	36	11	10	
Φύλο	Άνδρες	88	49	65	37	25	14	0.3
	Γυναίκες	16	38	17	40	9	21	
Κάπνισμα	Μη	25	56	16	35	4	9	0.3
	καπνιστές							
	Καπνιστές	79	45	66	38	30	17	

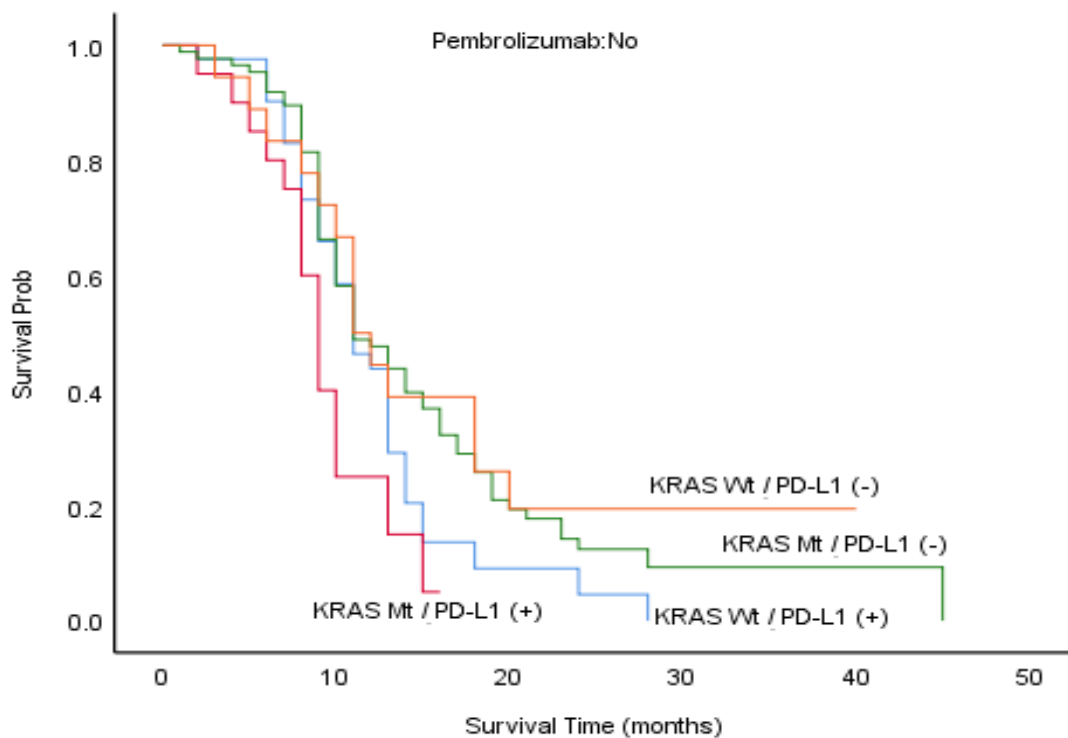
Στάδιο	I	3	33	5	56	1	11	0.8
	II	4	50	2	25	2	25	
	III	2	50	2	50	0	0	
	IV	89	48	66	35	31	17	
Grade	Υψηλό	79	50	55	35	24	15	0.1
	Χαμηλό	25	40	27	44	10	16	
Ιστολογικός	Αδενο Ca	63	44	56	40	23	16	0.6
Τύπος	Πλακώδες	32	53	21	35	7	12	
	NSCLC- NOS	9	50	5	28	4	22	
EGFR	Απουσία	96	48	73	36	33	16	0.3
μετάλλαξη	Παρουσία	8	44	9	50	1	6	
KRAS	Απουσία	86	55	62	39	10	6	<u><0.001</u>
μετάλλαξη	Παρουσία	18	29	20	32	24	39	
BRAF	Απουσία	44	39	42	38	26	23	0.5
μετάλλαξη	Παρουσία	1	33	2	67	0	0	
ALK	Απουσία	89	47	67	35	33	18	0.3
διαμετάθεση	Παρουσία	6	55	5	45	0	0	
ROS1	Απουσία	43	38	48	42	22	20	0.4
διαμετάθεση	Παρουσία	0	0	1	50	1	50	
ERCC1	Απουσία	28	46	18	29	16	25	0.2
μετάλλαξη	Παρουσία	25	47	17	32	11	21	
RRM1	Απουσία	24	41	12	21	22	38	0.6
μετάλλαξη	Παρουσία	17	30	24	42	16	28	

3.4. Ανάλυση επιβίωσης

Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan Meier πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της πιθανής προγνωστικής αξίας της παρουσίας μεταλλάξεων του γονιδίου KRAS συνδυαστικά με την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι οι ασθενείς που έφεραν κάποια μετάλλαξη του γονιδίου KRAS και είχαν ταυτόχρονα έκφραση PD-L1 παρουσίασαν στατιστικά σημαντικό όφελος επιβίωσης ($p=0.011$) σε σχέση με τους ασθενείς που δεν έφεραν μετάλλαξη του KRAS και είχαν έκφραση PD-L1, καθώς και με τους ασθενείς με αρνητική έκφραση PD-L1 με ή χωρίς μετάλλαξη του KRAS (εικόνα 30A). Όταν η παραπάνω ανάλυση επιβίωσης πραγματοποιήθηκε για το υποσύνολο των ασθενών που δεν είχαν λάβει ανοσοθεραπεία με pembrolizumab, το αποτέλεσμα αντιστράφηκε, καθώς οι ασθενείς που έφεραν μετάλλαξη του KRAS και είχαν ταυτόχρονα έκφραση PD-L1 παρουσίασαν τη χειρότερη ολική επιβίωση σε σχέση με τις υπόλοιπες τρεις ομάδες ασθενών, χωρίς όμως η σχέση αυτή να είναι στατιστικά σημαντική (εικόνα 30B).



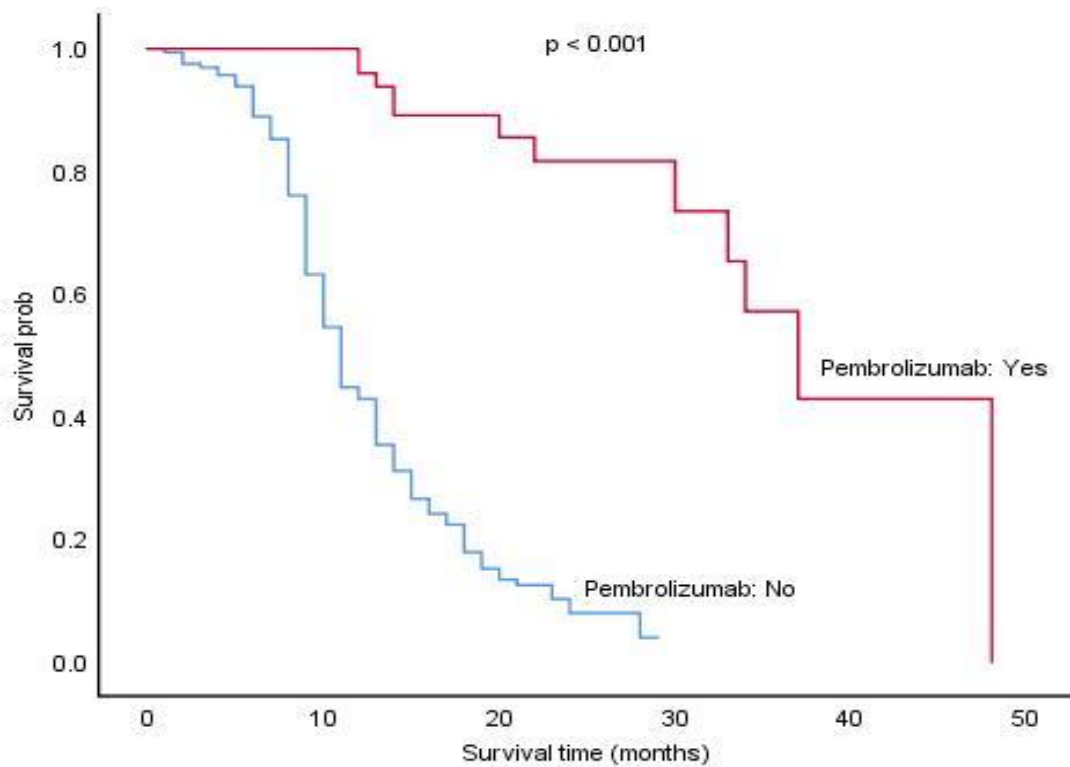
Εικόνα 30Α. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της παρουσίας μετάλλαξης KRAS συνδυαστικά με την έκφραση PD-L1 σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.



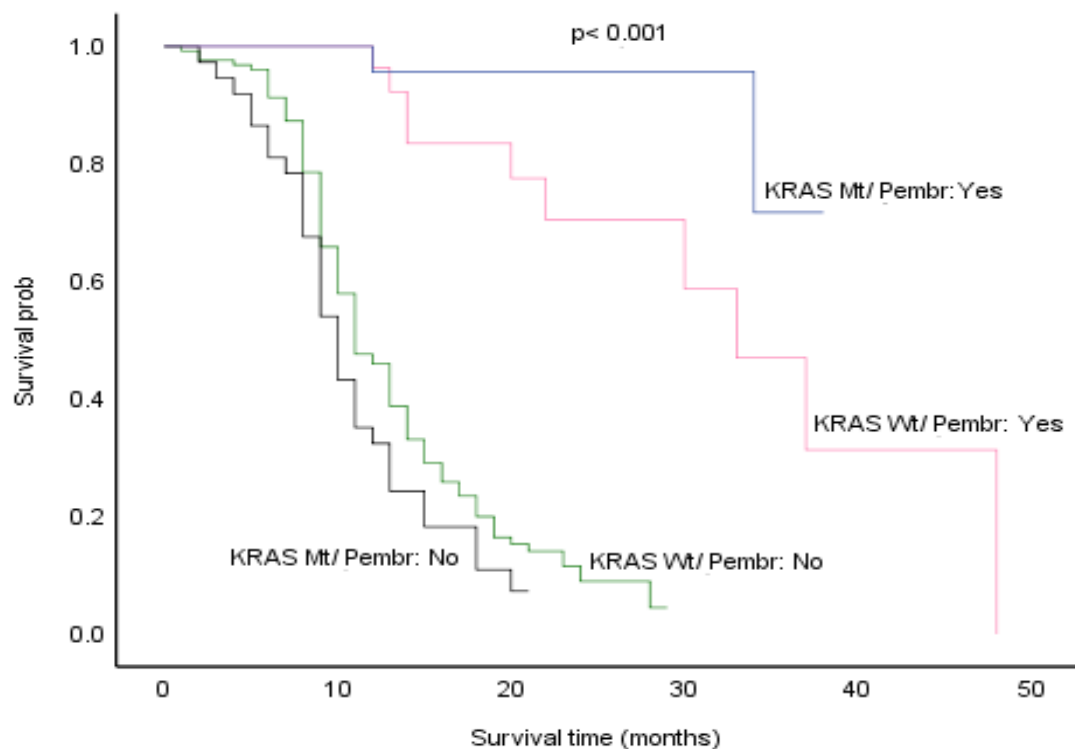
Εικόνα 30Β. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της παρουσίας μετάλλαξης KRAS συνδυαστικά με την έκφραση PD-L1, σε ασθενείς που δεν έλαβαν pembrolizumab, σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκε ανάλυση επιβίωσης Kaplan Meier με σκοπό τη διερεύνηση της πιθανής προγνωστικής αξίας της χορήγησης ανοσοθεραπείας με pembrolizumab καθώς και των υπολοίπων κλινικο-παθολογικών χαρακτηριστικών των ασθενών της μελέτης. Η θεραπεία με pembrolizumab όταν συγκρίθηκε με οποιαδήποτε άλλη θεραπευτική προσέγγιση, σχετίστηκε με στατιστικά σημαντική αύξηση στην ολική επιβίωση των ασθενών ($p < 0.001$) (εικόνα 31Α). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσίασε και το αποτέλεσμα της ανάλυσης επιβίωσης όταν αυτή πραγματοποιήθηκε συνδυαστικά για την παρουσία της μετάλλαξης KRAS και τη θεραπεία. Οι ασθενείς που είχαν KRAS μετάλλαξη και έλαβαν σαν θεραπεία pembrolizumab είχαν σαφές όφελος επιβίωσης σε σχέση με αυτούς που δεν έλαβαν ($p < 0.001$) (εικόνα 31Β). Όταν η συνδυαστική ανάλυση έγινε με βάση την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 και τη θεραπεία, φάνηκε ότι οι ασθενείς με θετική έκφραση PD-L1 οποιασδήποτε κατηγορίας (χαμηλή- υψηλή) που έλαβαν ανοσοθεραπεία με pembrolizumab, είχαν σημαντική αυξημένη ολική επιβίωση ($p < 0.001$) (εικόνα 31Γ).

