






Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  [http://cat.creativecommons.org/?page\\_id=184](http://cat.creativecommons.org/?page_id=184)

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**Efectes adversos immuno-relacionats i associació amb  
l'eficàcia de la immunoteràpia en pacients amb càncer  
de pulmó de cèl·lula no petita**

Tesi doctoral  
**Mariona Riudavets Melià**

Directora:  
Dra. Margarita Majem Tarruella

Tutor:  
Dr. Josep Nomdedéu Guinot

Departament de Medicina  
Programa de Doctorat en Medicina  
Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2021



## AGRAÏMENTS

Primer de tot, gràcies a la meva directora de tesi, na Margarita Majem, sense el seu empeny i dedicació no hagués sigut res de tot això possible. Gràcies per confiar en jo.

Al meu tutor de tesi, el Dr. Josep F. Nomdedéu, per ajudar-me sempre que ho he necessitat.

A la Sílvia Vidal, el Carlos Zamora i la Letícia Alserawan, del departament d'Immunologia, per obrir-nos la porta en aquest camp i, de forma desinteressada, ajudar-me i guiar-me en aquest projecte. Moltes gràcies!

A tots els residents i a totes les infermeres d'Oncologia mèdica per sempre ajudar-me i entendre'm durant aquests darrers 5 anys.

Al servei d'Oncologia mèdica de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, i de forma especial a na Ivana Sullivan, per tot lo que he après aquests anys.

A na Jorgina Serra i a na Hye Park, quina sort haver-vos trobat!

Als meus pares, al meu germà i al meu avi, que després de 10 anys repetint-me que li sabia greu no veure'm convertir en metgessa, aquest 2021 i amb 95 anys... esper que em pugui veure convertir en Doctora!

Entre Menorca, Barcelona i París.



Als meus pares i al meu germà,

A tots el prínceps i princeses de Maine,

*Que tot està per fer i tot és possible,*

Miquel Martí i Pol



## ABREVIACIONS

18F-FDG	Fluor-18-fluorodesoxiglucosa
ADH	De l'anglès, <i>Anti-Diuretic Hormone</i>
ADN	Àcid desoxiribonucleic
ADPGK	De l'anglès, <i>Adenosine Diphosphate-specific Gluco-Kinase</i>
AEMPS	<i>Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios</i>
AJCC	De l'anglès, <i>American Joint Committee on Cancer</i>
ALCAM	De l'anglès, <i>Activated Leukocyte Cell Adhesion Molecule</i>
ALK	De l'anglès, <i>Anaplastic Lymphoma Kinase</i>
APC	De l'anglès, <i>Antigen Presenting Cell</i>
ARID1A	De l'anglès, <i>AT-Rich Interaction Domain 1A</i>
ASCO	De l'anglès, <i>American Society of Clinical Oncology</i>
ATS	De l'anglès, <i>American Thoracic Society</i>
AUC	De l'anglès, <i>Area Under the Curve</i>
<i>BRAF</i>	De l'anglès, <i>B-RAF proto-oncogene serine/threonine kinase</i>
BSC	De l'anglès, <i>Best Supportive Care</i>
CBDCA	Carboplatí
CDDP	Cisplatí
CEACAM1	De l'anglès, <i>Carcinoembryonic Antigen Cell Adhesion Molecule 1</i>
CMH/MHC	Complex Major d'Histocompatibilitat; en anglès, <i>Major Histocompatibility Complex</i>
CPCNP	Càncer de Pulmó de Cèl·lula No Petita
CTCAE	De l'anglès, <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
CTLA-4	De l'anglès, <i>Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated protein 4</i>
CXCL5	De l'anglès, <i>C-X-C motif Chemokine 5</i>
DLCO	De l'anglès, <i>Diffusing capacity of the Lung for carbon monoxide (CO)</i>
dNLR	De l'anglès, <i>Derived Neutrophils/[Leukocytes minus neutrophils] Ratio</i>
EBUS	De l'anglès, <i>Endoscopic Bronchial Ultrasound</i>



ECG	Electrocardiograma
ECOG	De l'anglès, <i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EGFR	De l'anglès, <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
EMA	De l'anglès, <i>European Medicines Agency</i>
ERS	De l'anglès, <i>European Respiratory Society</i>
ESMO	De l'anglès, <i>European Society for Medical Oncology</i>
EUS	De l'anglès, <i>Endoscopic Ultrasound</i>
FDA	De l'anglès, <i>U.S. Food and Drug Administration</i>
FEV1	De l'anglès, <i>Forced Expiratory Volume in 1 second</i>
FEVE	Fracció d'Ejecció Ventricle Esquerre
FISH	De l'anglès, <i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
FVC	De l'anglès, <i>Forced expiratory Vital Capacity</i>
GM-CSF	De l'anglès, <i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
GP	Glicoproteïna (exemples: GPIIb, GPIb...)
Gy	De l'anglès, <i>Grays</i>
HBsAg	Antigen de superfície de l'hepatitis B
HR	De l'anglès, <i>Hazard Ratio</i>
IARC	De l'anglès, <i>International Agency for Research on Cancer</i>
IASLC	De l'anglès, <i>International Association for the Study of Lung Cancer</i>
IC	Interval de Confiança
IL	Interleucina
INF	Interferó
irAEs	De l'anglès, <i>Immune-Related Adverse Events</i>
ITK	Inhibidors de tirosina-quinasa; TK, <i>Tyrosine-Kinase</i>
KEAP1	De l'anglès, <i>Kelch-like ECH-Associated Protein 1</i>
KRAS	De l'anglès, <i>V-Ki-RAS2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
LDH	Lactat Deshidrogenasa
LIPI	De l'anglès, <i>Lung Immune Prognostic Index</i>

<b>Mac1</b>	De l'anglès, <i>Macrophage-1 antigen</i>
<b>MCP-1</b>	De l'anglès, <i>Monocyte Chemoattractant Protein 1</i>
<b>MET</b>	De l'anglès, <i>Mesenchymal and Epithelial Transition</i>
<b>MIP</b>	De l'anglès, <i>Macrophage Inflammatory Protein</i>
<b>MSI</b>	De l'anglès, <i>Microsatellite Instability</i>
<b>NK</b>	De l'anglès, <i>Natural Killer</i>
<b>NOS</b>	De l'anglès, <i>Not Otherwise Specified</i>
<b>NGS</b>	De l'anglès, <i>Next-Generation Sequencing</i>
<b>NTRK</b>	De l'anglès, <i>Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase</i>
<b>OMS/WHO</b>	Organització Mundial de la Salut; en anglès, <i>World Health Organization</i>
<b>ORR</b>	De l'anglès, <i>Objective Response Rate</i>
<b>PAAF</b>	Punció Aspiració amb Agulla Fina
<b>PCR</b>	De l'anglès, <i>Protein Chain Reaction</i>
<b>PD-1</b>	De l'anglès, <i>Programmed Cell Death 1</i>
<b>PD-L1/2</b>	De l'anglès, <i>Programmed Death-Ligand 1/2</i>
<b>PET-TC</b>	De l'anglès, <i>Positron Emission Tomography-Computed Tomography</i>
<b>PLT</b>	Plaquetes
<b>PORT</b>	De l'anglès, <i>Postoperative Radiotherapy</i>
<b>PS</b>	De l'anglès, <i>Performance Status</i>
<b>PSGL1</b>	De l'anglès, <i>P-selectina Glycoprotein Ligand 1</i>
<b>RB1</b>	Retinoblastoma 1
<b>RET</b>	De l'anglès, <i>Rearranged During Transfection</i>
<b>RMN</b>	Ressonància Magnètica Nuclear
<b>ROS1</b>	De l'anglès, <i>ROS proto-oncogene 1 receptor tyrosine-kinase</i>
<b>RR</b>	Risc Relatiu
<b>SART</b>	De l'anglès, <i>Stereotactic Ablative Radiotherapy</i>
<b>SEOM</b>	<i>Sociedad Española de Oncología Médica</i>
<b>SG</b>	Supervivència Global

<b>SKT11</b>	De l'anglès, <i>Serine/Threonine Kinase 11</i>
<b>SLP</b>	Supervivència Lliure de Progressió
<b>SUV</b>	De l'anglès, <i>Standard Uptake Value</i>
<b>TC</b>	Tomografia Computeritzada
<b>TCR</b>	De l'anglès, <i>T Cell Receptor</i>
<b>TLR</b>	De l'anglès, <i>Toll-Like receptor</i>
<b>TMB</b>	De l'anglès, <i>Tumor Mutational Burden</i>
<b>TNF</b>	De l'anglès, <i>Tumoral Necrosis Factor</i>
<b>TP53</b>	De l'anglès, <i>Tumor Protein 53</i>
<b>TTF1</b>	De l'anglès, <i>Thyroid Transcription Factor-1</i>
<b>UICC</b>	De l'anglès, <i>Union for International Cancer Control</i>
<b>VHB</b>	Virus de la Hepatitis B
<b>VHC</b>	Virus de la Hepatitis C
<b>VIH</b>	Virus de la Immunodeficiència Humana
<b>WCLC</b>	De l'anglès, <i>World Conference on Lung Cancer</i>
<b>WES</b>	De l'anglès, <i>Whole-Exome Sequencing</i>





# ÍNDIX

RESUM .....	17
SUMMARY .....	19
<b>1. INTRODUCCIÓ .....</b>	<b>23</b>
<b>1.1. El càncer de pulmó</b>	
1.1.1. Epidemiologia i classificació del càncer de pulmó .....	25
1.1.2. Factors de risc del càncer de pulmó .....	26
1.1.3. Prevenció i cribratge del càncer de pulmó	
1.1.3.1. Prevenció: deshabitació tabàquica .....	28
1.1.3.2. Cribratge del càncer de pulmó.....	28
1.1.4. Diagnòstic i estadificació del CPCNP	
1.1.4.1. Presentació clínica .....	29
1.1.4.2. Procediments diagnòstics i d'estadificació .....	29
1.1.5. Sistema d'estadificació i supervivència del CPCNP .....	32
1.1.6. Classificació histopatològica, immunohistoquímica i molecular del CPCNP .....	35
1.1.6.1. Expressió de PD-L1 .....	36
1.1.6.2. Caracterització genòmica del CPCNP .....	37
1.1.7. Factors pronòstics del CPCNP .....	38
1.1.8. Tractament del CPCNP	
1.1.8.1. Malaltia localitzada - estadis I-II .....	39
1.1.8.2. Malaltia localment avançada - estadis III .....	40
1.1.8.3. Malaltia avançada - estadis IV .....	43
<b>1.2. Immunoteràpia</b>	
1.2.1. Bases de la immunologia i càncer .....	48
1.2.1.1. CTLA-4.....	49
1.2.1.2. PD-1 .....	49
1.2.2. Immunoteràpia en CPCNP .....	50
1.2.2.1. Primera línia .....	51
1.2.2.2. Segona línia .....	55
1.2.3. Immunoteràpia i situacions especials .....	56
1.2.4. Factors predictius de la immunoteràpia en CPCNP.....	60

1.3. Toxicitat dels inhibidors dels <i>immune-checkpoint</i>	
1.3.1. Epidemiologia i patogènia dels <i>irAEs</i>	62
1.3.2. Tipus d' <i>irAEs</i>	63
1.3.3. Maneig dels <i>irAEs</i>	64
1.3.4. Relació entre els <i>irAEs</i> i l'eficàcia de la immunoteràpia	66
1.3.5. Biomarcadors predictius dels <i>irAEs</i>	68
2. HIPÒTESIS	71
3. OBJECTIUS	75
4. MATERIAL I MÈTODES - ARTICLES	79
4.1. Anàlisi de l'associació entre la presència d' <i>irAEs</i> i l'ús de corticosteroides amb l'eficàcia dels inhibidors dels <i>immune-checkpoint</i> en el CPCNP avançat	81
4.2. Anàlisi dels complexos leucòcits-plaquetes circulants com a factor predictiu dels <i>irAEs</i> , el seu tipus i la seva severitat, en el CPCNP avançat	95
5. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS	113
6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ	121
7. CONCLUSIONS	133
8. LÍNIES DE FUTUR	137
9. BIBLIOGRAFIA	141
10. ANNEXES	171
10.1. Annex 1	173
10.2. Annex 2	175
10.3. Annex 3	177







## RESUM

Els inhibidors dels *immune-checkpoint* han revolucionat l'estratègia terapèutica del càncer de pulmó de cèl·lula no petita (CPCNP). Tot i així, donat el seu mecanisme d'acció, poden produir efectes adversos de tipus inflamatori, anomenats efectes adversos immuno-relacionats o *irAEs* (sigles en anglès, de *immune-related adverse events*), que són relativament freqüents (un 60-85% dels pacients tractats amb immunoteràpia presentarà *irAEs*, essent un 10-38% d'ells de grau 3-4). Els *irAEs* sovint cursen amb símptomes inespecífics, dificultant i endarrerint el seu diagnòstic i fent que avancin a formes més greus en un percentatge important de casos, obligant així a la suspensió permanent del tractament.

Al seu torn, diferents estudis han demostrat una associació entre el desenvolupament dels *irAEs* i uns millors resultats del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en diferents tipus de tumors sòlids, convertint-se així en un factor predictiu de resposta a aquests. També, s'ha observat una correlació negativa entre l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* i l'ús de corticosteroides pel maneig de símptomes derivats de la malaltia oncològica, però quan aquests són utilitzats pel tractament dels *irAEs* no s'ha analitzat específicament.

Per tant, amb l'ús cada cop més extens dels inhibidors dels *immune-checkpoint*, la detecció i el tractament precoç de la toxicitat immuno-relacionada, i especialment de les seves formes més greus, s'ha convertit en una peça clau en el maneig del CPCNP per poder garantir la continuïtat del tractament amb immunoteràpia.

L'objectiu principal d'aquesta tesi era analitzar l'associació entre els *irAEs* i l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en pacients afectes de CPCNP avançat, utilitzant l'anàlisi *landmark* per evitar el biaix degut a la naturalesa temps-depenent dels efectes adversos. Com a objectius secundaris, definir l'impacte de l'ús concomitant de corticosteroides, distingint entre l'ús pel maneig dels *irAEs* i pel control de símptomes derivats de la malaltia oncològica; així com avaluar el paper dels complexos leucòcits-plaquetes (PLT) com a biomarcador predictiu del desenvolupament de la toxicitat immuno-relacionada.

Aplicant l'anàlisi *landmark*, el grup de pacients que va desenvolupar *irAEs* va presentar una millora significativa en supervivència global (SG), supervivència lliure de progressió (SLP) i

resposta al tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. En l'anàlisi multivariat, la presència dels *irAEs* va ser la variable independent associada tant a una major supervivència global com a una major taxa de resposta objectiva.

Els pacients que van rebre corticosteroides a dosis equivalents  $\geq 10$  mg de prednisona diaris pel control de símptomes relacionats amb el càncer presentaven una pitjor supervivència global respecte la resta de pacients. No es van observar diferències entre els pacients que rebien corticosteroides a dosis equivalents  $\geq 10$  mg de prednisona diaris pel maneig dels *irAEs*, els que rebien dosis equivalents  $< 10$  mg de prednisona diaris per qualsevol indicació o els que no prenién corticosteroides de forma concomitant al tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.

Respecte a donants sans, els pacients amb CPCNP avançat presentaven percentatges més alts de complexos leucòcits-PLT circulants. Els anàlisis es van focalitzar en els monòcits units a plaquetes (complexes CD14+PLT+) i limfòcits CD4+ units a plaquetes (complexes CD4+PLT+), donada la seva correlació amb els neutròfils i altres subpoblacions de limfòcits units a plaquetes, considerant-se representatius de les línies mieloide i limfoide, respectivament.

El percentatge dels complexos CD4+PLT+ es van correlacionar amb el recompte de plaquetes en sang en els pacients amb CPCNP avançat. El grup amb el percentatge més elevat de CD4+PLT+ presentava una major incidència d'*irAEs* dermatològics, la majoria de grau 1; mentre que el grup amb un percentatge més baix de complexos CD4+PLT+ presentava més *irAEs* no dermatològics i de grau  $\geq 2$ . No es van observar diferències entre els percentatges alts o baixos dels complexos CD14+PLT+ i el tipus i severitat dels *irAEs*. Els pacients amb percentatges alts de complexos CD4+PLT+ i baixos de CD14+PLT+ van presentar menys *irAEs*, tots ells de tipus dermatològic i de grau 1. En canvi, aquells amb percentatges baixos de CD4+PLT+ i alts CD14+PLT+ presentaven una major incidència d'*irAEs* i de tipus no-dermatològic, predominant la colitis i l'hepatitis, amb la major proporció d'*irAEs* grau  $\geq 3$ .

Així, aquests resultats suggereixen que els complexos leucòcits-PLT circulants i la combinació dels percentatges de CD4+PLT+ i CD14+PLT+ podrien utilitzar-se com a biomarcadors predictius del tipus i la gravetat dels *irAEs* en pacients amb CPCNP avançat tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, l'eficàcia dels quals es correlaciona amb la presència d'aquest tipus de toxicitat.

## SUMMARY

Immune-checkpoint inhibitors have revolutionized the therapeutic strategy in non-small cell lung cancer (NSCLC). However, given their mechanism of action, they can produce inflammatory-type adverse effects, called immune-related adverse events or irAEs, which are relatively common (60-85% of patients treated with immunotherapy will present irAEs of any grade and 10-38% irAEs grade 3-4). IrAEs often present with nonspecific symptoms, making it difficult and delaying their diagnosis, what leads their progression to more severe forms in an important percentage of cases, forcing the permanent suspension of treatment.

In turn, different studies have shown an association between the development of irAEs and better treatment outcomes with immune-checkpoint inhibitors in different solid tumors, thus becoming a predictive factor for their response. Also, a negative correlation has been observed between the efficacy of immune-checkpoint inhibitors and the use of corticosteroids for the management of symptoms derived from the oncological disease, but when they are used for the treatment of irAEs has not been specifically analyzed.

Therefore, with the increasing use of immune checkpoint inhibitors, the early detection and treatment of immune-related toxicity, and especially of its more severe forms, has become a key piece in the management of CPCNP, so to guarantee the continuity of the treatment with immunotherapy.

The main objective of this thesis was to analyze the association between irAEs and the efficacy of immune-checkpoint inhibitors in patients with advanced NSCLC, using the landmark analysis to avoid the immortal-time bias derived from the time-depending nature of this type of toxicity. As secondary objectives, to define the impact of concomitant corticosteroids use, distinguishing between their use for the management of irAEs and for the control of symptoms derived from the oncological condition; as well as evaluating the role of leukocyte-platelet (PLT) complexes as a form of predictive biomarker of immune-related toxicity development.

Applying the landmark analysis, the group of patients who developed irAEs presented statistically significantly better survival outcomes, both overall and progression-free survival, as well as response to treatment with immune-checkpoint inhibitors. In the multivariate

analysis, the presence of irAEs was the only independent variable associated with both a greater overall survival and a higher objective response rate.

Patients who received corticosteroids at equivalent doses of  $\geq 10$  mg of prednisone daily for the management of cancer-related symptoms had worse overall survival than the rest of patients. No differences were observed between patients receiving corticosteroids at equivalent doses of  $\geq 10$  mg of prednisone daily for the treatment of irAEs, patients receiving equivalent doses of  $< 10$  mg for any indication, or those not taking corticosteroids concomitantly with immune-checkpoint inhibitors.

In contrast to healthy donors, patients with advanced NSCLC presented higher percentages of circulating leukocyte-PLT complexes. Analyzes focused on platelet-bound monocytes (CD14+PLT+ complexes) and platelet-bound CD4+ lymphocytes (CD4+PLT+ complexes), given their correlation with neutrophils and other platelet-bound lymphocyte subpopulations, considering them representative of the myeloid and lymphoid lines, respectively.

The percentage of CD4+PLT+ complexes was correlated with platelet blood count in patients with advanced NSCLC. The group with the highest percentage of CD4+PLT+ had a higher incidence of dermatological irAEs, most of them grade 1; while the group with a lower percentage of CD4+PLT+ showed more non-dermatological and grade  $\geq 2$  irAEs. No differences were observed between the high or low percentages of the CD14+PLT+ complexes and the type and severity of irAEs. Patients with high percentages of CD4+PLT+ and low percentages of CD14+PLT+ presented the lowest rate of irAEs, all of them dermatological and grade 1. In contrast, those with low percentages of CD4+PLT+ and high CD14+PLT+ had a higher incidence of irAEs overall, of non-dermatological irAEs, predominating colitis and hepatitis, with the highest proportion of irAEs grade  $\geq 3$ .

Therefore, these results suggest that circulating leukocyte-PLT complexes and the combination of percentages of CD4+PLT+ and CD14+PLT+ may be used as circulating predictive biomarkers of irAEs type and severity in patients with advanced NSCLC treated with immune-checkpoint inhibitors, the effectiveness of which correlates with the presence of this type of toxicity.