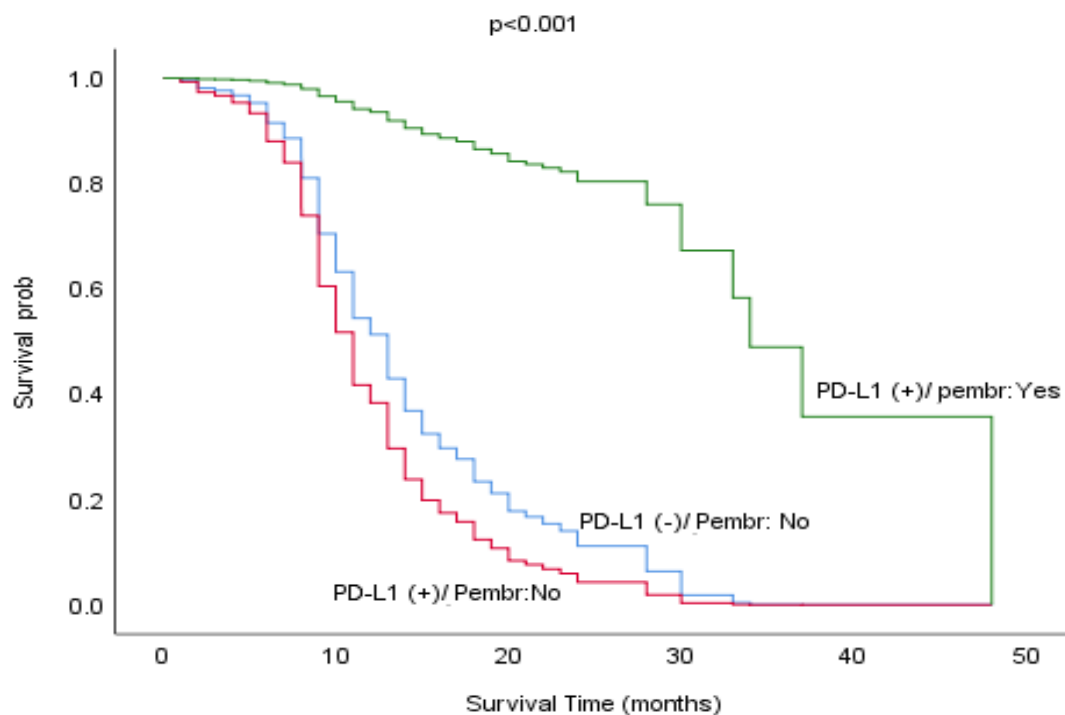
Τέλος, όταν η ανάλυση επιβίωσης πραγματοποιήθηκε συνδυαστικά με το προφίλ έκφρασης της ERCC1 πρωτεΐνης και της θεραπευτικής επιλογής, σημειώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση, καθώς φάνηκε ότι οι ασθενείς που έλαβαν χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα και είχαν έκφραση της πρωτεΐνης είχαν μικρότερη συνολική επιβίωση ($p = 0.016$), (εικόνα 32).



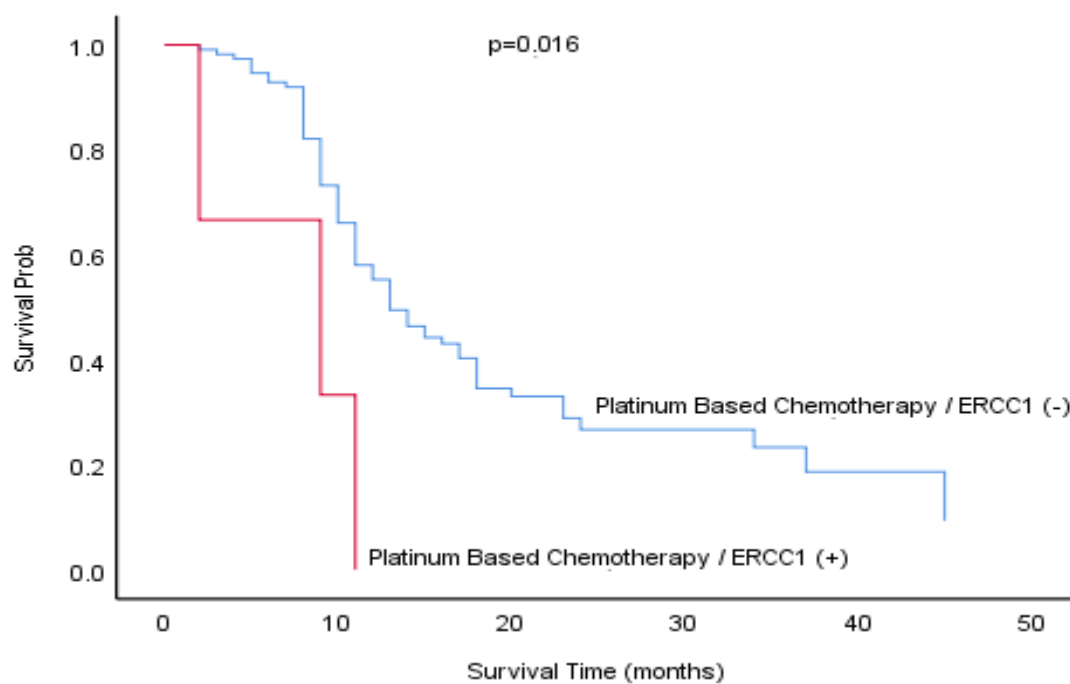
Εικόνα 31Α. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της θεραπείας με pembrolizumab σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.



Εικόνα 31Β. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της θεραπείας με pembrolizumab συνδυαστικά με την παρουσία ή όχι της KRAS μετάλλαξης σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.



Εικόνα 31Γ. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της θεραπείας με pembrolizumab συνδυαστικά με την έκφραση ή όχι της PD-L1 πρωτεΐνης σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.



Εικόνα 32. Καμπύλη επιβίωσης Kaplan Meier που δείχνει τη συσχέτιση της χημειοθεραπείας με πλατίνα συνδυαστικά με την έκφραση ή όχι της ERCC1 πρωτεΐνης σε συνάρτηση με την πιθανότητα συνολικής επιβίωσης.

Η πολυπαραγοντική ανάλυση επιβίωσης Cox ανέδειξε την παρουσία 3 ανεξάρτητων προγνωστικών παραγόντων για την ολική επιβίωση των ασθενών: την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1, το στάδιο νόσου TNM και την χορήγηση ανοσοθεραπείας pembrolizumab. Συγκεκριμένα, η έκφραση PD-L1 (χαμηλή ή υψηλή) και το προχωρημένο στάδιο νόσου αναδείχθηκαν ως κακοί προγνωστικοί παράγοντες (HR 1.5; 95% CI 1.039-2.117; $p=0.03$ και HR 2.858; 95%CI 1.396-5.853; $p=0.04$ αντίστοιχα). Επιπροσθέτως, οι ασθενείς οι οποίοι έλαβαν pembrolizumab, ανεξάρτητα από το μοριακό ή κλινικό τους προφίλ, φάνηκε να παρουσιάζουν μειωμένο σχετικό κίνδυνο θανάτου (HR 0.59; 95% CI 0.025-0.139, $p<0.001$).

4. Συμπεράσματα-Συζήτηση

Η ανακάλυψη των αναστολέων του ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1/PD-L1 έφερε επανάσταση στο πεδίο της θεραπευτικής του ΜΜΚΠ καθώς έχουν πάρει έγκριση από τον FDA ακόμα και ως θεραπεία πρώτης γραμμής για συγκεκριμένο υποπληθυσμό ασθενών (214). Παρά το γεγονός ότι αρκετές πρόσφατες μελέτες υποστήριξαν τη συχνή συνύπαρξη της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης PD-L1 με άλλες ογκογόνες μεταλλάξεις (233, 234), αυτή η σχέση δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως και παραμένει αντικείμενο αντιπαραθέσεων. Στην παρούσα μελέτη τεκμηριώσαμε τη θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση του βιοδείκτη PD-L1 και στην παρουσία των μεταλλάξεων KRAS σε δείγματα ασθενών με ΜΜΚΠ. Παράλληλα δείξαμε ότι η χρήση του αναστολέα PD-1, pembrolizumab, θα μπορούσε να προσφέρει όφελος επιβίωσης και στον υποπληθυσμό των ασθενών με μετάλλαξη KRAS, ενώ υποστηρίξαμε ότι η θεραπευτική επιλογή του pembrolizumab αυξάνει τη συνολική επιβίωση των ασθενών ανεξάρτητα από το μοριακό ή κλινικό προφίλ τους. Τελικώς, αναδείξαμε την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 ως δυσμενή προγνωστικό παράγοντα για τη συνολική επιβίωση των ασθενών και επιβεβαιώσαμε τα τρέχοντα δεδομένα όσον αφορά τη συσχέτιση της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης ERCC1 με την αντίσταση στην χημειοθεραπεία με πλατίνα.

Τα τελευταία χρόνια έχουν ανακοινωθεί τα αποτελέσματα μεγάλου αριθμού μελετών που είχαν σαν καταληκτικό σημείο την επίπτωση της έκφρασης της πρωτεΐνης PD-L1 σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Όσον αφορά τον κλώνο 22C3, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε και στη δική μας μελέτη, τα αποτελέσματα ποικίλλουν σημαντικά, με το εύρος της υψηλής έκφρασης PD-L1 να κυμαίνεται μεταξύ 6% και 30,6% (235). Τα επίπεδα της έκφρασης PD-L1 στη μελέτη μας είναι παρόμοια με αυτά των κλινικών

μελετών Keynote, βάσει των οποίων το pembrolizumab έλαβε έγκριση χορήγησης από τον οργανισμό FDA στις ΗΠΑ (226, 236, 237). Ένα ακόμα πεδίο αντιπαράθεσεων αποτελεί η σχέση της έκφρασης του βιοδείκτη PD-L1 με το φύλο των ασθενών, καθώς αρκετές μελέτες δείχνουν υψηλότερη επίπτωση σε άνδρες (238-242), κάποιες σε γυναίκες (243, 244), ενώ αρκετές υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει καμία συσχέτιση με το φύλο (245-251). Τα δικά μας αποτελέσματα δείχνουν ότι η έκφραση PD-L1 ήταν πιο υψηλή στις γυναίκες της κοόρτης σε σχέση με τους άνδρες, αλλά αυτή η σχέση δεν αποδείχτηκε ως στατιστικά σημαντική. Παρομοίως αμφιλεγόμενη είναι και η σχέση μεταξύ της έκφρασης PD-L1 και του ιστολογικού τύπου του νεοπλάσματος, καθώς έχει αναφερθεί βιβλιογραφικά συσχέτιση με τα νεοπλάσματα από αδενικό επιθήλιο (249, 252) ή από πλακώδες επιθήλιο (250, 253). Βέβαια, η πλειοψηφία των συγγραφέων υποστηρίζουν ότι δεν υφίσταται συσχέτιση με τον ιστολογικό τύπο (235, 242, 247, 249, 251), κάτι που επιβεβαιώνεται και στη δική μας έρευνα.