# 1. INTRODUCCIÓ





## 1.1. El càncer de pulmó

### 1.1.1. Epidemiologia i classificació del càncer de pulmó

El càncer de pulmó és el segon tipus de tumor més freqüent a nivell mundial. Segons el *Global Cancer Observatory*, projecte desenvolupat per l'*International Agency for Research on Cancer* (IARC, òrgan que forma part de l'Organització Mundial de la Salut - OMS), durant l'any 2020 es van registrar 19.292.789 casos nous de càncer, encapçalats pel càncer de mama (11.7%) seguit pel de pulmó (11.4%), que és el tipus de tumor més freqüent en els homes (14.3%). En les dones, el càncer de pulmó és el tercer tipus de càncer més comú (8.4%).<sup>1</sup>

A Espanya les xifres varien una mica i, amb 282.421 casos nous de càncer durant el darrer any, el càncer de pulmó ocupa la quarta posició (10.3%), darrera el càncer colorectal, el de pròstata i el de mama.<sup>1</sup>

En el nostre país, el càncer de pulmó és el tercer càncer més freqüent tant en homes (13.1%) com en dones (6.5%).<sup>1</sup> En aquest darrer grup, en els darrers anys s'ha observat una tendència a l'alça, que ve condicionada per l'augment del l'hàbit tabàquic en les dones.

**Figura 1A.** Número estimat de nous casos al 2020 al món: 19.292.789

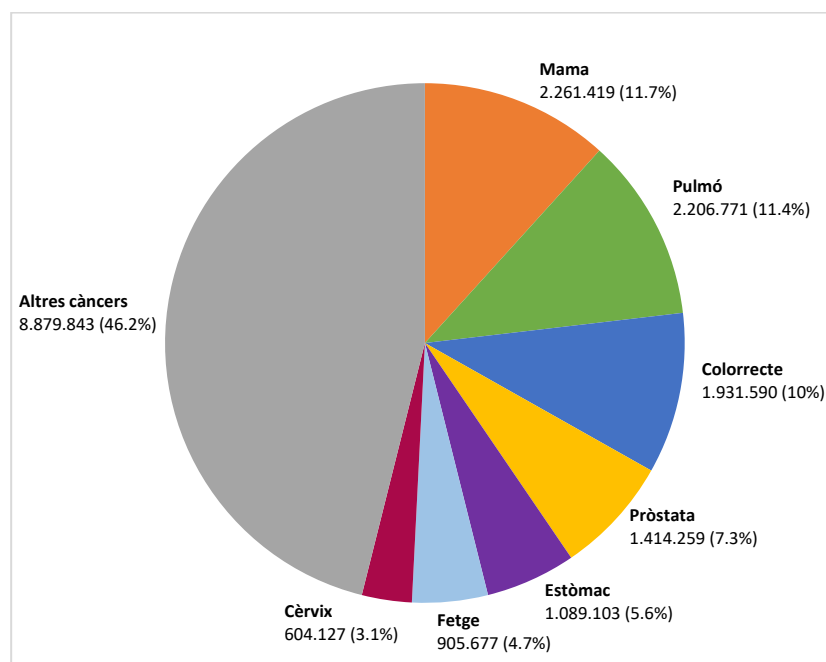
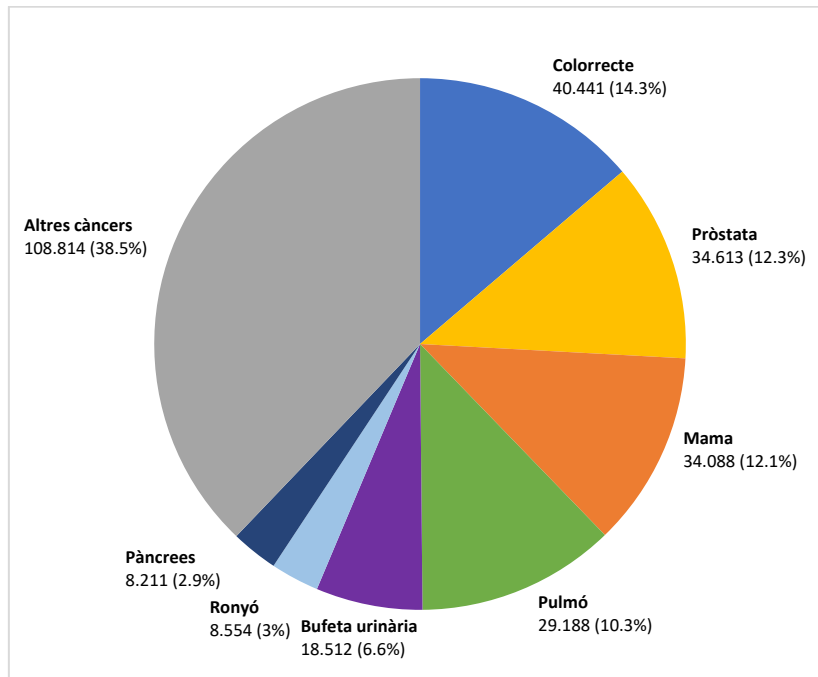


Figura 1B. Número estimat de nous casos al 2020 a Espanya: 282.421



En quant a la mortalitat, el càncer de pulmó és la primera causa de mort per càncer tant a nivell mundial com a Espanya, amb 1.796.144 i 22.930 morts registrades durant el 2020, respectivament. Aquestes xifres són un reflex del greu problema de salut que representa aquesta malaltia.

La OMS divideix el càncer de pulmó en 2 grans grups basant-se en la seva biologia, tractament i pronòstic: el càncer de pulmó de cèl·lula petita o microcític, que representa un 15-20% dels casos i que forma part de l'espectre de tumors neuroendocrins, i el **càncer de pulmó de cèl·lula no petita (CPCNP) o no microcític**, que constitueix el tipus de tumor de pulmó més freqüent, suposant un 80-85% dels casos.<sup>2</sup>

És del CPCNP del que profunditzarem al llarg d'aquesta tesi.

### 1.1.2. Factors de risc del càncer de pulmó

El principal factor de risc per desenvolupar càncer de pulmó és l'hàbit tabàquic (80-90% dels casos), responsable de la majoria de morts relacionades amb aquest.<sup>3-5</sup>

El tabac es compon de més de cinquanta productes químics que són considerants carcinògens. Entre ells, destaquen els hidrocarburs aromàtics polinuclears, les N-nitrosamines, les amines aromàtiques, els benzens, l'arsènic i l'acetaldehid.<sup>6</sup>

El risc de desenvolupar càncer de pulmó depèn del número de cigarrets/dia fumats i de la durada de l'hàbit tabàquic. El risc relatiu en fumadors a llarg termini és de 10 a 30 vegades superior als dels individus no fumadors;<sup>3,4,6</sup> i els no fumadors exposats (fumadors passius o *second-hand smokers*) també presenten un augment del risc (RR = 1.05 a 1.24, segons diferents fonts) de desenvolupar càncer de pulmó.<sup>7-9</sup>

L'evidència del consum de cànnabis com a factor de risc de càncer de pulmó és limitada, degut a que els estudis fets són amb grups reduïts de pacients i a l'existència de factors de confusió com ara el consum crònic paral·lel de tabac.<sup>10,11</sup>

L'IARC llista diversos carcinògens ambientals incloent l'arsènic, el crom, l'asbest, el níquel, el cadmi, el beril·li, la sílice i el dièsel.<sup>12</sup> L'exposició a fibres d'asbest és responsable d'un 3-4% dels casos de càncer de pulmó (RR = 3.5).<sup>13</sup>

Destaquem el radó, un gas present als sols i zones rocoses provinent de la desintegració de l'urani-238 i el radi-226 i que emet partícules alfa amb una alta capacitat per danyar l'epiteli de la via respiratòria.<sup>14</sup> L'OMS informa que el 3-15% de tots els càncers de pulmó són causats per l'exposició al radó, considerat la segona causa de càncer de pulmó en els fumadors de tabac i la primera causa en els no fumadors.<sup>15</sup> A més, s'ha observat un efecte sinèrgic entre l'exposició al radó i l'hàbit tabàquic.<sup>14,15</sup>

La inflamació crònica local també s'ha associat amb un augment del risc de patir càncer de pulmó, sobretot en pacients amb malaltia pulmonar obstructiva crònica, antecedents de tuberculosi o pneumònia, així com en pacients amb història de radioteràpia toràcica prèvia.<sup>16,17</sup>

Entre els factors dietètics, l'associació més consistent s'ha observat entre l'alt consum de fruita i verdura fresca i la disminució de la incidència de càncer de pulmó.<sup>18</sup>

Estudis d'agregació familiar recolzen la hipòtesi d'una herència multifactorial, tot i que el mecanisme de transmissió hereditària no s'ha descrit.<sup>19</sup> Alguns gens relacionat amb la

transmissió hereditària de càncer de pulmó són el gen del Retinoblastoma (*RB1*) i el gen *TP53*, ambdós amb un RR inferior a 0.1.<sup>20</sup>

### **1.1.3. Prevenció i cribratge del càncer de pulmó**

#### **1.1.3.1. Prevenció: deshabituació tabàquica**

L'addicció al tabac és deguda a una dependència a un dels seus components, la nicotina. La cessió de l'hàbit tabàquic s'acompanya de múltiples beneficis. Mentre el risc d'esdeveniments cardiovasculars es redueix ràpidament, el risc de desenvolupar càncer de pulmó disminueix gradualment al llarg dels següents quinze anys en aquelles persones que abandonen el tabac, tot i que mai s'igualarà i es mantindrà superior al d'una persona no fumadora.<sup>21</sup>

Existeixen diversos fàrmacs que augmenten de manera fiable i a llarg termini les taxes d'abstinència, incloent la teràpia substitutiva amb nicotina, el bupropió i la vareniclina.<sup>22</sup> La taxa d'èxit serà més alta quant les mesures farmacològiques s'acompanyin també d'un suport psicològic o psicosocial.

#### **1.1.3.2. Cribratge del càncer de pulmó**

Varis estudis han demostrat com el cribratge mitjançant citologia d'esput i radiografia de tòrax anual no redueix la mortalitat per càncer de pulmó.<sup>23</sup>

Els resultats del *National Lung Screening Trial* (NLST), un estudi prospectiu i aleatoritzat estatunidenc que comparava la radiografia de tòrax amb la tomografia computeritzada (TC) de baixa dosi de forma anual i en població d'alt risc, va mostrar una reducció de la mortalitat específica per càncer de pulmó del 20% i d'un 7% de la mortalitat global per qualsevol causa.<sup>24</sup>

Des de llavors, varies societats científiques recomanen realitzar una TC toràcica de baixa dosis anual en fumadors (>30 paquets-any) a partir dels cinquanta-cinc anys. A Espanya aquestes mesures encara no s'han adoptat.

#### 1.1.4. Diagnòstic i estadificació del CPCNP

Tant pel maneig diagnòstic com pel tractament és fonamental el treball i consens dins un equip o comitè multidisciplinari on hi intervinguin especialitats com Pneumologia, Radiologia, Anatomia Patològica, Cirurgia i Oncologia.

##### 1.1.4.1. Presentació clínica

La sospita clínica de càncer de pulmó es basa en la història clínica i en la capacitat de reconèixer signes i símptomes propis però poc específics de la malaltia.

La majoria de pacients presenten clínica en el moment del diagnòstic. Els símptomes i signes més freqüents solen ser la tos (8-75%), el dolor toràcic (20-49%), la dispnea (3-60%) i l'hemoptisi o expectoració hemoptoica (6-35%), resultant de la localització del tumor primari.<sup>25,26</sup>

Alguns símptomes o signes són derivats de la invasió o compressió d'estructures adjacents per extensió locorregional com la disfonia, la disfàgia, el síndrome de vena cava superior o el síndrome de Pancoast (dolor neuropàtic en el territori C8-D1 i síndrome de Horner [ptosi, miosis i anhidrosi], resultat de la localització del tumor a l'àpex pulmonar). Altres símptomes derivats de l'extensió extratoràcica poden ser dolor ossi, alteracions neurològiques, així com símptomes constitucionals (astènia, anorèxia i pèrdua de pes).<sup>25,26</sup>

El 10% del pacients presentarà síndromes paraneoplàsiques, entres les que destaquem la hipercalcèmia, l'hiponatrèmia o síndrome de secreció inadequada d'ADH (sigles en anglès derivades de *antidiuretic hormone*), la trombocitosi o els síndromes leucemoides, així com la osteopatia hipertrofiant.

##### 1.1.4.2. Procediments diagnòstics i d'estadificació

La valoració inicial inclou la història clínica, incloent l'hàbit tabàquic i comorbiditats; l'exploració física, indicant l'estat general o *performance status* (PS) i el pes; una radiografia de tòrax i una anàlítica de sang bàsica que inclogui hemograma, funció renal i hepàtica.

### a) Proves d'imatge

La TC toràcica ha d'incloure almenys l'hemiabdomen superior per poder visualitzar la totalitat del fetge i les glàndules suprarenals.<sup>27,28</sup>

En casos subsidiaris de tractament radical es recomana realitzar també un tomografia per emissió de positrons (PET-TC, de les sigles en anglès *positron emission tomography-computed tomography*) amb l'anàleg de la glucosa fluor-18-fluorodesoxiglucosa (18F-FDG) per tal d'avaluar l'afectació mediastínica i extratoràcica.<sup>27-29</sup>

Existeix certa controvèrsia en la rendibilitat de la TC o ressonància magnètica nuclear (RMN) cerebral, que en general es recomana en els casos subsidiaris a un tractament radical (a partir de l'estadi IB i incloent els estadis III, així com en els estadis IV oligometastàtics), en els pacients amb mutació d'*EGFR* o translocació d'*ALK* o *ROS1*, així com en els pacients amb clínica neurològica.<sup>27,28</sup>

La RMN toràcica pot ser recomanable en els casos on existeixi sospita d'infiltració d'estructures vasculo-nervioses, especialment en els tumors de l'àpex o de localització paravertebral. La gammagrafia òssia, podria estar indicada en casos de dolor ossi, hipercalcèmia o elevació de la fosfatasa alcalina.<sup>28</sup>

### b) Diagnòstic citohistològic

La broncoscòpia és el procediment de primera elecció per a l'obtenció de material citohistològic i inclou varies tècniques: aspirat, rentat alveolar, punció, raspallat, biòpsia, fluoroscòpia, etc. El seu rendiment diagnòstic en tumors endoscòpicament visibles és d'un 90%.<sup>28,30</sup>

Quan existeix sospita radiològica d'afectació ganglionar mediastínica (per TC [ganglis majors a 1 centímetre (cm)] o per PET-TC [SUV màxim > 2,5]) o es tracta de tumors centrals amb afectació N1 o tumors majors a 3 cm està indicada la confirmació citohistològica de l'extensió locoregional, sent de primera elecció la punció aspiració amb agulla fina (PAAF) per ultrasonografia endobronquial (EBUS) o ultrasonografia endoscòpica digestiva (EUS), per ser

menys invasives que la mediastinoscòpia. Aquesta darrera es realitzarà quan els resultats obtinguts amb les anteriors tècniques siguin negatius o no es disposi de les mateixes.<sup>28,31-33</sup>

La sensibilitat i especificitat de l'EBUS/EUS es troba al voltant del 93% i del 92%, respectivament.<sup>33</sup> La sensibilitat de la mediastinoscòpia és del 86%, amb un valor predictiu negatiu de 94.5%.<sup>34</sup>

Altres tècniques per a l'obtenció de material citohistològic són la punció o biòpsia transtoràcica guiada per TC, especialment en lesions pulmonars perifèriques, la toracocentesis o procediments quirúrgics com la pleura o toracoscòpia, la mediastinotomia o la toracotomia. Aquests darrers es reserven per quan excepcionalment no s'ha pogut aconseguir el diagnòstic mitjançant proves menys invasives.<sup>28</sup>

La PAAF o biòpsia de lesions extratoràciques si aquestes són més accessibles que el tumor primari també són una alternativa.

### c) Proves de funcionalitat i/o operabilitat

Es recomana la realització d'una espirometria per tal d'avaluar la funció pulmonar prèvia a la cirurgia o a un tractament de radioteràpia toràcica. En cas de que existeixi alguna anormalitat a aquesta, es aconsellable completar l'estudi amb una ergo-espirometria.<sup>28,35</sup>

**Taula 1.** Resum de les tècniques diagnòstiques i d'estadificació

	<b>Obligatòries</b>	<b>Opcionals</b>
<i>Imatge</i>	Radiografia de tòrax TC toràcica PET-TC 18F-FDG <sup>a</sup> TC o RMN cerebral <sup>a,b</sup>	Gammagrafia òssia RMN toràcica i/o hepàtica
<i>Material citohistològic</i>	Broncoscòpia	EBUS/EUS Mediastinoscòpia Biòpsia guiada per TC
<i>Funcionals (cardio-pulmonars)</i>	FVC, FEV1, DLCO <sup>a</sup> Espiro-ergometria ECG	FEVE Arteriografia coronària

<sup>a</sup>En cas d'intenció radical, <sup>b</sup>Veure text

Abreviatures: TC, tomografia computeritzada; PET-TC, *positron emission tomography computed tomography*; 18F-FDG, glucosa fluor-18-fluorodesoxiglucosa; RMN, ressonància magnètica nuclear; EBUS, *endoscopic bronchial ultrasound*; EUS, *endoscopic ultrasound*; FVC, *forced expiratory vital capacity*; FEV1, *forced expiratory volume in 1 second*; DLCO, *diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide*; ECG, electrocardiograma; FEVE, fracció ejecció ventricle esquerre.



### 1.1.5. Sistema d'estadificació i supervivència del CPCNP

Per a l'estadificació del CPCNP s'utilitza el sistema TNM, que es basa en l'extensió anatòmica del tumor primari (T), l'afectació ganglionar locorregional (N) i les metàstasis a distància (M). Aquest té implicacions diagnòstiques, terapèutiques i pronòstiques. Els tumors amb un pronòstic i supervivència similar s'agrupen per estadis (I-IV), permetent seleccionar el millor tractament inicial.

Durant el 16è congrés mundial del càncer de pulmó (*World Conference on Lung Cancer, WCLC 2017*), la *International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)* va presentar la vuitena edició del TNM que va ser acceptada per la *Union for International Cancer Control (UICC)* i la *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*.<sup>36</sup> Aquesta darrera edició del TNM és efectiva des de gener del 2017 (Taules 2 i 3).

**Taula 2.** Classificació TNM del CPCNP (8ª edició)

**Taula 2A.** T - Tumor primari

<b>Tx</b>	El tumor primari no pot ser avaluat	
<b>T0</b>	Sense evidència de tumor primari	
<b>T1</b>	Tumor ≤3 cm en el seu diàmetre major, rodejat per parènquima pulmonar o pleura visceral, sense evidència endoscòpica d'invasió més proximal que del bronqui lobar	
	<b>T1a(mi)</b>	Adenocarcinoma mínimament invasiu
	<b>T1a</b>	Tumor ≤ 1 cm en el seu diàmetre major
	<b>T1b</b>	Tumor >1 cm però ≤ 2 cm
	<b>T1c</b>	Tumor >2 cm o però ≤ 3 cm
<b>T2</b>	Tumor > 3 cm però ≤ 5 cm; o tumor amb qualsevol de les següents característiques: afecta el bronqui principal (sense afectar la carina), envaeix la pleura visceral, associat amb atelectàsia o pneumonitis obstructiva que s'estén fins la regió hilar	
	<b>T2a</b>	Tumor >3 cm però ≤ 4 cm
	<b>T2b</b>	Tumor > 4 cm però ≤ 5 cm
<b>T3</b>	Tumor > 5 cm però ≤ 7 cm o que envaeix directament qualsevol de les següents estructures: paret toràcica, nervi frènic, pericardi parietal; o existència de nòdul(s) tumoral(s) en el mateix lòbul que el tumor primari	
<b>T4</b>	Tumor > 7 cm o que envaeix qualsevol de les següents estructures: diafragma, mediastí, cor, grans vasos, tràquea, nervi laringi recurrent, esòfag, cos vertebral, carina; o existència de nòdul(s) tumoral(s) separat(s), en un lòbul ipsilateral diferent del lòbul del tumor primari	

**Taula 2B. N - Ganglis limfàtics regionals**

<b>Nx</b>	Els ganglis limfàtics regionals no poden ser avaluats
<b>N0</b>	Sense evidència de metàstasis als ganglis limfàtics regionals
<b>N1</b>	Metàstasis als ganglis limfàtics peribronquials i/o hiliars ipsilaterals i intrapulmonars, incloent l'afectació per extensió directa
<b>N2</b>	Metàstasis als ganglis limfàtics mediastínic ipsilaterals i/o subcarinals
<b>N3</b>	Metàstasis als ganglis limfàtics mediastínic contralaterals, hiliars contralaterals, escalens o supraclaviculars ipsilaterals o contralaterals

**Taula 2C. M - Metàstasis a distància**

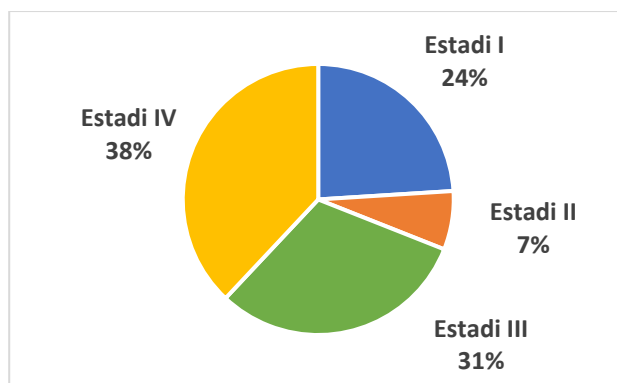
<b>M0</b>	Sense evidència de metàstasis a distància	
<b>M1</b>	Metàstasis a distància	
	<b>M1a</b>	Nòduls tumorals separats del tumor primari en el pulmó contralateral; nòduls pleurals o pericàrdics; o vessament maligne pleural o pericàrdic
	<b>M1b</b>	Metàstasi extratoràcica única i en un únic òrgan
	<b>M1c</b>	Múltiples metàstasis extratoràciques en un o diversos òrgans