Στην μονοπαραγοντική ανάλυση των δεδομένων μας, αναδείχτηκαν στατιστικά σημαντικές οι συσχετίσεις της παρουσίας KRAS μετάλλαξης με το ιστορικό καπνίσματος καθώς και με τον ιστολογικό τύπο του αδеноκαρκινώματος, ερχόμενες σε πλήρη συμφωνία με πλήθος δημοσιευμένων μελετών (105, 129, 142). Συγκεκριμένα, οι Ahrendt et al (105) όπως και οι Eberhard et al (142) έδειξαν ότι οι KRAS μεταλλάξεις σχετίζονται με το 90% περίπου των καπνιστών με MMΚΠ, ενώ υποστήριξαν ότι οι συγκεκριμένες μεταλλάξεις σχετίζονται με τα καρκινογόνα που περιέχονται στα προϊόντα καπνού. Επίσης στατιστικά σημαντικές φάνηκαν οι συσχετίσεις της διαμετάθεσης ROS1 και της αυξημένης έκφρασης RRM1 με το φύλο των ασθενών και συγκεκριμένα της ROS1 με το γυναικείο ($p=0.004$) και της RRM1 με το ανδρικό φύλο ($p=0.026$), συμφωνώντας με τα αποτελέσματα ήδη δημοσιευμένων

μελετών (199, 254). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ανεύρεση υψηλότερης έκφρασης της PD-L1 πρωτεΐνης σε δείγματα ασθενών που έφεραν ταυτόχρονα κάποια KRAS μετάλλαξη σε σχέση με αυτά που ήταν αρνητικά. Κλινικές μελέτες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν κυτταρικές σειρές με MMKΠ (255-257) υποστηρίζουν ότι οι KRAS μεταλλάξεις ίσως προάγουν την έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 στον MMKΠ. Η συγκεκριμένη υπόθεση βασίζεται σε δεδομένα που αποδεικνύουν πως η έκφραση της PD-L1 ρυθμίζεται από το σηματοδοτικό μονοπάτι των MAP κινασών. Συγκεκριμένα, οι Sumimoto et al αναφέρουν στη μελέτη τους ότι η υπερέκφραση της PD-L1 πρωτεΐνης σε μεταλλαγμένο KRAS MMKΠ ρυθμίζεται από το MAPK και περιστασιακά από το STAT3 σηματοδοτικό μονοπάτι (256). Επιπρόσθετα σε αυτά τα ευρήματα, οι Chen et al τεκμηρίωσαν ότι η PD-L1 δεχόταν ανοδική ρύθμιση από την KRAS μετάλλαξη διαμέσου ενεργοποίησης του p-ERK και όχι του p-AKT σηματοδοτικού μονοπατιού, προκαλώντας ανοσοδιαφυγή μέσω της απόπτωσης των CD3+ T λεμφοκυττάρων (255). Οι Miura et Sunaga επίσης υποστήριξαν ότι οι μεταλλάξεις του KRAS προάγουν την υπερέκφραση της PD-L1 αν και ανέφεραν ότι η τελευταία διαφέρει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων KRAS μεταλλαγμένων κυτταρικών σειρών στον MMKΠ (257).

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συμφωνούν με αυτά αρκετών δημοσιευμένων μελετών και μετα-αναλύσεων, οι οποίες τεκμηριώνουν τη θετική συσχέτιση ανάμεσα στην έκφραση PD-L1 και στο KRAS μοριακό προφίλ στον MMKΠ (234, 247, 249-252, 255, 258-260), αν και έχουν δημοσιευτεί μελέτες και με αντιφατικά αποτελέσματα (242, 245, 248, 253, 261-265). Πιο αναλυτικά, έχει αποδειχθεί ότι τα αδеноκαρκινώματα πνεύμονα που φέρουν μετάλλαξη των γονιδίων TP53 και KRAS παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα έκφρασης της PD-L1, η οποία ποικίλλει ανάλογα με το πρότυπο του σηματοδοτικού μονοπατιού που συμμετέχει

(258). Οι Parra et al υποστήριξαν ότι τα μεταλλαγμένα KRAS αδενοκαρκινώματα πνεύμονα έτειναν να έχουν υψηλότερη έκφραση της PD-L1 ενώ ανέφεραν ότι οι βιοδείκτες για την χορήγηση ανοσοθεραπείας μπορούν να συσχετιστούν με το ιστορικό καπνίσματος (250). Επιπλέον, οι Calles A et al δήλωσαν ότι οι μεταλλαγμένοι KRAS MMKP εξέφραζαν PD-L1 μόνο όταν ο ασθενής ήταν καπνιστής ανεξάρτητα από το προφίλ μεταλλάξεων του όγκου (246). Στη δική μας κοορτή ασθενών, παρόλο που οι καπνιστές έτειναν να εκφράζουν υψηλότερα TPS της PD-L1 πρωτεΐνης από τους μη καπνιστές, αυτή η σχέση δεν έφτασε στο επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ενώ το ιστορικό καπνίσματος συσχετίστηκε μόνο με την παρουσία μεταλλάξεων KRAS.

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα που αφορούν τη σχέση μεταξύ της μετάλλαξης του γονιδίου του EGFR και της έκφρασης PD-L1 παραμένουν επίσης αντιφατικά. Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει ότι τα MMKP που φέρουν μετάλλαξη του EGFR εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα PD-L1 (242, 252, 261, 266), ενώ άλλες έδειξαν ότι οι όγκοι χωρίς EGFR μετάλλαξη ήταν συχνότερα PD-L1 θετικοί (233, 235, 238, 267). Στην μελέτη μας δεν βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας μεταλλάξεων του EGFR και της PD-L1 έκφρασης.

Ένα από τα αξιοσημείωτα ευρήματα της έρευνας μας, που προέκυψε κατά την ανάλυση επιβίωσης, είναι ότι παρά το όφελος επιβίωσης που φάνηκε να έχουν οι ασθενείς που έφεραν KRAS μετάλλαξη με θετική έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1, η συσχέτιση αυτή αντιστράφηκε όταν στην ανάλυση εξαιρέθηκαν οι ασθενείς που είχαν λάβει ανοσοθεραπεία. Από την άλλη πλευρά, στη μελέτη μας δεν αναδείχθηκε η καλά τεκμηριωμένη δυσμενής προγνωστική αξία της μετάλλαξης KRAS στην ομάδα των ασθενών που έλαβαν ανοσοθεραπεία, ενισχύοντας τα αποτελέσματα προηγούμενων

ερευνών, που υποστήριξαν την προγνωστική αξία της KRAS μετάλλαξης σε ασθενείς με MMΚΠ που έλαβαν αναστολείς ανοσοποιητικού σημείου ελέγχου PD-1/PD-L1 ως δεύτερη ή τρίτη γραμμή θεραπείας (268). Πρόσφατες προσπάθειες με σκοπό τη διερεύνηση του υποκείμενου ανοσολογικού υποβάθρου αυτών των ασθενών ανέδειξαν ορισμένες ενδείξεις για χορήγηση ανοσοθεραπείας σε ασθενείς με KRAS μεταλλαγμένο MMΚΠ. Σε μία πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση, οι Lee CK et al (269) έδειξαν ότι η χορήγηση ανοσοθεραπείας προσέφερε όφελος επιβίωσης στην ομάδα με KRAS μεταλλαγμένο MMΚΠ συγκριτικά με αυτήν δίχως την μετάλλαξη, χωρίς όμως αυτή η συσχέτιση να είναι στατιστικά σημαντική. Παράλληλα, οι Falk et al (270), υποστήριξαν ότι η συνύπαρξη υψηλής έκφρασης PD-L1 και KRAS μετάλλαξης προάγει σημαντικά τη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα, πιθανώς λόγω της ανάπτυξης κάποιας μορφής αλληλεπίδρασης ανάμεσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου και στην ανοσοθεραπεία. Επιπροσθέτως, οι Risvi et al (271) έδειξαν στη δική τους μελέτη ότι οι ασθενείς με KRAS μεταλλαγμένο MMΚΠ, οι οποίοι είχαν ιστορικό καπνίσματος, παρουσίασαν σημαντικό κλινικό όφελος από την χορήγηση ανοσοθεραπείας και συγκεκριμένα pembrolizumab. Θα πρέπει επίσης να επισημανθεί ότι στις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες του National Comprehensive Cancer Network (NCCN) που ανακοινώθηκαν τον Αύγουστο του 2019, αναφέρεται πως οι ανοσοθεραπευτικοί παράγοντες φαίνεται να είναι αποτελεσματικοί σε ασθενείς που φέρουν KRAS μεταλλάξεις. Μία πιθανή ερμηνεία αυτού του φαινομένου θα μπορούσε να είναι η βιολογική ποικιλότητα της KRAS μετάλλαξης στον MMΚΠ (272). Πιο αναλυτικά, οι μεταλλάξεις του γονιδίου KRAS αφορούν σε διαφορετικά γονίδια και εμπλέκονται στην ενεργοποίηση διαφόρων σηματοδοτικών μονοπατιών (MAPK, PI3K,) (273, 274). Επιπροσθέτως, παρατηρούνται συχνά σε καπνιστές και

μπορούν να συνυπάρχουν και με άλλες μεταλλάξεις όπως η απώλεια σερίνης/θρεονίνης-πρωτεϊνικής κινάσης 11/ηπατικής κινάσης B1 (STK11/LKB1). Το αποτέλεσμα αυτών των συνυπάρξεων είναι η αύξηση του συνολικού φορτίου μεταλλάξεων όγκου TMB (Tumour Mutational Burden) ενώ παράλληλα πιθανώς επηρεάζεται το μικροπεριβάλλον του όγκου και η απάντηση στην ανοσοθεραπεία (271, 275).

Ένα ακόμα σημαντικό εύρημα που αναδείχθηκε με την ανάλυση επιβίωσης στη μελέτη μας, είναι η στατιστικά σημαντική μείωση στη συνολική επιβίωση των ασθενών που είχαν λάβει χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα και είχαν ταυτόχρονα αυξημένα επίπεδα έκφρασης της ERCC1 πρωτεΐνης. Η αντίσταση στα παράγωγα της πλατίνας που παρατηρείται σε αυτή την υποομάδα ασθενών είναι πολυπαραγοντική. Συγκεκριμένα η ERCC1, η οποία συμμετέχει στο μηχανισμό επιδιόρθωσης εκτομής νουκλεοτιδίων (NER - Nucleotide Excision Repair), αναγνωρίζει και απομακρύνει τα προϊόντα προσθήκης νουκλεοτιδίων που δημιουργούνται από την πλατίνα (276, 277) στα πλαίσια της αντινεοπλασματικής της δράσης. Επιπροσθέτως, η ERCC1 συμμετέχει στην επιδιόρθωση των βλαβών της διπλής έλικας DNA οι οποίες επίσης προκαλούνται από τη δράση της πλατίνας (278). Τέλος η υπερέκφραση της ERCC1 εμπλέκεται στην αντοχή στην πλατίνα απαγορεύοντας την ενεργοποίηση του μονοπατιού του EGFR (279). Μέχρι στιγμής, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η ERCC1 σε επίπεδο πρωτεΐνης, αγγελιοφόρου RNA ή γενετικού DNA μπορεί να αποτελεί ένα προγνωστικό ή προβλεπτικό βιοδείκτη σε ασθενείς με MMKΠ που έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα. Συγκεκριμένα υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρουν αύξηση της συνολικής επιβίωσης ή της επιβίωσης χωρίς εξέλιξη νόσου σε ασθενείς με χαμηλή έκφραση ERCC1 σε σύγκριση με όσους είχαν υψηλή έκφραση (174, 280,

281). Ωστόσο, αντιφατικά αποτελέσματα έχουν επίσης δημοσιευτεί (232, 282, 283). Η διαφορά αυτή μπορεί να οφείλεται στα διαφορετικά αντινεοπλασματικά πρωτόκολλα, στη διαφορετική σύνθεση της κάθε κοορτής ασθενών αλλά και στην παρουσία διαφορών στο γονότυπο που επηρεάζουν τη χημειοθεραπευτική αποτελεσματικότητα.