**Taula 3. Estadis del CPCNP segons la 8ª edició del TNM**

Estadi	T	N	M
Ocult	Tx	N0	M0
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a(mi)T1a	N0	M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIB	T1a-T2b	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T1a-T2b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0/N1	M0
IIIB	T1a-T2b	N3	M0
	T3/T4	N2	M0
IIIC	T3/T4	N3	M0
IVA	Qualsevol T	Qualsevol N	M1a/M1b
IVB	Qualsevol T	Qualsevol N	M1c

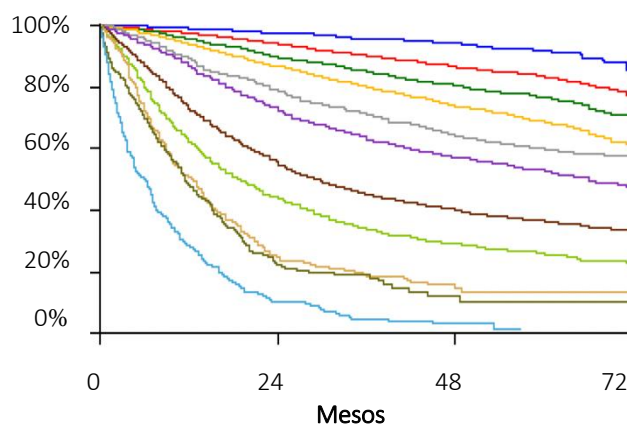
Malauradament, la majoria de pacients es diagnostiquen en estadis avançats (Figura 2), on la taxa de curació és més baixa. D'aquí l'alta mortalitat del càncer de pulmó.<sup>36</sup>

**Figura 2. Distribució del CPCNP per estadis**



A la següent figura (Figura 3) es detalla la supervivència global en funció de l'estadificació clínica segons la vuitena edició del TNM, utilitzant les dades provinents de la base de dades de la IASLC.

**Figura 3.** Supervivència global del CPCNP segons la classificació TNM 8a edició (adaptat de Goldstraw P, et al. *Journal of Thoracic Oncology* 2016).



Estadi	Morts/N	Mediana de supervivència	24 mesos	60 mesos
IA1	68/781	NR	97%	92%
IA2	505/3105	NR	94%	83%
IA3	546/2417	NR	90%	77%
IB	560/1928	NR	87%	68%
IIA	215/585	NR	79%	60%
IIB	605/1453	66.0	72%	53%
IIIA	2052/3200	29.3	55%	36%
IIIB	1551/2140	19.0	44%	26%
IIIC	831/986	12.6	24%	13%
IVA	336/484	11.5	23%	10%
IVB	328/398	6.0	10%	0%

### 1.1.6. Classificació histopatològica, immunohistoquímica i molecular del CPCNP

El diagnòstic patològic del CPCNP ha de fer-se seguint la classificació de la OMS, publicada per primer cop al 2004, i revisada posteriorment per un comitè internacional format per la IASLC junt amb l'*American Thoracic Society (ATS)* i l'*European Respiratory Society (ERS)*.<sup>37,38</sup> La darrera actualització s'ha fet al 2015, detallada a la Taula 4.

**Taula 4.** Classificació histològica dels tumors epitelials pulmonars (OMS/WHO 2015)

<b>Adenocarcinoma</b>	Adenocarcinoma lipídic, acinar, papil·lar, micropapil·lar, sòlid Adenocarcinoma mucinós invasiu Adenocarcinoma invasiu mixt mucinós i no mucinós Adenocarcinoma col·loide Adenocarcinoma fetal Adenocarcinoma entèric Adenocarcinoma mínimament invasiu no mucinós i mucinós Lesions preinvasives: · Hiperplàsia adenomatosa atípica · Adenocarcinoma in situ no mucinós i mucinós
<b>Carcinoma escatós</b>	Carcinoma escatós queratinitzant Carcinoma escatós no queratinitzant Carcinoma escatós basaloide Lesions preinvasives: · Carcinoma escatós in situ
Tumors neuroendocrins	
<b>Carcinoma de cèl·lules grans</b>	
<b>Carcinoma adenoescatós</b>	
Carcinoma pleomòrfic	
Carcinoma fusocel·lular	
Carcinoma de cèl·lules gegants	
Carcinosarcoma	
Blastoma pulmonar	
Carcinoma de tipus limfoepitelioma	
Carcinoma NUT	
Tumors tipus glàndula salival	Carcinoma mucoepidermoide Carcinoma adenoide quístic Carcinoma epitelial-mioepitelial Adenoma pleomòrfic
Papil·lomes	Papil·loma escatós exofític o invertit Papil·loma glandular Papil·loma mixt escatós i glandular
Adenomes	Pneumocistoma esclerosant

	Adenoma alveolar Adenoma papil·lar Cistadenoma mucinós Adenoma glandular mucinós
Tumors mesenquimals	
Tumors limfocitaris	
Tumors d'origen ectòpic	
Tumors metastàtics	

Aquest any 2021 està previst que es publiqui una nova actualització de la classificació histològica.

Així, el CPCNP es divideix en 2 grups principals: 1) no-escatós (que inclou l'adenocarcinoma, el carcinoma de cèl·lula gran i altres subtipus) i 2) escatós. L'adenocarcinoma és el subtipus histològic més freqüent, representant aproximadament un 40% dels casos.

Aquesta distinció es realitzarà mitjançant tincions convencionals (Panapicolau, hematoxilina-eosina), i sovint amb l'ajuda la immunohistoquímica (l'expressió de TTF1, CK7 i napsina és més freqüent en el subtipus adenocarcinoma, mentre que la de p40, p60 i CK5/6 en el subtipus escatós). El terme NOS o *not otherwise specified* es reserva per aquells casos en que, malgrat aquesta darrera tècnica, no s'aconsegueix especificar l'immunofenotip tumoral.<sup>39,40</sup>

#### 1.1.6.1. Expressió de PD-L1

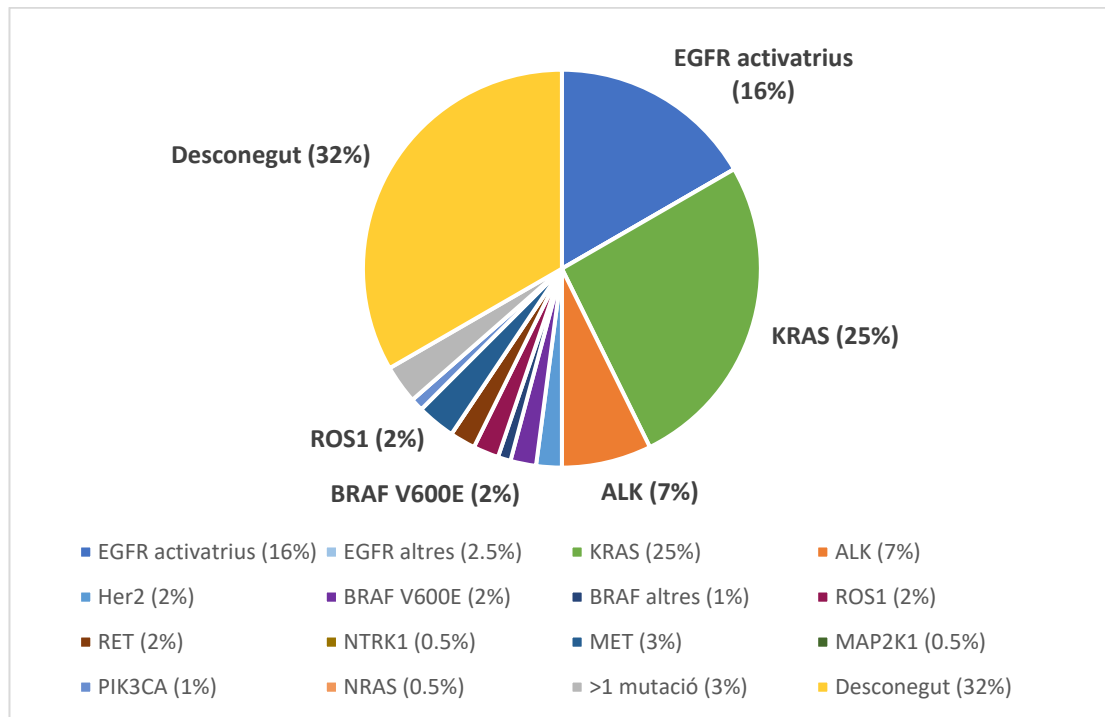
A tots els pacients amb CPCNP localment avançat i avançat, tant escatós com no-escatós, es recomana la determinació en el teixit tumoral de la proteïna transmembrana PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) per les seves implicacions terapèutiques de cara a valorar un tractament amb immunoteràpia amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.<sup>41</sup>

L'expressió de PD-L1 es mesura a través de tècniques d'immunohistoquímica, considerant-se expressió positiva aquella igual o superior al 1% de les cèl·lules tumorals. A la vegada, es categoritza en baixa expressió (1-49%) i alta expressió (igual o superior a 50%).<sup>42</sup>

#### 1.1.6.2. Caracterització genòmica del CPCNP

Especialment en el CPCNP amb histologia no-escatosa, existeixen diverses alteracions genètiques, la majoria mutacions o amplificacions, que constitueixen dianes terapèutiques o *targets* per a teràpies biològiques dirigides contra aquests (alteracions moleculars *driver*). A la Figura 4 es detalla la freqüència de les diferents alteracions moleculars conegudes.

**Figura 4.** Alteracions genòmiques del càncer de pulmó de cèl·lula no petita no-escatós



Tant les guies europees (ESMO, *European Society for Medical Oncology*) com americanes (ASCO, *American Society of Clinical Oncology*), igual que les espanyoles (SEOM, *Sociedad Española de Oncología Médica*), recomanen l'estudi genètic del CPCNP avançat quan aquest presenti a) histologia no-escatosa, b) un component d'adenocarcinoma, o c) característiques clíniques que indiquin una alta probabilitat de presentar alguna alteració molecular (menors de 50 anys, fumadors lleus o no fumadors).<sup>35,43,44</sup>

Actualment aquestes recomanen incloure la determinació de *BRAF* i *ROS1* juntament a *EGFR* i *ALK* dins la bateria d'estudis moleculars inicials en el CPCNP avançat, així com valorar la determinació d'altres gens com *MET*, *Her2*, *KRAS*, *RET* i *NTRK*.<sup>44,45</sup>

Mentre la tècnica més acceptada per a l'estudi d'*EGFR* és la reacció en cadena de la polimerasa (PCR, *protein chain reaction*); en el cas de *ALK* i *ROS1*, la immunohistoquímica es pot considerar una alternativa a la tècnica d'hibridació in situ per fluorescència (FISH, *fluorescence in situ hybridization*). Tot i així, actualment els panells de seqüenciació genètica, com la *next-generation sequencing* (NGS), són preferibles als tests monogènics, per a la identificació d'altres alteracions més enllà de *EGFR*, *ALK*, *ROS1* i *BRAF*<sup>46</sup> i per a l'optimització de la mostra tumoral que molt sovint és escassa.

### 1.1.7. Factors pronòstics del CPCNP

El factor pronòstic més important és l'estadificació. Segons l'estadi clínic, la taxa de supervivència als 5 anys oscil·la entre el 92% pels estadis IA1 i el 0% pels estadis IVB. Si analitzem els diferents components de la classificació TNM per separat, cada un d'ells constitueix un factor pronòstic *per se*: com major sigui el tumor (T) primari, el compromís ganglionar (N) i el número de llocs metastàtics (M), pitjor serà el pronòstic.<sup>36</sup>

El carcinoma escatós s'ha associat a pitjors resultats de supervivència, i el grau de diferenciació així com el patró histològic són factors pronòstics independents que cal considerar. En el subtipus histològic adenocarcinoma, el patró lipídic és de millor pronòstic, mentre que l'adenocarcinoma papil·lar, micropapil·lar i sòlid presenten pitjors resultats de supervivència.<sup>47</sup>

Pel que fa a dades clíniques, un dels factors pronòstics més reproduïbles i també útil per guiar el tractament és l'estat general o PS del pacient segons l'Índex *Karnofsky* o l'escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*).<sup>48</sup> La magnitud del consum de tabac al diagnòstic és un factor pronòstic independent;<sup>49</sup> i mentre el sexe femení s'ha associat a una millor supervivència global,<sup>50</sup> els treballs que avaluen l'edat com a factor pronòstic mostren resultats contradictoris.

Quant a dades de laboratori, atès que la inflamació s'ha proposat com a mecanisme d'immuno-resistència en pacients amb càncer, múltiples paràmetres sanguinis s'han estudiat com a possibles biomarcadors pronòstics (coneguts també com *host-related circulating*

*biomarkers*), com per exemple el recompte total de leucòcits i neutròfils, les plaquetes, les xifres d'hemoglobina, l'albumina, etc.<sup>51</sup>

### **1.1.8. Tractament del CPCNP**

#### **1.1.8.1. Malaltia localitzada - estadis I i II**

En aquests estadis és on sobretot recau la importància del consens del comitè multidisciplinari. Ha d'incloure una avaluació cardiopulmonar.

##### **a) Cirurgia**

La resecció quirúrgica constitueix el tractament d'elecció quan no existeix cap contraindicació mèdica, sent la opció que ofereix una major taxa de curació.

El tipus de cirurgia depèn de l'extensió de la malaltia, la localització tumoral i l'avaluació preoperatòria. En aquells pacients amb una bona condició física, la lobectomia o la resecció anatòmica són preferibles a la resecció sublobar (segmentectomia), que es reserva pels pacients amb alteració de la funció pulmonar o comorbiditats.<sup>52,53</sup>

La dissecció ganglionar sistemàtica, incloent almenys 6 ganglis (3 de les estacions intrapulmonars o hiliars i 3 de les mediastíniques, una de les quals ha de ser subcarínica) és superior al mostreig selectiu per a una correcta estadificació patològica dels ganglis limfàtics.<sup>53</sup>

La resecció via toracoscòpia, quan sigui factible, és preferible a la resecció per toracotomia.

##### **b) SART o *Stereotactic ablative radiotherapy***

En pacients mèdicament no operables amb tumors menors de 5 cm i sense afectació ganglionar, la SART és una opció terapèutica recomanable. Varis estudis també han demostrat que és una alternativa en pacients operables majors de setanta-cinc anys.<sup>54</sup>



### c) Tractament sistèmic adjuvant

La quimioteràpia adjuvant o complementària, amb 4 cicles d'un doblet de platí, ha demostrat un benefici modest en supervivència global, d'un 4% en 5 anys, en els estadis II-IIIa, sempre i quan el pacient presenti un bon estat general després de la resecció completa del tumor.<sup>55</sup> Els estadis I (utilitzant la setena edició de la classificació TNM) no es beneficien del tractament adjuvant de quimioteràpia, excepte en aquells casos en què el tumor mesura més de 4 cm.<sup>56</sup>

Fins ara cap tractament diana com els inhibidors de tirosina-quinasa (iTK) no havia demostrat cap benefici en adjuvència. Recentment, l'estudi fase III ADAURA ha demostrat una reducció del risc de recurrència o mort del 83% amb osimertinib, un inhibidor d'*EGFR*, administrat durant 3 anys després de la resecció completa en els estadis IB-IIIa (*hazard ratio* [HR] de 0.17).<sup>57</sup>

### d) Radioteràpia postoperatòria

La radioteràpia postoperatòria (PORT o *postoperative radiotherapy*), no està indicada en els estadis I-II quan s'aconsegueix una resecció completa del tumor.<sup>58</sup> Es pot considerar, administrada a dosis entre 56 i 66 grays (Gy), quan existeix afectació dels marges de resecció o afectació extracapsular dels ganglis limfàtics.

#### 1.1.8.2. Malaltia localment avançada - estadis III

L'estadi III és una malaltia heterogènia i complexa on la decisió terapèutica és fonamental que també sigui presa per un equip multidisciplinari. Es pot classificar en 3 grups: resecables, potencialment resecables i no resecables.

#### a) Resecables i potencialment resecables - estadis IIIa

Igual que els estadis II, en els estadis IIIa amb resecció completa està indicada l'adjuvència amb 4 cicles de quimioteràpia basada en platí.<sup>59</sup>

Pel que fa a la radioteràpia post-operatòria, les indicacions són les mateixes a les explicades a l'apartat *Malaltia localitzada*. En aquest context, la PORT s'hauria d'administrar després de la quimioteràpia adjuvant. En cas d'afectació N2 a la peça de resecció (pN2), la PORT no ha demostrat un benefici en supervivència lliure de malaltia ni en supervivència global, pel que no està indicada.<sup>58-60</sup>

Dins els estadis IIIA potencialment resecables s'inclouen aquells tumors N2 no *bulky*, amb afectació d'una única estació (adenopaties úniques o individualitzables menors a 3 cm i separades del tumor primari). És en aquest grup on l'estratègia terapèutica està menys establerta.

Existeixen varis estudis fase III i meta-anàlisis que mostren com la quimioteràpia d'inducció seguida per la cirurgia en comparació a aquesta sola aporta un benefici en supervivència global, tot i que modest, d'aproximadament el 5% als 5 anys.<sup>61</sup>

La quimio-radioteràpia d'inducció aconsegueix un major control local de la malaltia (major taxa de cirurgia completa o R0, *downstaging* mediastínic i major taxa de resposta, inclosa la resposta completa patològica mediastínica) en comparació a la quimioteràpia sola, sense diferències quant a supervivència global.<sup>62,63</sup>

La cirurgia també s'ha comparat amb la radioteràpia després de la quimio-radioteràpia d'inducció, demostrant una millor supervivència lliure de progressió en el braç de la cirurgia, però sense diferències en supervivència global excepte els pacients que es van sotmetre a lobectomia (tot i que era un anàlisi no preplanificat).<sup>64,65</sup> En el cas de tumors de Pancoast o de l'àpex superior, la quimio-radioteràpia concomitant seguida de la cirurgia és l'opció més recomanada.<sup>66</sup>

L'esquema de quimioteràpia adjuvant més òptim no s'ha establert en estudis aleatoritzats, però el doblet amb cisplatí administrat un total de 3-4 cicles, és l'opció més recomanable.<sup>59</sup>

Varis estudis que avaluen la combinació de quimioteràpia i immunoteràpia d'inducció o quimio-radioteràpia amb immunoteràpia d'inducció estan en desenvolupament. Els resultats d'algun d'ells han demostrat un benefici significatiu en supervivència lliure de malaltia.<sup>67</sup>

## b) No resecables - estadis IIIB i IIIC

Aquest subgrup inclou els estadis IIIB i IIIC, així com els estadis IIIA amb afectació N2 *bulky* o amb vàries estacions ganglionars afectades.

La quimio-radioteràpia concomitant és el tractament d'elecció en els pacients amb bona condició física. Varis estudis aleatoritzats i metaanàlisis han demostrat una major supervivència global en comparació amb l'estratègia seqüencial, amb un benefici absolut del 4.5% als 5 anys.<sup>68</sup>

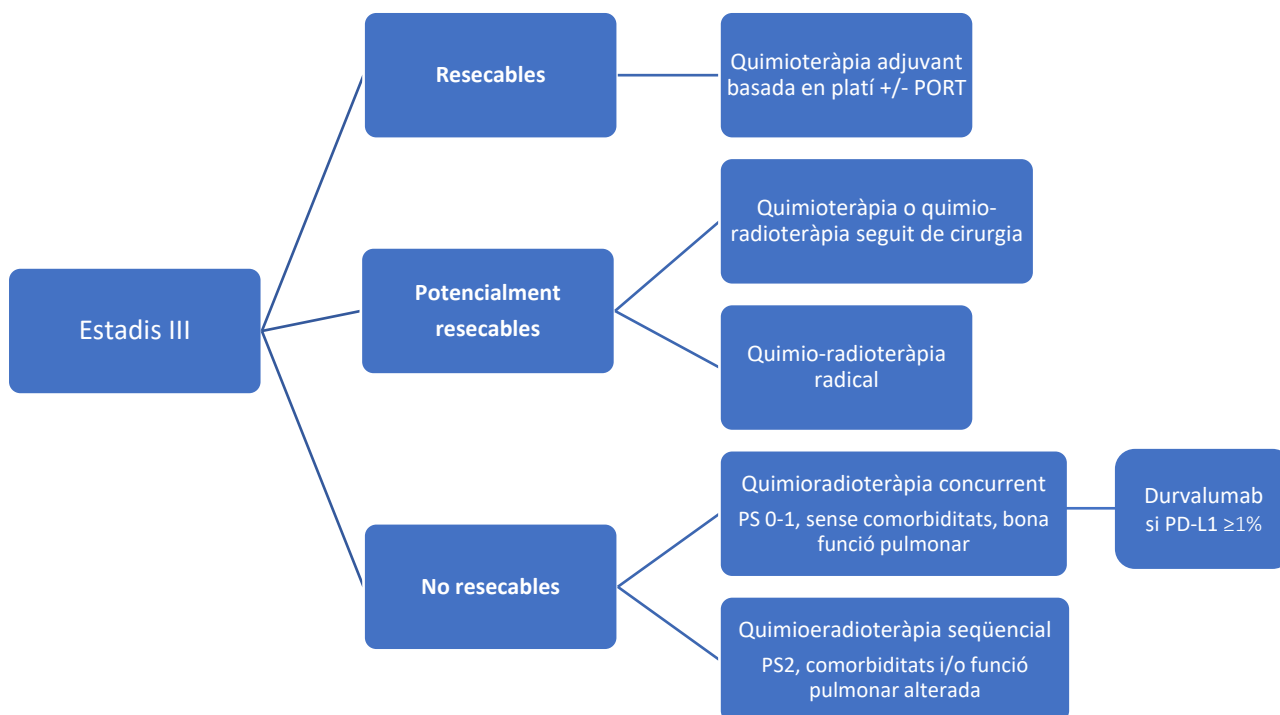
La radioteràpia normalment s'administra a una dosi total de 60-66 Gy, repartits en 30-33 fraccions de 2 Gy/fracció i durant un període total de 6-7 setmanes.<sup>69</sup>