Στη μελέτη μας, η ανάλυση επιβίωσης με το μοντέλο COX ανέδειξε τρεις ανεξάρτητους παράγοντες σχετιζόμενους με τη συνολική επιβίωση των ασθενών : το προφίλ έκφρασης PD-L1, το προχωρημένο στάδιο νόσου (stage IV) και την θεραπεία με pembrolizumab. Παρομοίως με το δικό μας εύρημα ότι οι ασθενείς με υψηλότερη έκφραση PD-L1 έχουν μεγαλύτερο σχετικό κίνδυνο θανάτου, αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει την υψηλή έκφραση PD-L1 σαν δυσμενή προγνωστικό παράγοντα (238-241, 243, 261, 263). Μία πιθανή ερμηνεία είναι ότι η υψηλότερη έκφραση PD-L1 στα καρκινικά κύτταρα θα μπορούσε να προάγει την ανοσοκαταστολή και καθ' αυτόν τον τρόπο να οδηγεί σε περαιτέρω ανάπτυξη και εξάπλωση του νεοπλασματος (284). Παρά τα ανωτέρω δεδομένα η προγνωστική αξία της έκφρασης της πρωτεΐνης PD-L1 στον ΜΜΚΠ παραμένει αντιφατική, αν και οι βιβλιογραφικές αναφορές που υποστηρίζουν ότι η υψηλή έκφραση PD-L1 σχετίζεται με καλύτερο κλινικό αποτέλεσμα, είναι σημαντικά λιγότερες (248, 285).

Στη μελέτη μας, οι ασθενείς που είχαν λάβει pembrolizumab ως θεραπεία πρώτης ή δεύτερης γραμμής, παρουσίασαν σημαντικό όφελος επιβίωσης , ανεξάρτητα από το μοριακό ή κλινικό προφίλ τους, συγκρινόμενοι με αυτούς που έλαβαν οποιαδήποτε εναλλακτική θεραπεία. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα δημοσιευμένων κλινικών μελετών οι οποίες απέδειξαν την αποτελεσματικότητα του pembrolizumab στην επιβίωση των ασθενών με ΜΜΚΠ (214, 216, 226, 236, 237). Εξάλλου ο

FDA (Food and Drug Administration) στις Η.Π.Α. βασιζόμενος στα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης φάσης 3 Checkmate 024, ενέκρινε την χορήγηση Pembrolizumab ακόμα και ως θεραπεία πρώτης γραμμής για το μεταστατικό ΜΜΚΠ, αν η έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1 αφορά πάνω από το 50% των νεοπλασματικών κυττάρων.

Καταλήγοντας, η μελέτη μας ανέδειξε τη σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην ύπαρξη μεταλλάξεων του γονιδίου KRAS και της υπερέκφρασης PD-L1 σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Επιβεβαιώσαμε την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με τον anti-PD-1 παράγοντα pembrolizumab στην ομάδα ασθενών με θετική έκφραση της πρωτεΐνης PD-L1, ενώ δείξαμε ότι η υψηλή έκφραση PD-L1 αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Η έλλειψη θεραπευτικής στρατηγικής η οποία θα βελτίωνε τη συνολική επιβίωση των ασθενών με ΜΜΚΠ που φέρουν κάποια μετάλλαξη του KRAS γονιδίου, καθώς και η κακή πρόγνωση της συγκεκριμένης ομάδας ασθενών, είναι καλά τεκμηριωμένες (144). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι τα ευρήματά μας αντιστρέφουν τη δυσμενή προγνωστική αξία της KRAS μετάλλαξης και ταυτόχρονα παρουσιάζουν την ανοσοθεραπεία σαν μία πολλά υποσχόμενη εναλλακτική θεραπευτική επιλογή για τη συγκεκριμένη υποομάδα ασθενών. Απ' όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που αναφέρει κλινικό όφελος της θεραπείας με pembrolizumab σε συνδυασμό με το μοριακό προφίλ του γονιδίου KRAS στον ελληνικό πληθυσμό. Φαίνεται ότι απαιτούνται περισσότερες μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών ώστε να επιβεβαιωθεί το κλινικό όφελος της ανοσοθεραπείας σε υποπληθυσμούς ασθενών με συγκεκριμένο μοριακό προφίλ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Rachiotis G, Barbouni A, Katsioulis A, Antoniadou E, Kostikas K, Merakou K, et al. Prevalence and determinants of current and secondhand smoking in Greece: results from the Global Adult Tobacco Survey (GATS) study. *BMJ Open*. 2017;7(1):e013150.
2. Kontakiotis T, Manolakoglou N, Zoglopitis F, Iakovidis D, Sacas L, Papagiannis A, et al. Epidemiologic trends in lung cancer over two decades in Northern Greece: an analysis of bronchoscopic data. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2009;71(4):147-52.
3. Sifaki-Pistolla D, Lionis C, Georgoulis V, Kyriakidis P, Koinis F, Aggelaki S, et al. Lung cancer and tobacco smoking in Crete, Greece: reflections from a population-based cancer registry from 1992 to 2013. *Tob Induc Dis*. 2017;15:6.
4. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin*. 2010;60(5):277-300.
5. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(1):7-30.
6. Kohler BA, Ward E, McCarthy BJ, Schymura MJ, Ries LA, Ehemann C, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2007, featuring tumors of the brain and other nervous system. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(9):714-36.
7. Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, Rowland JH, Yabroff KR, Alfano CM, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J Clin*. 2019.
8. Miller KD, Siegel RL, Lin CC, Mariotto AB, Kramer JL, Rowland JH, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016;66(4):271-89.

9. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, Rami-Porta R, Asamura H, Eberhardt WE, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):39-51.
10. Malhotra J, Malvezzi M, Negri E, La Vecchia C, Boffetta P. Risk factors for lung cancer worldwide. *Eur Respir J*. 2016;48(3):889-902.
11. Sano H, Marugame T. International comparisons of cumulative risk of lung cancer, from cancer incidence in five continents Vol. VIII. *Jpn J Clin Oncol*. 2006;36(5):334-5.
12. Thielen A, Klus H, Muller L. Tobacco smoke: unraveling a controversial subject. *Exp Toxicol Pathol*. 2008;60(2-3):141-56.
13. Geng ZL, Zhang J, Ge YH, Xiang ZM, Cai K, Zhu XL, et al. [Correlation between endogenous harmful components in mainstream cigarette smoke and chemical constituents in tobacco leaves]. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*. 2015;26(5):1447-53.
14. Nyberg F, Pershagen G. Passive smoking and lung cancer. Accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ*. 1998;317(7154):347-8; author reply 8.
15. Zhang J, Bai R, Yi X, Yang Z, Liu X, Zhou J, et al. Fully automated analysis of four tobacco-specific N-nitrosamines in mainstream cigarette smoke using two-dimensional online solid phase extraction combined with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2016;146:216-24.
16. Carlson ES, Upadhyaya P, Villalta PW, Ma B, Hecht SS. Analysis and Identification of 2'-Deoxyadenosine-Derived Adducts in Lung and Liver DNA of F-344 Rats Treated with the Tobacco-Specific Carcinogen 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and Enantiomers of its

- Metabolite 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol. *Chem Res Toxicol*. 2018;31(5):358-70.
17. Ward RC, Tanner NT, Silvestri GA, Gebregziabher M. Impact of Tobacco Dependence in Risk Prediction Models for Lung Cancer Diagnoses and Deaths. *JNCI Cancer Spectr*. 2019;3(2):pkz014.
 18. Boffetta P. Human cancer from environmental pollutants: the epidemiological evidence. *Mutat Res*. 2006;608(2):157-62.
 19. Hackshaw AK, Law MR, Wald NJ. The accumulated evidence on lung cancer and environmental tobacco smoke. *BMJ*. 1997;315(7114):980-8.
 20. Whitrow MJ, Smith BJ, Pilotto LS, Pisaniello D, Nitschke M. Environmental exposure to carcinogens causing lung cancer: epidemiological evidence from the medical literature. *Respirology*. 2003;8(4):513-21.
 21. Vineis P, Airolidi L, Veglia F, Olgiati L, Pastorelli R, Autrup H, et al. Environmental tobacco smoke and risk of respiratory cancer and chronic obstructive pulmonary disease in former smokers and never smokers in the EPIC prospective study. *BMJ*. 2005;330(7486):277.
 22. de Groot PM, Wu CC, Carter BW, Munden RF. The epidemiology of lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2018;7(3):220-33.
 23. Bailey-Wilson JE, Sellers TA, Elston RC, Evens CC, Rothschild H. Evidence for a major gene effect in early-onset lung cancer. *J La State Med Soc*. 1993;145(4):157-62.
 24. Lorenzo Bermejo J, Hemminki K. Familial lung cancer and aggregation of smoking habits: a simulation of the effect of shared environmental factors on the familial risk of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(7):1738-40.

25. Musolf AM, Simpson CL, de Andrade M, Mandal D, Gaba C, Yang P, et al. Familial Lung Cancer: A Brief History from the Earliest Work to the Most Recent Studies. *Genes (Basel)*. 2017;8(1).
26. Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Jr., Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science*. 1990;250(4985):1233-8.
27. McKay JD, Hung RJ, Gaborieau V, Boffetta P, Chabrier A, Byrnes G, et al. Lung cancer susceptibility locus at 5p15.33. *Nat Genet*. 2008;40(12):1404-6.
28. Amos CI, Wu X, Broderick P, Gorlov IP, Gu J, Eisen T, et al. Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1. *Nat Genet*. 2008;40(5):616-22.
29. Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, Rafnar T, Wiste A, Magnusson KP, et al. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature*. 2008;452(7187):638-42.
30. Liu JZ, Tozzi F, Waterworth DM, Pillai SG, Muglia P, Middleton L, et al. Meta-analysis and imputation refines the association of 15q25 with smoking quantity. *Nat Genet*. 2010;42(5):436-40.
31. Saccone NL, Culverhouse RC, Schwantes-An TH, Cannon DS, Chen X, Cichon S, et al. Multiple independent loci at chromosome 15q25.1 affect smoking quantity: a meta-analysis and comparison with lung cancer and COPD. *PLoS Genet*. 2010;6(8).
32. Timofeeva MN, Hung RJ, Rafnar T, Christiani DC, Field JK, Bickeboller H, et al. Influence of common genetic variation on lung cancer risk: meta-analysis of 14 900 cases and 29 485 controls. *Hum Mol Genet*. 2012;21(22):4980-95.

33. Fernandez-Garcia I, Ortiz-de-Solorzano C, Montuenga LM. Telomeres and telomerase in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2008;3(10):1085-8.
34. Khatri P, Sirota M, Butte AJ. Ten years of pathway analysis: current approaches and outstanding challenges. *PLoS Comput Biol*. 2012;8(2):e1002375.
35. Brenner DR, Brennan P, Boffetta P, Amos CI, Spitz MR, Chen C, et al. Hierarchical modeling identifies novel lung cancer susceptibility variants in inflammation pathways among 10,140 cases and 11,012 controls. *Hum Genet*. 2013;132(5):579-89.
36. Wang Y, McKay JD, Rafnar T, Wang Z, Timofeeva MN, Broderick P, et al. Rare variants of large effect in BRCA2 and CHEK2 affect risk of lung cancer. *Nat Genet*. 2014;46(7):736-41.
37. Lam TK, Gallicchio L, Lindsley K, Shiels M, Hammond E, Tao XG, et al. Cruciferous vegetable consumption and lung cancer risk: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(1):184-95.
38. Vieira AR, Abar L, Vingeliene S, Chan DS, Aune D, Navarro-Rosenblatt D, et al. Fruits, vegetables and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Ann Oncol*. 2016;27(1):81-96.
39. Sinha R, Kulldorff M, Curtin J, Brown CC, Alavanja MC, Swanson CA. Fried, well-done red meat and risk of lung cancer in women (United States). *Cancer Causes Control*. 1998;9(6):621-30.
40. Sinha R, Kulldorff M, Swanson CA, Curtin J, Brownson RC, Alavanja MC. Dietary heterocyclic amines and the risk of lung cancer among Missouri women. *Cancer Res*. 2000;60(14):3753-6.
41. Smith-Warner SA, Ritz J, Hunter DJ, Albanes D, Beeson WL, van den Brandt PA, et al. Dietary fat and risk of lung cancer in a pooled

- analysis of prospective studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11(10 Pt 1):987-92.
42. Albanes D. Beta-carotene and lung cancer: a case study. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(6):1345S-50S.
43. Herr C, Greulich T, Koczulla RA, Meyer S, Zakharkina T, Branscheidt M, et al. The role of vitamin D in pulmonary disease: COPD, asthma, infection, and cancer. *Respir Res.* 2011;12:31.
44. Guertin KA, Freedman ND, Loftfield E, Graubard BI, Caporaso NE, Sinha R. Coffee consumption and incidence of lung cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Int J Epidemiol.* 2016;45(3):929-39.
45. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Scotti L, Jenab M, Bellocco R, et al. Alcohol consumption and lung cancer risk in never smokers: a meta-analysis. *Ann Oncol.* 2011;22(12):2631-9.
46. Bandera EV, Freudenheim JL, Vena JE. Alcohol consumption and lung cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10(8):813-21.
47. Denholm R, Schuz J, Straif K, Stucker I, Jockel KH, Brenner DR, et al. Is previous respiratory disease a risk factor for lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med.* 2014;190(5):549-59.
48. Hubbard R, Venn A, Lewis S, Britton J. Lung cancer and cryptogenic fibrosing alveolitis. A population-based cohort study. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(1):5-8.
49. Santillan AA, Camargo CA, Jr., Colditz GA. A meta-analysis of asthma and risk of lung cancer (United States). *Cancer Causes Control.* 2003;14(4):327-34.
50. Hong S, Mok Y, Jeon C, Jee SH, Samet JM. Tuberculosis, smoking and risk for lung cancer incidence and mortality. *Int J Cancer.* 2016;139(11):2447-55.