Si la quimio-radioteràpia concurrent està contraindicada degut a l'estat general del pacient, la funció respiratòria o la presència de comorbiditats, l'estratègia seqüencial és una opció raonable. L'edat no ha demostrat ser un factor determinant en aquests casos.<sup>70</sup>

En aquest context, el règim de quimioteràpia recomanat és també el doblet amb cisplatí, sent la combinació de cisplatí-vinorelbina, per un total de 3-4 cicles, la preferida per haver presentat menor taxes d'efectes adversos grau 3-4.<sup>71</sup> En pacients fràgils, la combinació de carboplatí i paclitaxel és la millor alternativa donada la seva millor tolerància.<sup>72</sup>

En els pacients que no han progressat després del tractament de quimio-radioteràpia concomitant, el tractament de consolidació durant 12 mesos amb durvalumab, un inhibidor del *immune-checkpoint* PD-L1, ha demostrat un benefici tant en supervivència lliure de progressió com en supervivència global. Mentre que a Amèrica, l'agència reguladora del medicament FDA (U.S. *Food and Drug Administration*) ha aprovat la consolidació amb durvalumab per a tots els pacients independentment de l'expressió de PD-L1, a Europa, la EMA (*European Medicines Agency*), ha restringit l'aprovació als pacients amb PD-L1  $\geq 1\%$  en base a un anàlisi no preplanificat en el que el subgrup de pacients amb expressió negativa de PD-L1 no presentava un benefici en termes de supervivència.<sup>73-76</sup>

**Figura 5.** Estratègia terapèutica en el CPCNP estadi III



Abreviatures: PORT, *postoperative radiotherapy*; PS, *performance status*.

De forma similar als estadis potencialment resecables, alguns estudis que avaluen la combinació de quimio-immunoteràpia amb radioteràpia concomitant estan en marxa; resultats preliminars han estat exposats recentment al WCLC 2020, mostrant una major taxa de resposta, però també una major toxicitat.<sup>77,78</sup>

### 1.1.8.3. Malaltia avançada o en fase metastàtica - estadis IV

#### a) Pacients sense alteracions moleculars *driver*

##### Primera línia

Els pacients amb CPCNP estadi IV en els que l'estudi molecular ha resultat negatiu, però amb expressió de **PD-L1 ≥50%**, independentment del subtipus histològic escatós o no-escatós, pembrolizumab, un inhibidor dels *immune-checkpoint* contra PD-1 (*programmed cell death 1*), és el tractament d'elecció en absència de contraindicacions a la immunoteràpia.<sup>79,80</sup>

En cas de situacions que la contraindiquin (secció *Immunoteràpia i situacions especials*), el tractament recomanat seria la quimioteràpia, que ha demostrat augmentar la supervivència i la qualitat de vida respecte a no administrar cap tractament, inclús en pacients amb PS 2.<sup>81-85</sup>

Els règims de quimioteràpia basats en cisplatí han demostrat major taxes de resposta i una major supervivència global respecte a aquelles combinacions amb carboplatí, que seria l'opció recomanable quan existeix alguna contraindicació al primer, en pacients d'edat avançada o comorbiditats.<sup>86</sup>

El tipus de doblet basat en platí serà seleccionat en funció del subtipus histològic. En cas d'histologia escatosa, són d'elecció els agents com la gemcitabina, la vinorelbina o els taxans, mostrant entre ells una eficàcia comparable.<sup>87</sup> Es recomanen 4 cicles, i en alguns casos seleccionats fins a un màxim de 6.<sup>88,89</sup> En el CPCNP no-escatós, la combinació amb pemetrexed és la preferida, mostrant un benefici en supervivència respecte a la gemcitabina o docetaxel.<sup>90,91</sup> En cas de no progressió després de 4 cicles, el tractament de manteniment amb pemetrexed en monoteràpia ha demostrat un benefici en supervivència i s'ha de considerar sempre que hi hagi una bona recuperació de les toxicitats prèvies.<sup>92</sup>

En els casos amb **expressió de PD-L1 <50%** o desconeguda, diversos estudis fase III han demostrat que l'addició d'un inhibidor dels *immune-checkpoint* a la quimioteràpia presenta un benefici en supervivència independentment de l'estatus de PD-L1,<sup>93-98</sup> sent actualment el tractament d'elecció en aquest subgrup de pacients. També és una opció vàlida pels pacients amb PD-L1 major al 50%, especialment en aquells casos amb una alta càrrega tumoral.

De totes elles, la combinació de pembrolizumab amb el doblet de platí i pemetrexed per histologia no-escatosa és la única aprovada tant per la EMA com per la *Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios* (AEMPS) fins el moment actual.

Els diferents estudis amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, sols o en combinació, es detallen més endavant a la secció *Immunoteràpia i CPCNP*.

### Segona línia

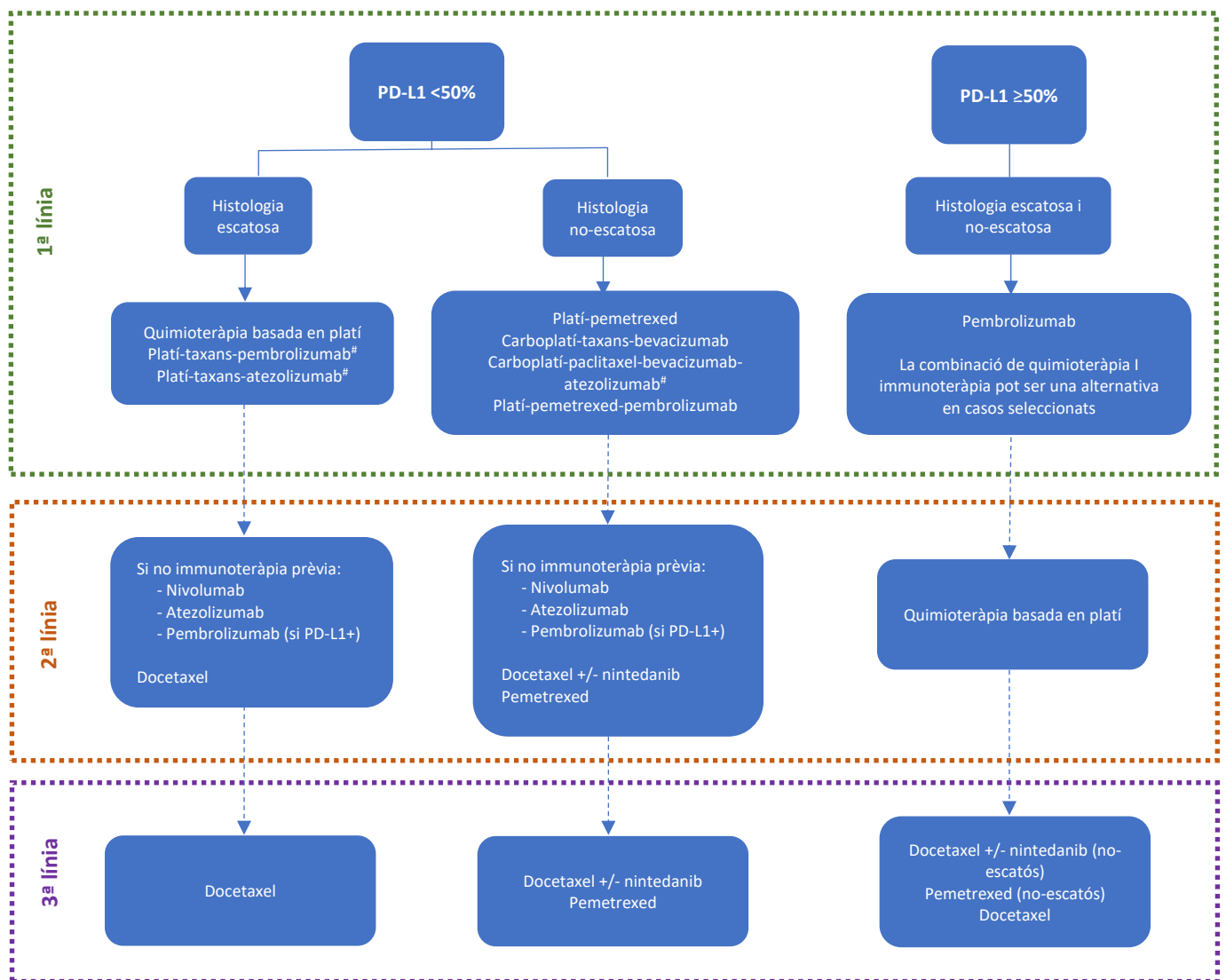
En aquells pacients que han progressat, clínicament o radiològicament, a una primera línia i que mantenen un PS 0-1 o inclús 2, se'ls hi hauria d'oferir una segona línia de tractament.

Quan no s'ha administrat immunoteràpia en primera línia, pembrolizumab (quan l'expressió de PD-L1 sigui  $\geq 1\%$ ), nivolumab o atezolizumab en monoteràpia serien el tractament d'elecció. Aquesta recomanació es basa en les dades d'estudis fase III que mostren un benefici en

supervivència global i també en el perfil de toxicitats de la immunoteràpia en comparació amb docetaxel en monoteràpia.<sup>99-102</sup> En els pacients amb histologia no-escatosa que progressen ràpidament a la quimioteràpia de primera línia, és preferible la combinació de nintedanib, un anti-angiogènic, amb docetaxel, que ha demostrat un benefici en supervivència en comparació a docetaxel sol.<sup>103</sup>

Per altra banda, en els pacients que han rebut immunoteràpia en primera línia, es recomana administrar un doblet de platí en segona. I en aquells tractats amb la combinació de quimioteràpia amb immunoteràpia, la monoteràpia amb docetaxel seria d'elecció.<sup>104,105</sup>

**Figura 6.** Algorisme de tractament en el CPCNP estadi IV sense mutacions *driver*



<sup>#</sup>no aprovat per la EMA

Cal destacar que els pacients amb CPCNP estadi IV es poden beneficiar d'un control simptomàtic precoç des del diagnòstic.