51. Lin HH, Murray M, Cohen T, Colijn C, Ezzati M. Effects of smoking and solid-fuel use on COPD, lung cancer, and tuberculosis in China: a time-based, multiple risk factor, modelling study. *Lancet*. 2008;372(9648):1473-83.
52. Littman AJ, Jackson LA, Vaughan TL. Chlamydia pneumoniae and lung cancer: epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(4):773-8.
53. Paraschiv B, Diaconu CC, Toma CL, Bogdan MA. Paraneoplastic syndromes: the way to an early diagnosis of lung cancer. *Pneumologia*. 2015;64(2):14-9.
54. Kirk GD, Merlo C, P OD, Mehta SH, Galai N, Vlahov D, et al. HIV infection is associated with an increased risk for lung cancer, independent of smoking. *Clin Infect Dis*. 2007;45(1):103-10.
55. Anantharaman D, Gheit T, Waterboer T, Halec G, Carreira C, Abedi-Ardekani B, et al. No causal association identified for human papillomavirus infections in lung cancer. *Cancer Res*. 2014;74(13):3525-34.
56. Cho JH, Hong WG, Jung YJ, Lee J, Lee E, Hwang SG, et al. Gamma-Ionizing radiation-induced activation of the EGFR-p38/ERK-STAT3/CREB-1-EMT pathway promotes the migration/invasion of non-small cell lung cancer cells and is inhibited by podophyllotoxin acetate. *Tumour Biol*. 2016;37(6):7315-25.
57. Lubin JH, Boice JD, Jr. Lung cancer risk from residential radon: meta-analysis of eight epidemiologic studies. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89(1):49-57.
58. Coglianò VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, et al. Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2011;103(24):1827-39.

59. Rushton L, Hutchings SJ, Fortunato L, Young C, Evans GS, Brown T, et al. Occupational cancer burden in Great Britain. *Br J Cancer*. 2012;107 Suppl 1:S3-7.
60. Boffetta P, Autier P, Boniol M, Boyle P, Hill C, Aurengo A, et al. An estimate of cancers attributable to occupational exposures in France. *J Occup Environ Med*. 2010;52(4):399-406.
61. Humans IWGoTEoCRt. Chemical agents and related occupations. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2012;100(Pt F):9-562.
62. Berman DW, Crump KS. Update of potency factors for asbestos-related lung cancer and mesothelioma. *Crit Rev Toxicol*. 2008;38 Suppl 1:1-47.
63. Hayes RB. The carcinogenicity of metals in humans. *Cancer Causes Control*. 1997;8(3):371-85.
64. Erickson ML, Malenda HF, Berquist EC, Ayotte JD. Arsenic concentrations after drinking water well installation: Time-varying effects on arsenic mobilization. *Sci Total Environ*. 2019;678:681-91.
65. Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons, and respiratory and urinary tract cancers: a quantitative review to 2005. *Ann Oncol*. 2007;18(3):431-46.
66. Rota M, Bosetti C, Boccia S, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposures to polycyclic aromatic hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: an updated systematic review and a meta-analysis to 2014. *Arch Toxicol*. 2014;88(8):1479-90.
67. Benbrahim-Tallaa L, Baan RA, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of diesel-engine and gasoline-engine exhausts and some nitroarenes. *Lancet Oncol*. 2012;13(7):663-4.
68. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, Yatabe Y, Austin JHM, Beasley MB, et al. The 2015 World Health Organization Classification of

- Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol*. 2015;10(9):1243-60.
69. Selvaggi G, Scagliotti GV. Histologic subtype in NSCLC: does it matter? *Oncology (Williston Park)*. 2009;23(13):1133-40.
70. Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New pathologic classification of lung cancer: relevance for clinical practice and clinical trials. *J Clin Oncol*. 2013;31(8):992-1001.
71. Zheng M. Classification and Pathology of Lung Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2016;25(3):447-68.
72. Osmani L, Askin F, Gabrielson E, Li QK. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy. *Semin Cancer Biol*. 2018;52(Pt 1):103-9.
73. Yanagawa N, Shiono S, Abiko M, Ogata SY, Sato T, Tamura G. New IASLC/ATS/ERS classification and invasive tumor size are predictive of disease recurrence in stage I lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol*. 2013;8(5):612-8.
74. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, Sima CS, Gerald WL, Kris MG, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Mod Pathol*. 2011;24(5):653-64.
75. Nitadori J, Bograd AJ, Kadota K, Sima CS, Rizk NP, Morales EA, et al. Impact of micropapillary histologic subtype in selecting limited resection vs lobectomy for lung adenocarcinoma of 2cm or smaller. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(16):1212-20.
76. Tsutsumida H, Nomoto M, Goto M, Kitajima S, Kubota I, Hirotsu Y, et al. A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung

- adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol.* 2007;20(6):638-47.
77. Nonaka D. A study of DeltaNp63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2012;36(6):895-9.
78. Travis WD. Pathology of lung cancer. *Clin Chest Med.* 2011;32(4):669-92.
79. Brambilla C, Laffaire J, Lantuejoul S, Moro-Sibilot D, Mignotte H, Arbib F, et al. Lung squamous cell carcinomas with basaloid histology represent a specific molecular entity. *Clin Cancer Res.* 2014;20(22):5777-86.
80. Conde E, Angulo B, Izquierdo E, Paz-Ares L, Belda-Iniesta C, Hidalgo M, et al. Lung adenocarcinoma in the era of targeted therapies: histological classification, sample prioritization, and predictive biomarkers. *Clin Transl Oncol.* 2013;15(7):503-8.
81. Hayashi T, Sano H, Egashira R, Tabata K, Tanaka T, Nakayama T, et al. Difference of morphology and immunophenotype between central and peripheral squamous cell carcinomas of the lung. *Biomed Res Int.* 2013;2013:157838.
82. Fitzgibbons PL, Kern WH. Adenosquamous carcinoma of the lung: a clinical and pathologic study of seven cases. *Hum Pathol.* 1985;16(5):463-6.
83. Tochigi N, Dacic S, Nikiforova M, Cieply KM, Yousem SA. Adenosquamous carcinoma of the lung: a microdissection study of KRAS and EGFR mutational and amplification status in a western patient population. *Am J Clin Pathol.* 2011;135(5):783-9.
84. Mordant P, Grand B, Cazes A, Foucault C, Dujon A, Le Pimpec Barthes F, et al. Adenosquamous carcinoma of the lung: surgical

management, pathologic characteristics, and prognostic implications. *Ann Thorac Surg*. 2013;95(4):1189-95.

85. Martin LW, Correa AM, Ordonez NG, Roth JA, Swisher SG, Vaporciyan AA, et al. Sarcomatoid carcinoma of the lung: a predictor of poor prognosis. *Ann Thorac Surg*. 2007;84(3):973-80.

86. Litzky LA. Pulmonary Neuroendocrine Tumors. *Surg Pathol Clin*. 2010;3(1):27-59.

87. Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med*. 2010;134(11):1628-38.

88. Pelosi G, Rodriguez J, Viale G, Rosai J. Typical and atypical pulmonary carcinoid tumor overdiagnosed as small-cell carcinoma on biopsy specimens: a major pitfall in the management of lung cancer patients. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(2):179-87.

89. Filosso PL, Guerrera F, Evangelista A, Welter S, Thomas P, Casado PM, et al. Prognostic model of survival for typical bronchial carcinoid tumours: analysis of 1109 patients on behalf of the European Association of Thoracic Surgeons (ESTS) Neuroendocrine Tumours Working Group. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2015;48(3):441-7; discussion 7.

90. Fink G, Krelbaum T, Yellin A, Bendayan D, Saute M, Glazer M, et al. Pulmonary carcinoid: presentation, diagnosis, and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from the literature. *Chest*. 2001;119(6):1647-51.

91. Filosso PL, Rena O, Guerrera F, Moreno Casado P, Sagan D, Raveglia F, et al. Clinical management of atypical carcinoid and large-cell neuroendocrine carcinoma: a multicentre study on behalf of the European Association of Thoracic Surgeons (ESTS) Neuroendocrine Tumours of the Lung Working Group. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2015;48(1):55-64.

92. Lewis DR, Check DP, Caporaso NE, Travis WD, Devesa SS. US lung cancer trends by histologic type. *Cancer*. 2014;120(18):2883-92.
93. Planchard D, Le Pechoux C. Small cell lung cancer: new clinical recommendations and current status of biomarker assessment. *Eur J Cancer*. 2011;47 Suppl 3:S272-83.
94. Nakamura N, Miyagi E, Murata S, Kawaoi A, Katoh R. Expression of thyroid transcription factor-1 in normal and neoplastic lung tissues. *Mod Pathol*. 2002;15(10):1058-67.
95. Battafarano RJ, Fernandez FG, Ritter J, Meyers BF, Guthrie TJ, Cooper JD, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma: an aggressive form of non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;130(1):166-72.
96. National Lung Screening Trial Research T, Aberle DR, Berg CD, Black WC, Church TR, Fagerstrom RM, et al. The National Lung Screening Trial: overview and study design. *Radiology*. 2011;258(1):243-53.
97. National Lung Screening Trial Research T, Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, et al. Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*. 2011;365(5):395-409.
98. Gutierrez A, Suh R, Abtin F, Genshaft S, Brown K. Lung cancer screening. *Semin Intervent Radiol*. 2013;30(2):114-20.
99. Aberle DR, DeMello S, Berg CD, Black WC, Brewer B, Church TR, et al. Results of the two incidence screenings in the National Lung Screening Trial. *N Engl J Med*. 2013;369(10):920-31.
100. Goulart BH, Ramsey SD. Moving beyond the national lung screening trial: discussing strategies for implementation of lung cancer screening programs. *Oncologist*. 2013;18(8):941-6.

101. Blackmon SH, Feinglass SR. The United States Preventive Services Task Force recommendations for lung cancer screening. *Thorac Surg Clin.* 2015;25(2):199-203.
102. Ruchalski KL, Brown K. Lung Cancer Screening Update. *J Thorac Imaging.* 2016;31(4):190-200.
103. Wood DE. National Comprehensive Cancer Network (NCCN) Clinical Practice Guidelines for Lung Cancer Screening. *Thorac Surg Clin.* 2015;25(2):185-97.
104. Jacobson FL, Austin JH, Field JK, Jett JR, Keshavjee S, MacMahon H, et al. Development of The American Association for Thoracic Surgery guidelines for low-dose computed tomography scans to screen for lung cancer in North America: recommendations of The American Association for Thoracic Surgery Task Force for Lung Cancer Screening and Surveillance. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;144(1):25-32.
105. Ahrendt SA, Decker PA, Alawi EA, Zhu Yr YR, Sanchez-Cespedes M, Yang SC, et al. Cigarette smoking is strongly associated with mutation of the K-ras gene in patients with primary adenocarcinoma of the lung. *Cancer.* 2001;92(6):1525-30.
106. Field JK, van Klaveren R, Pedersen JH, Pastorino U, Paci E, Becker N, et al. European randomized lung cancer screening trials: Post NLST. *J Surg Oncol.* 2013;108(5):280-6.
107. Saghir Z, Dirksen A, Ashraf H, Bach KS, Brodersen J, Clementsen PF, et al. CT screening for lung cancer brings forward early disease. The randomised Danish Lung Cancer Screening Trial: status after five annual screening rounds with low-dose CT. *Thorax.* 2012;67(4):296-301.
108. Yousaf-Khan U, van der Aalst C, de Jong PA, Heuvelmans M, Scholten E, Lammers JW, et al. Final screening round of the NELSON

- lung cancer screening trial: the effect of a 2.5-year screening interval. *Thorax*. 2017;72(1):48-56.
109. Walter JE, Heuvelmans MA, de Jong PA, Vliegenthart R, van Ooijen PMA, Peters RB, et al. Occurrence and lung cancer probability of new solid nodules at incidence screening with low-dose CT: analysis of data from the randomised, controlled NELSON trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(7):907-16.
110. Walter JE, Heuvelmans MA, Bock GH, Yousaf-Khan U, Groen HJM, Aalst CMV, et al. Characteristics of new solid nodules detected in incidence screening rounds of low-dose CT lung cancer screening: the NELSON study. *Thorax*. 2018;73(8):741-7.
111. Cohen MH. Signs and symptoms of bronchogenic carcinoma. *Semin Oncol*. 1974;1(3):183-9.
112. Efthymiou C, Spyratos D, Kontakiotis T. Endocrine paraneoplastic syndromes in lung cancer. *Hormones (Athens)*. 2018;17(3):351-8.
113. Yi CA, Lee KS, Kim BT, Shim SS, Chung MJ, Sung YM, et al. Efficacy of helical dynamic CT versus integrated PET/CT for detection of mediastinal nodal metastasis in non-small cell lung cancer. *AJR Am J Roentgenol*. 2007;188(2):318-25.
114. Shim SS, Lee KS, Kim BT, Chung MJ, Lee EJ, Han J, et al. Non-small cell lung cancer: prospective comparison of integrated FDG PET/CT and CT alone for preoperative staging. *Radiology*. 2005;236(3):1011-9.
115. Yung RC. Tissue diagnosis of suspected lung cancer: selecting between bronchoscopy, transthoracic needle aspiration, and resectional biopsy. *Respir Care Clin N Am*. 2003;9(1):51-76.
116. Fielding D, Kurimoto N. Endobronchial Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspiration for Diagnosis and Staging of Lung Cancer. *Clin Chest Med*. 2018;39(1):111-23.

117. van der Heijden E, Candoli P, Vasilev I, Messi A, Perez Pallares J, Yablonskii P, et al. Image enhancement technology in bronchoscopy: a prospective multicentre study in lung cancer. *BMJ Open Respir Res.* 2018;5(1):e000295.
118. Detterbeck FC. The eighth edition TNM stage classification for lung cancer: What does it mean on main street? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2018;155(1):356-9.
119. Rami-Porta R, Call S, Doooms C, Obiols C, Sanchez M, Travis WD, et al. Lung cancer staging: a concise update. *Eur Respir J.* 2018;51(5).
120. El-Sherief AH, Lau CT, Obuchowski NA, Mehta AC, Rice TW, Blackstone EH. Cross-Disciplinary Analysis of Lymph Node Classification in Lung Cancer on CT Scanning. *Chest.* 2017;151(4):776-85.
121. Prenzel KL, Monig SP, Sinning JM, Baldus SE, Brochhagen HG, Schneider PM, et al. Lymph node size and metastatic infiltration in non-small cell lung cancer. *Chest.* 2003;123(2):463-7.
122. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(8):1623-40.
123. Depierre A, Milleron B, Moro-Sibilot D, Chevret S, Quoix E, Lebeau B, et al. Preoperative chemotherapy followed by surgery compared with primary surgery in resectable stage I (except T1N0), II, and IIIa non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20(1):247-53.
124. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, et al. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol.* 2008;26(21):3552-9.
125. Salah S, Tanvetyanon T, Abbasi S. Metastatectomy for extra-cranial extra-adrenal non-small cell lung cancer solitary metastases:

systematic review and analysis of reported cases. *Lung Cancer*. 2012;75(1):9-14.

126. Gomez DR, Blumenschein GR, Jr., Lee JJ, Hernandez M, Ye R, Camidge DR, et al. Local consolidative therapy versus maintenance therapy or observation for patients with oligometastatic non-small-cell lung cancer without progression after first-line systemic therapy: a multicentre, randomised, controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2016;17(12):1672-82.

127. Gomez DR, Tang C, Zhang J, Blumenschein GR, Jr., Hernandez M, Lee JJ, et al. Local Consolidative Therapy Vs. Maintenance Therapy or Observation for Patients With Oligometastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: Long-Term Results of a Multi-Institutional, Phase II, Randomized Study. *J Clin Oncol*. 2019;37(18):1558-65.

128. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2013;137(6):828-60.

129. Munfus-McCray D, Harada S, Adams C, Askin F, Clark D, Gabrielson E, et al. EGFR and KRAS mutations in metastatic lung adenocarcinomas. *Hum Pathol*. 2011;42(10):1447-53.

130. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, Negoro S, Okamoto I, Tsurutani J, 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(2):121-8.

131. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, Reungwetwattana T, Chewaskulyong B, Lee KH, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-

Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(2):113-25.

132. Lee CK, Wu YL, Ding PN, Lord SJ, Inoue A, Zhou C, et al. Impact of Specific Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Mutations and Clinical Characteristics on Outcomes After Treatment With EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors Versus Chemotherapy in EGFR-Mutant Lung Cancer: A Meta-Analysis. *J Clin Oncol*. 2015;33(17):1958-65.

133. Wu YL, Cheng Y, Zhou X, Lee KH, Nakagawa K, Niho S, et al. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18(11):1454-66.

134. Janne PA, Yang JC, Kim DW, Planchard D, Ohe Y, Ramalingam SS, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(18):1689-99.

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

136. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N, Sima CS, Zakowski MF, Pao W, et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2013;19(8):2240-7.

137. Thatcher N, Hirsch FR, Luft AV, Szczesna A, Ciuleanu TE, Dediu M, et al. Necitumumab plus gemcitabine and cisplatin versus gemcitabine and cisplatin alone as first-line therapy in patients with stage IV squamous non-small-cell lung cancer (SQUIRE): an open-label, randomised, controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(7):763-74.

138. Karachaliou N, Mayo C, Costa C, Magri I, Gimenez-Capitan A, Molina-Vila MA, et al. KRAS mutations in lung cancer. *Clin Lung Cancer*. 2013;14(3):205-14.
139. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1367-80.
140. Rodenhuis S, Boerrigter L, Top B, Slebos RJ, Mooi WJ, van't Veer L, et al. Mutational activation of the K-ras oncogene and the effect of chemotherapy in advanced adenocarcinoma of the lung: a prospective study. *J Clin Oncol*. 1997;15(1):285-91.
141. Schiller JH, Adak S, Feins RH, Keller SM, Fry WA, Livingston RB, et al. Lack of prognostic significance of p53 and K-ras mutations in primary resected non-small-cell lung cancer on E4592: a Laboratory Ancillary Study on an Eastern Cooperative Oncology Group Prospective Randomized Trial of Postoperative Adjuvant Therapy. *J Clin Oncol*. 2001;19(2):448-57.
142. Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, et al. Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol*. 2005;23(25):5900-9.
143. Roman M, Baraibar I, Lopez I, Nadal E, Rolfo C, Vicent S, et al. KRAS oncogene in non-small cell lung cancer: clinical perspectives on the treatment of an old target. *Mol Cancer*. 2018;17(1):33.
144. Hames ML, Chen H, Iams W, Aston J, Lovly CM, Horn L. Correlation between KRAS mutation status and response to chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2016;92:29-34.
145. Garassino MC, Marabese M, Rusconi P, Rulli E, Martelli O, Farina G, et al. Different types of K-Ras mutations could affect drug sensitivity

- and tumour behaviour in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2011;22(1):235-7.
146. Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, et al. KRAS mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med.* 2005;2(1):e17.
147. Fiala O, Pesek M, Finek J, Benesova L, Belsanova B, Minarik M. The dominant role of G12C over other KRAS mutation types in the negative prediction of efficacy of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet.* 2013;206(1-2):26-31.
148. Zer A, Ding K, Lee SM, Goss GD, Seymour L, Ellis PM, et al. Pooled Analysis of the Prognostic and Predictive Value of KRAS Mutation Status and Mutation Subtype in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Thorac Oncol.* 2016;11(3):312-23.
149. Ostrem JM, Peters U, Sos ML, Wells JA, Shokat KM. K-Ras(G12C) inhibitors allosterically control GTP affinity and effector interactions. *Nature.* 2013;503(7477):548-51.
150. Lito P, Solomon M, Li LS, Hansen R, Rosen N. Allele-specific inhibitors inactivate mutant KRAS G12C by a trapping mechanism. *Science.* 2016;351(6273):604-8.
151. Patricelli MP, Janes MR, Li LS, Hansen R, Peters U, Kessler LV, et al. Selective Inhibition of Oncogenic KRAS Output with Small Molecules Targeting the Inactive State. *Cancer Discov.* 2016;6(3):316-29.
152. Halliday PR, Blakely CM, Bivona TG. Emerging Targeted Therapies for the Treatment of Non-small Cell Lung Cancer. *Curr Oncol Rep.* 2019;21(3):21.

153. Planchard D, Kim TM, Mazieres J, Quoix E, Riely G, Barlesi F, et al. Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)-positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(5):642-50.
154. Gautschi O, Milia J, Cabarrou B, Bluthgen MV, Besse B, Smit EF, et al. Targeted Therapy for Patients with BRAF-Mutant Lung Cancer: Results from the European EURAF Cohort. *J Thorac Oncol.* 2015;10(10):1451-7.
155. Planchard D, Besse B, Groen HJM, Souquet PJ, Quoix E, Baik CS, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E)-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(7):984-93.
156. Yao Z, Torres NM, Tao A, Gao Y, Luo L, Li Q, et al. BRAF Mutants Evade ERK-Dependent Feedback by Different Mechanisms that Determine Their Sensitivity to Pharmacologic Inhibition. *Cancer Cell.* 2015;28(3):370-83.
157. Joshi M, Rice SJ, Liu X, Miller B, Belani CP. Trametinib with or without vemurafenib in BRAF mutated non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2015;10(2):e0118210.
158. Dahlman KB, Xia J, Hutchinson K, Ng C, Hucks D, Jia P, et al. BRAF(L597) mutations in melanoma are associated with sensitivity to MEK inhibitors. *Cancer Discov.* 2012;2(9):791-7.
159. Kim KB, Kefford R, Pavlick AC, Infante JR, Ribas A, Sosman JA, et al. Phase II study of the MEK1/MEK2 inhibitor Trametinib in patients with metastatic BRAF-mutant cutaneous melanoma previously treated with or without a BRAF inhibitor. *J Clin Oncol.* 2013;31(4):482-9.
160. Nichols RJ, Haderk F, Stahlhut C, Schulze CJ, Hemmati G, Wildes D, et al. RAS nucleotide cycling underlies the SHP2 phosphatase

- dependence of mutant BRAF-, NF1- and RAS-driven cancers. *Nat Cell Biol.* 2018;20(9):1064-73.
161. Arbour KC, Riely GJ. Diagnosis and Treatment of Anaplastic Lymphoma Kinase-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2017;31(1):101-11.
162. Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(18):1693-703.
163. Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, Seto T, Crino L, Ahn MJ, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2013;368(25):2385-94.
164. Soria JC, Tan DSW, Chiari R, Wu YL, Paz-Ares L, Wolf J, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2017;389(10072):917-29.
165. Hida T, Nokihara H, Kondo M, Kim YH, Azuma K, Seto T, et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer (J-ALEX): an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet.* 2017;390(10089):29-39.
166. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim DW, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017;377(9):829-38.
167. Lin JJ, Riely GJ, Shaw AT. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance. *Cancer Discov.* 2017;7(2):137-55.
168. Baglivo S, Ricciuti B, Ludovini V, Metro G, Siggillino A, De Giglio A, et al. Dramatic Response to Lorlatinib in a Heavily Pretreated Lung Adenocarcinoma Patient Harboring G1202R Mutation and a Synchronous Novel R1192P ALK Point Mutation. *J Thorac Oncol.* 2018;13(8):e145-e7.

169. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, Felip E, Soo RA, Camidge DR, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2018;19(12):1654-67.
170. Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2014;371(21):1963-71.
171. Gainor JF, Tseng D, Yoda S, Dagogo-Jack I, Friboulet L, Lin JJ, et al. Patterns of Metastatic Spread and Mechanisms of Resistance to Crizotinib in ROS1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2017;2017.
172. Lim SM, Kim HR, Lee JS, Lee KH, Lee YG, Min YJ, et al. Open-Label, Multicenter, Phase II Study of Ceritinib in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring ROS1 Rearrangement. *J Clin Oncol.* 2017;35(23):2613-8.
173. Facchinetti F, Friboulet L. Profile of entrectinib and its potential in the treatment of ROS1-positive NSCLC: evidence to date. *Lung Cancer (Auckl).* 2019;10:87-94.
174. Lee SH, Noh KB, Lee JS, Lee EJ, Min KH, Hur GY, et al. Thymidylate synthase and ERCC1 as predictive markers in patients with pulmonary adenocarcinoma treated with pemetrexed and cisplatin. *Lung Cancer.* 2013;81(1):102-8.
175. Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene.* 2012;31(15):1869-83.
176. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene.* 2003;22(47):7265-79.
177. Kennedy RD, D'Andrea AD. DNA repair pathways in clinical practice: lessons from pediatric cancer susceptibility syndromes. *J Clin Oncol.* 2006;24(23):3799-808.

178. Foulkes WD. BRCA1 and BRCA2: chemosensitivity, treatment outcomes and prognosis. *Fam Cancer*. 2006;5(2):135-42.
179. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(4):307-20.
180. Bellmunt J, Paz-Ares L, Cuello M, Cecere FL, Albiol S, Guillem V, et al. Gene expression of ERCC1 as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Ann Oncol*. 2007;18(3):522-8.
181. Song P, Yin Q, Lu M, Fu BO, Wang B, Zhao Q. Prognostic value of excision repair cross-complementation group 1 expression in gastric cancer: A meta-analysis. *Exp Ther Med*. 2015;9(4):1393-400.
182. Xuelei M, Jingwen H, Wei D, Hongyu Z, Jing Z, Changle S, et al. ERCC1 plays an important role in predicting survival outcomes and treatment response for patients with HNSCC: a meta-analysis. *Oral Oncol*. 2015;51(5):483-92.
183. Zhang L, Wang J, Xu L, Zhou J, Guan X, Jiang F, et al. Nucleotide excision repair gene ERCC1 polymorphisms contribute to cancer susceptibility: a meta-analysis. *Mutagenesis*. 2012;27(1):67-76.
184. Zhu J, Hua RX, Jiang J, Zhao LQ, Sun X, Luan J, et al. Association studies of ERCC1 polymorphisms with lung cancer susceptibility: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(5):e97616.
185. Chen M, Kamat AM, Huang M, Grossman HB, Dinney CP, Lerner SP, et al. High-order interactions among genetic polymorphisms in nucleotide excision repair pathway genes and smoking in modulating bladder cancer risk. *Carcinogenesis*. 2007;28(10):2160-5.
186. Matullo G, Guarrera S, Sacerdote C, Polidoro S, Davico L, Gamberini S, et al. Polymorphisms/haplotypes in DNA repair genes and smoking: a bladder cancer case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005;14(11 Pt 1):2569-78.

187. Bepler G, Gautam A, McIntyre LM, Beck AF, Chervinsky DS, Kim YC, et al. Prognostic significance of molecular genetic aberrations on chromosome segment 11p15.5 in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2002;20(5):1353-60.
188. Pitterle DM, Kim YC, Jolicoeur EM, Cao Y, O'Briant KC, Bepler G. Lung cancer and the human gene for ribonucleotide reductase subunit M1 (RRM1). *Mamm Genome*. 1999;10(9):916-22.
189. Pereira S, Fernandes PA, Ramos MJ. Mechanism for ribonucleotide reductase inactivation by the anticancer drug gemcitabine. *J Comput Chem*. 2004;25(10):1286-94.
190. Perez MA, Fernandes PA, Ramos MJ. Understanding the Mechanism for Ribonucleotide Reductase Inactivation by 2'- Deoxy-2'-methylenecytidine-5'-diphosphate. *J Chem Theory Comput*. 2010;6(9):2770-81.
191. Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, Gautam A, Cantor A, Sharma A, et al. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(29):4731-7.
192. Souglakos J, Boukovinas I, Taron M, Mendez P, Mavroudis D, Tripaki M, et al. Ribonucleotide reductase subunits M1 and M2 mRNA expression levels and clinical outcome of lung adenocarcinoma patients treated with docetaxel/gemcitabine. *Br J Cancer*. 2008;98(10):1710-5.
193. Ceppi P, Volante M, Novello S, Rapa I, Danenberg KD, Danenberg PV, et al. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine. *Ann Oncol*. 2006;17(12):1818-25.
194. Bergman AM, Eijk PP, Ruiz van Haperen VW, Smid K, Veerman G, Hubeek I, et al. In vivo induction of resistance to gemcitabine results

- in increased expression of ribonucleotide reductase subunit M1 as the major determinant. *Cancer Res.* 2005;65(20):9510-6.
195. Oguri T, Achiwa H, Sato S, Bessho Y, Takano Y, Miyazaki M, et al. The determinants of sensitivity and acquired resistance to gemcitabine differ in non-small cell lung cancer: a role of ABCC5 in gemcitabine sensitivity. *Mol Cancer Ther.* 2006;5(7):1800-6.
196. Gautam A, Li ZR, Bepler G. RRM1-induced metastasis suppression through PTEN-regulated pathways. *Oncogene.* 2003;22(14):2135-42.
197. Goan YG, Zhou B, Hu E, Mi S, Yen Y. Overexpression of ribonucleotide reductase as a mechanism of resistance to 2,2-difluorodeoxycytidine in the human KB cancer cell line. *Cancer Res.* 1999;59(17):4204-7.
198. Davidson JD, Ma L, Flagella M, Geeganage S, Gelbert LM, Slapak CA. An increase in the expression of ribonucleotide reductase large subunit 1 is associated with gemcitabine resistance in non-small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res.* 2004;64(11):3761-6.
199. Chen Y, Huang Y, Chen DM, Wu C, Leng QP, Wang WY, et al. RRM1 expression and the clinicopathological characteristics of patients with non-small cell lung cancer treated with gemcitabine. *Onco Targets Ther.* 2018;11:5579-89.
200. Wang R, Hu H, Pan Y, Li Y, Ye T, Li C, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(35):4352-9.
201. Drilon A, Rekhtman N, Arcila M, Wang L, Ni A, Albano M, et al. Cabozantinib in patients with advanced RET-rearranged non-small-cell lung cancer: an open-label, single-centre, phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(12):1653-60.

202. Yoh K, Seto T, Satouchi M, Nishio M, Yamamoto N, Murakami H, et al. Vandetanib in patients with previously treated RET-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (LURET): an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. 2017;5(1):42-50.
203. Kashima J, Kitadai R, Okuma Y. Molecular and Morphological Profiling of Lung Cancer: A Foundation for "Next-Generation" Pathologists and Oncologists. *Cancers (Basel)*. 2019;11(5).
204. Awad MM. Impaired c-Met Receptor Degradation Mediated by MET Exon 14 Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34(8):879-81.
205. Caparica R, Yen CT, Coudry R, Ou SI, Varella-Garcia M, Camidge DR, et al. Responses to Crizotinib Can Occur in High-Level MET-Amplified Non-Small Cell Lung Cancer Independent of MET Exon 14 Alterations. *J Thorac Oncol*. 2017;12(1):141-4.
206. Lange AM, Lo HW. Inhibiting TRK Proteins in Clinical Cancer Therapy. *Cancers (Basel)*. 2018;10(4).
207. Kroemer G, Galluzzi L, Kepp O, Zitvogel L. Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annu Rev Immunol*. 2013;31:51-72.
208. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*. 2001;411(6835):342-8.
209. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-64.
210. Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 2002;8(8):793-800.
211. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre,

- open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10030):1837-46.
212. Okuma Y, Wakui H, Utsumi H, Sagawa Y, Hosomi Y, Kuwano K, et al. Soluble Programmed Cell Death Ligand 1 as a Novel Biomarker for Nivolumab Therapy for Non-Small-cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer*. 2018;19(5):410-7 e1.
213. Yaghoubi N, Soltani A, Ghazvini K, Hassanian SM, Hashemy SI. PD-1/ PD-L1 blockade as a novel treatment for colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*. 2019;110:312-8.
214. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csoszi T, Fulop A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823-33.
215. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;376(25):2415-26.
216. Gandhi L, Garassino MC. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(11):e18.
217. Langer CJ, Gadgeel SM, Borghaei H, Papadimitrakopoulou VA, Patnaik A, Powell SF, et al. Carboplatin and pemetrexed with or without pembrolizumab for advanced, non-squamous non-small-cell lung cancer: a randomised, phase 2 cohort of the open-label KEYNOTE-021 study. *Lancet Oncol*. 2016;17(11):1497-508.
218. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, Tafreshi A, Gumus M, Mazieres J, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(21):2040-51.
219. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, Orlandi F, Stroyakovskiy D, Nogami N, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;378(24):2288-301.

220. Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol*. 2016;39(1):98-106.
221. Hellmann MD, Rizvi NA, Goldman JW, Gettinger SN, Borghaei H, Brahmer JR, et al. Nivolumab plus ipilimumab as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 012): results of an open-label, phase 1, multicohort study. *Lancet Oncol*. 2017;18(1):31-41.
222. Antonia S, Goldberg SB, Balmanoukian A, Chaft JE, Sanborn RE, Gupta A, et al. Safety and antitumour activity of durvalumab plus tremelimumab in non-small cell lung cancer: a multicentre, phase 1b study. *Lancet Oncol*. 2016;17(3):299-308.
223. Planchard D, Yokoi T, McCleod MJ, Fischer JR, Kim YC, Ballas M, et al. A Phase III Study of Durvalumab (MEDI4736) With or Without Tremelimumab for Previously Treated Patients With Advanced NSCLC: Rationale and Protocol Design of the ARCTIC Study. *Clin Lung Cancer*. 2016;17(3):232-6 e1.
224. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-39.
225. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crino L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-35.
226. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Perez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387(10027):1540-50.
227. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously

- treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2017;389(10066):255-65.
228. Michot JM, Bigenwald C, Champiat S, Collins M, Carbonnel F, Postel-Vinay S, et al. Immune-related adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review. *Eur J Cancer*. 2016;54:139-48.
229. Weber JS, Dummer R, de Pril V, Lebbe C, Hodi FS, Investigators MDX. Patterns of onset and resolution of immune-related adverse events of special interest with ipilimumab: detailed safety analysis from a phase 3 trial in patients with advanced melanoma. *Cancer*. 2013;119(9):1675-82.
230. Lee CK, Man J, Lord S, Links M, GebSKI V, Mok T, et al. Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer-A Meta-Analysis. *J Thorac Oncol*. 2017;12(2):403-7.
231. Mino-Kenudson M. Immunohistochemistry for predictive biomarkers in non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2017;6(5):570-87.
232. Lee KH, Min HS, Han SW, Oh DY, Lee SH, Kim DW, et al. ERCC1 expression by immunohistochemistry and EGFR mutations in resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2008;60(3):401-7.
233. Song Z, Yu X, Cheng G, Zhang Y. Programmed death-ligand 1 expression associated with molecular characteristics in surgically resected lung adenocarcinoma. *J Transl Med*. 2016;14(1):188.
234. Lan B, Ma C, Zhang C, Chai S, Wang P, Ding L, et al. Association between PD-L1 expression and driver gene status in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2018;9(7):7684-99.
235. Evans M, O'Sullivan B, Hughes F, Mullis T, Smith M, Trim N, et al. The Clinicopathological and Molecular Associations of PD-L1

- Expression in Non-small Cell Lung Cancer: Analysis of a Series of 10,005 Cases Tested with the 22C3 Assay. *Pathol Oncol Res.* 2018.
236. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csoszi T, Fulop A, et al. Updated Analysis of KEYNOTE-024: Pembrolizumab Versus Platinum-Based Chemotherapy for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer With PD-L1 Tumor Proportion Score of 50% or Greater. *J Clin Oncol.* 2019;37(7):537-46.
237. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(21):2018-28.
238. Cha YJ, Kim HR, Lee CY, Cho BC, Shim HS. Clinicopathological and prognostic significance of programmed cell death ligand-1 expression in lung adenocarcinoma and its relationship with p53 status. *Lung Cancer.* 2016;97:73-80.
239. Sun JM, Zhou W, Choi YL, Choi SJ, Kim SE, Wang Z, et al. Prognostic Significance of PD-L1 in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Large Cohort Study of Surgically Resected Cases. *J Thorac Oncol.* 2016;11(7):1003-11.
240. Zhang M, Li G, Wang Y, Wang Y, Zhao S, Haihong P, et al. PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7(1):10255.
241. Wu S, Shi X, Sun J, Liu Y, Luo Y, Liang Z, et al. The significance of programmed cell death ligand 1 expression in resected lung adenocarcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(10):16421-9.
242. Ji M, Liu Y, Li Q, Li X, Ning Z, Zhao W, et al. PD-1/PD-L1 expression in non-small-cell lung cancer and its correlation with EGFR/KRAS mutations. *Cancer Biol Ther.* 2016;17(4):407-13.
243. Azuma K, Ota K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Harada T, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations

in surgically resected nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*.

2014;25(10):1935-40.

244. Ota K, Azuma K, Kawahara A, Hattori S, Iwama E, Tanizaki J, et al. Induction of PD-L1 Expression by the EML4-ALK Oncoprotein and Downstream Signaling Pathways in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(17):4014-21.

245. Zhang Y, Wang L, Li Y, Pan Y, Wang R, Hu H, 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.

246. Calles A, Liao X, Sholl LM, Rodig SJ, Freeman GJ, Butaney M, et al. Expression of PD-1 and Its Ligands, PD-L1 and PD-L2, in Smokers and Never Smokers with KRAS-Mutant Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2015;10(12):1726-35.

247. Huynh TG, Morales-Oyarvide V, Campo MJ, Gainor JF, Bozkurtlar E, Uruga H, et al. Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Resected Lung Adenocarcinomas: Association with Immune Microenvironment. *J Thorac Oncol*. 2016;11(11):1869-78.

248. Cooper WA, Tran T, Vilain RE, Madore J, Selinger CI, Kohonen-Corish M, et al. PD-L1 expression is a favorable prognostic factor in early stage non-small cell carcinoma. *Lung Cancer*. 2015;89(2):181-8.

249. Yang H, Chen H, Luo S, Li L, Zhou S, Shen R, et al. The correlation between programmed death-ligand 1 expression and driver gene mutations in NSCLC. *Oncotarget*. 2017;8(14):23517-28.

250. Parra ER, Villalobos P, Zhang J, Behrens C, Mino B, Swisher S, et al. Immunohistochemical and Image Analysis-Based Study Shows That Several Immune Checkpoints are Co-expressed in Non-Small Cell Lung Carcinoma Tumors. *J Thorac Oncol*. 2018;13(6):779-91.

251. Scheel AH, Ansen S, Schultheis AM, Scheffler M, Fischer RN, Michels S, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung cancer: Correlations with genetic alterations. *Oncoimmunology*. 2016;5(5):e1131379.
252. D'Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, Rossi E, Capodanno A, Landi L, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. *Br J Cancer*. 2015;112(1):95-102.
253. Ye L, Leslie C, Jacques A, Mesbah Ardakani N, Amanuel B, Millward M. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer in a Western Australian population and correlation with clinicopathologic features. *Mod Pathol*. 2019;32(4):524-31.
254. Zhu YC, Zhang XG, Lin XP, Wang WX, Li XF, Wu LX, et al. Clinicopathological features and clinical efficacy of crizotinib in Chinese patients with ROS1-positive non-small cell lung cancer. *Oncol Lett*. 2019;17(3):3466-74.
255. Chen N, Fang W, Lin Z, Peng P, Wang J, Zhan J, et al. KRAS mutation-induced upregulation of PD-L1 mediates immune escape in human lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(9):1175-87.
256. Sumimoto H, Takano A, Teramoto K, Daigo Y. RAS-Mitogen-Activated Protein Kinase Signal Is Required for Enhanced PD-L1 Expression in Human Lung Cancers. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166626.
257. Miura Y, Sunaga N, Kaira K, Tsukagoshi Y, Osaki T, Sakurai R, et al. Abstract 4028: OncogenicKRASmutations induce PD-L1 overexpression through MAPK pathway activation in non-small cell lung cancer cells. *Cancer Research*. 2016;76(14 Supplement):4028-.
258. Skoulidis F, Byers LA, Diao L, Papadimitrakopoulou VA, Tong P, Izzo J, et al. Co-occurring genomic alterations define major subsets of KRAS-mutant lung adenocarcinoma with distinct biology, immune

- profiles, and therapeutic vulnerabilities. *Cancer Discov.* 2015;5(8):860-77.
259. Dong ZY, Zhong WZ, Zhang XC, Su J, Xie Z, Liu SY, et al. Potential Predictive Value of TP53 and KRAS Mutation Status for Response to PD-1 Blockade Immunotherapy in Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2017;23(12):3012-24.
260. Li D, Zhu X, Wang H, Li N. Association between PD-L1 expression and driven gene status in NSCLC: A meta-analysis. *Eur J Surg Oncol.* 2017;43(7):1372-9.
261. Tang Y, Fang W, Zhang Y, Hong S, Kang S, Yan Y, et al. The association between PD-L1 and EGFR status and the prognostic value of PD-L1 in advanced non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. *Oncotarget.* 2015;6(16):14209-19.
262. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer.* 2014;50(7):1361-9.
263. Igawa S, Sato Y, Ryuge S, Ichinoe M, Katono K, Hiyoshi Y, et al. Impact of PD-L1 Expression in Patients with Surgically Resected Non-Small-Cell Lung Cancer. *Oncology.* 2017;92(5):283-90.
264. Rangachari D, VanderLaan PA, Shea M, Le X, Huberman MS, Kobayashi SS, et al. Correlation between Classic Driver Oncogene Mutations in EGFR, ALK, or ROS1 and 22C3-PD-L1 $\geq 50\%$ Expression in Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2017;12(5):878-83.
265. Schmidt LH, Kummel A, Gorlich D, Mohr M, Brockling S, Mikesch JH, et al. PD-1 and PD-L1 Expression in NSCLC Indicate a Favorable Prognosis in Defined Subgroups. *PLoS One.* 2015;10(8):e0136023.

266. Chen N, Fang W, Zhan J, Hong S, Tang Y, Kang S, et al. Upregulation of PD-L1 by EGFR Activation Mediates the Immune Escape in EGFR-Driven NSCLC: Implication for Optional Immune Targeted Therapy for NSCLC Patients with EGFR Mutation. *J Thorac Oncol.* 2015;10(6):910-23.
267. Inoue Y, Yoshimura K, Mori K, Kurabe N, Kahyo T, Mori H, et al. Clinical significance of PD-L1 and PD-L2 copy number gains in non-small-cell lung cancer. *Oncotarget.* 2016;7(22):32113-28.
268. Kim JH, Kim HS, Kim BJ. Prognostic value of KRAS mutation in advanced non-small-cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis and review. *Oncotarget.* 2017;8(29):48248-52.
269. Lee CK, Man J, Lord S, Cooper W, Links M, GebSKI V, et al. Clinical and Molecular Characteristics Associated With Survival Among Patients Treated With Checkpoint Inhibitors for Advanced Non-Small Cell Lung Carcinoma: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2018;4(2):210-6.
270. Falk AT, Yazbeck N, Guibert N, Chamorey E, Paquet A, Ribeyre L, et al. Effect of mutant variants of the KRAS gene on PD-L1 expression and on the immune microenvironment and association with clinical outcome in lung adenocarcinoma patients. *Lung Cancer.* 2018;121:70-5.
271. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science.* 2015;348(6230):124-8.
272. Matikas A, Mistriotis D, Georgoulas V, Kotsakis A. Targeting KRAS mutated non-small cell lung cancer: A history of failures and a future of hope for a diverse entity. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2017;110:1-12.

273. Ihle NT, Byers LA, Kim ES, Saintigny P, Lee JJ, Blumenschein GR, et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(3):228-39.
274. Stephen AG, Esposito D, Bagni RK, McCormick F. Dragging ras back in the ring. *Cancer Cell.* 2014;25(3):272-81.
275. Ng TL, Liu Y, Dimou A, Patil T, Aisner DL, Dong Z, et al. Predictive value of oncogenic driver subtype, programmed death-1 ligand (PD-L1) score, and smoking status on the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with oncogene-driven non-small cell lung cancer. *Cancer.* 2019;125(7):1038-49.
276. Mu D, Hsu DS, Sancar A. Reaction mechanism of human DNA repair excision nuclease. *J Biol Chem.* 1996;271(14):8285-94.
277. Zamble DB, Mu D, Reardon JT, Sancar A, Lippard SJ. Repair of cisplatin--DNA adducts by the mammalian excision nuclease. *Biochemistry.* 1996;35(31):10004-13.
278. De Silva IU, McHugh PJ, Clingen PH, Hartley JA. Defining the roles of nucleotide excision repair and recombination in the repair of DNA interstrand cross-links in mammalian cells. *Mol Cell Biol.* 2000;20(21):7980-90.
279. Lian S, Su H, Zhao BX, Liu WY, Zheng LW, Miao JY. Synthesis and discovery of pyrazole-5-carbohydrazide N-glycosides as inducer of autophagy in A549 lung cancer cells. *Bioorg Med Chem.* 2009;17(20):7085-92.
280. Cobo M, Isla D, Massuti B, Montes A, Sanchez JM, Provencio M, et al. Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: a phase III trial in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(19):2747-54.

281. Holm B, Mellempgaard A, Skov T, Skov BG. Different impact of excision repair cross-complementation group 1 on survival in male and female patients with inoperable non-small-cell lung cancer treated with carboplatin and gemcitabine. *J Clin Oncol*. 2009;27(26):4254-9.
282. Zheng Z, Chen T, Li X, Haura E, Sharma A, Bepler G. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer. *N Engl J Med*. 2007;356(8):800-8.
283. Friboulet L, Olaussen KA, Pignon JP, Shepherd FA, Tsao MS, Graziano S, et al. ERCC1 isoform expression and DNA repair in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2013;368(12):1101-10.
284. Kerr KM, Thunnissen E, Dafni U, Finn SP, Bubendorf L, Soltermann A, et al. A retrospective cohort study of PD-L1 prevalence, molecular associations and clinical outcomes in patients with NSCLC: Results from the European Thoracic Oncology Platform (ETOP) Lungscape Project. *Lung Cancer*. 2019;131:95-103.
285. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. *Lab Invest*. 2014;94(1):107-16.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ-ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

1. Association between PD-L1 expression and driver gene mutations in non-small cell lung cancer patients; correlation with clinical data

EA Karatrasoglou et al, Virchows Archiv,

DOI: 10.1007/s00428-020-02756-1

2. ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ PD-L1 ΣΤΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟΥΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ EGFR, KRAS.

Abstract 25^ο ΕΣΚΟ, Απρίλιος 2019, Αθήνα

3. CLINICOPATHOLOGICAL AND MOLECULAR ASSOCIATIONS OF PD-L1 EXPRESSION IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Abstract “5th Symposium on Thoracic and Upper Aerodigestive Malignacies”, Μάιος 2019, Αθήνα

4. Predictive Biomarker Analysis of Non-Small Cell Lung Cancer Patients

Abstract 31st European Congress of Pathology, Σεπτέμβριος 2019, Νίκαια Γαλλία