### Altres consideracions

L'edat no s'ha de considerar com un factor decisiu per a la selecció del tractament, i una avaluació geriàtrica completa ajudaria a determinar el veritable estat biològic dels pacients d'edat avançada.<sup>106</sup>

És fonamental individualitzar el tractament, especialment en els pacients PS 2, on la monoteràpia és una alternativa. Per contra, els pacients PS 3-4 no haurien de rebre cap tractament quimioteràpic donada la manca de benefici.

### **b) Pacients amb alteracions moleculars *driver***

#### Mutació d'*EGFR*

Els iTK contra *EGFR* de primera (gefitinib, erlotinib) i segona (afatinib) generació han demostrat una major supervivència lliure de progressió i taxa de resposta, així com un millor perfil de toxicitats comparat amb la quimioteràpia basada en platí.<sup>107-109</sup>

Osimertinib, un iTK de tercera generació, ha demostrat recentment la seva superioritat en primera línia, també en termes de supervivència global i de control de la malaltia intracranial, respecte als de primera i segona generació.<sup>110,111</sup>

L'aparició de la mutació *T790M* és el principal mecanisme de resistència quan els pacients progressen en curs de iTK de primera i segona generació. En aquests casos osimertinib ha demostrat una major eficàcia respecte al doblet de platí.<sup>112</sup>

#### Translocació d'*ALK*

De forma similar als iTK contra *EGFR*, crizotinib és un iTK anti-*ALK* de primera generació i ceritinib, alectinib i brigatinib de segona generació, que han demostrat una millor supervivència lliure de progressió i taxa de resposta respecte a la quimioteràpia.<sup>113-116</sup>

Lorlatinib, un iTK de tercera generació, ha demostrat recentment la seva superioritat en primera línia, sent actualment el tractament preferit.<sup>117</sup>

Alectinib, brigatinib i lorlatinib presenten una major activitat a nivell intracranial.<sup>118-120</sup>

Quina és la millor seqüència de tractament, donat l'ampli ventall de possibilitats, és un tema controvertit.

En general, en pacients que han progressat als diferents iTK disponibles, la quimioteràpia basada en un doblet de platí és l'opció més recomanable. En els estudis de combinació d'immunoteràpia i quimioteràpia només un 11% dels pacients amb CPCNP presentava alteracions d'*EGFR* i un 2% la translocació d'*ALK*.<sup>96</sup>

#### Altres alteracions moleculars

Crizotinib i entrectinib estan indicats per al tractament del CPCNP avançat amb el reordenament de *ROS1*;<sup>121-123</sup> i dabrafenib-trametinib en aquells casos que presenten la mutació *BRAF V600E* basat en els resultats d'estudis no comparatius en pacients *naïve* o pretractats.<sup>124,125</sup>

Existeixen altres fàrmacs en desenvolupament els resultats preliminars dels quals han demostrat activitat contra *divers* oncogènics. Exemples d'ells són tepotinib i capmatinib (amplificació de *MET*, mutació de l'exó 14 de *MET*), selpercatinib i pralsetinib (fusió de *RET*), entrectinib i repotrectinib (fusions *NRTK*, *ROS1*, *ALK*), larotrectinib (fusions *NRTK*) i sotorasib (*KRAS G12C*), entre d'altres.

#### **c) CPCNP oligometastàtic**

La malaltia oligometastàtica és aquella amb un número de metàstasis limitat, tant en número i localització. El número de lesions més acceptat és fins a 5, que han de ser candidates a un tractament radical amb cirurgia i/o radioteràpia (SART).<sup>126</sup>

En els casos de CPCNP oligometastàtic al diagnòstic, la teràpia ablativa local de la lesió primària i de les metastàtiques, després del tractament sistèmic, ha demostrat una millor supervivència lliure de progressió.<sup>127</sup>

En pacients amb mutacions *divers* que en curs de iTK presenten una progressió a una localització aïllada, el tractament radical d'aquesta seria una opció.<sup>128</sup> Aquesta estratègia també es pot aplicar en pacients que reben tractament amb immunoteràpia.



## 1.2. Immunoteràpia

### 1.2.1. Bases de la immunologia i càncer

El sistema immunològic s'ha dividit tradicionalment en 2 sistemes, el sistema innat i el sistema adaptatiu, sent la especificitat i la capacitat per generar cèl·lules de memòria les dues propietats utilitzades per diferenciar aquests 2 components.<sup>129,130</sup>

Mentre el sistema immunològic innat, format per macròfags, cèl·lules dendrítiques, cèl·lules *natural killer* (NK) i neutròfils, ofereix una resposta ràpida en front a elements estranys; el sistema immunològic adaptatiu, format per limfòcits T i limfòcits B, es basa en el reconeixement d'antígens específics i en la capacitat de respondre de forma més efectiva davant la re-estimulació amb el mateix antigen.<sup>129,130</sup>

Tot i així, el sistema immunològic és un sistema altament complex i divers, on també hi participen factors solubles i teixits, tots ells interconnectats.

La majoria de cèl·lules nucleades de l'organisme expressen a la seva superfície el complex major d'histocompatibilitat (CMH) de tipus I, que exposa petits pèptids derivats d'epítops per a presentar-los als limfòcits T efectors o citotòxics (CD8+). Un cop el limfòcit T ha reconegut l'antigen, s'activarà, proliferarà i destruirà aquelles cèl·lules que presentin el mateix antigen reconegut. El CMH de tipus II s'expressa en les cèl·lules presentadores d'antígens (macròfags i cèl·lules dendrítiques) i s'encarrega d'exposar pèptids a la seva superfície per presentar-los als limfòcits T *helper* (CD4+). Així, aquests s'activaran i mitjançant la secreció de citocines reclutaran a altres cèl·lules del sistema immunològic, com els limfòcits T citotòxics, que actuaran de manera directa i específica contra les cèl·lules estranyes a través de la unió entre el seu receptor (TCR, *T cell receptor*) i el CMH d'aquestes.<sup>129</sup>

Al 1909, Ehrlich va suggerir que les cèl·lules mutants sorgeixen contínuament però que el sistema immunitari les detecta i erradica abans que es manifestin clínicament. La vigilància immunològica o *immunosurveillance* és el reconeixement i l'eliminació de les cèl·lules tumorals per part dels limfòcits, que actuen com a sentinelles. Tot i així, les cèl·lules tumorals poden modificar la resposta immunològica, escapant del control immunitari per continuar expandint-se, el que es coneix com *immune editing*.<sup>130,131</sup>

Un dels mecanismes pels quals les cèl·lules tumorals s'escapen del reconeixement immunitari és mitjançant la inhibició de les cèl·lules immunològiques de l'hoste a través de la interacció amb molècules reguladores de la superfície d'aquestes, també anomenades molècules del punt de control o *checkpoint molecules*, com CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) i PD-1.<sup>130,132,133</sup>

#### 1.2.1.1. CTLA-4

CTLA-4 és un receptor transmembrana amb funció inhibidòria expressat a la superfície dels limfòcits T que regula l'activació d'aquests als ganglis limfàtics, contrarestant l'activitat del receptor co-estimulador CD28.

Per a l'activació del limfòcit T és necessari que un antigen s'uneixi al TCR, i que llavors CD28 amplifiqui la intensitat de la senyal d'aquest. CTLA-4 i CD28 comparteixen els mateixos lligands: B7.1 (CD80) i B7.2 (CD86), tot i que l'afinitat de CTLA-4 és major.

Així, la funció de CTLA-4 és evitar l'activació del limfòcit T al competir amb CD28 per a unir-se a B7.1 i B7.2. El resultat final és la supressió de la senyalització induïda pel TCR i CD28.<sup>132,134</sup>

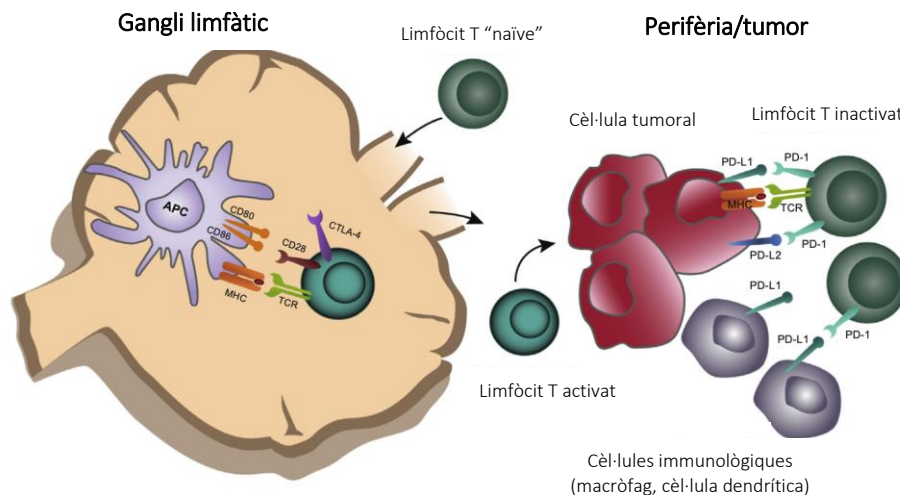
Tot i que CTLA-4 s'expressi en els limfòcits T efectors (CD8+), aquest exerceix el seu rol principal sobre els limfòcits T CD4+, tant *helper* com reguladors, promovent la pèrdua de funció dels primers i s'ha hipotetitzat que augmentant la dels segons potenciant així la seva activitat immunosupressora.<sup>132,134</sup>

#### 1.2.1.2. PD-1

PD-1 també és una proteïna transmembrana expressada pels limfòcits T, B i les cèl·lules NK, que s'uneix als lligands PD-L1 i PD-L2 expressats en presència de mediadors inflamatoris com l'interferó gamma (INF $\gamma$ ). La funció principal de PD-1 és el manteniment de la tolerància immunològica o homeòstasi dels limfòcits T als teixits perifèrics.

A través de la unió als seus lligands, PD-1 envia senyals inhibidòries que indueixen l'apoptosi i/o frenen l'activació dels limfòcits T al bloquejar la senyalització del TCR.<sup>132</sup>

**Figura 7.** Paper de CTLA-4 i PD-1 en la resposta immunològica contra el tumor



Abreviatures: APC, *antigen-presenting cell*; CTLA-4, *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*; PD-1, *programmed cell death 1*; PD-L1/2, *programmed cell death-ligand 1 or 2*; MHC; *major histocompatibility complex*; TCR, *T cell receptor*.

Per tant, tant CTLA-4 com PD-1 són reguladors fisiològics negatius de l'activació del limfòcit T dels que les cèl·lules tumorals s'aprofiten per evadir-se del sistema immunològic.

A més, les cèl·lules tumorals recluten al seu voltant altres poblacions cel·lulars, com fibroblasts o altres cèl·lules immunològiques; la interacció entre les cèl·lules tumorals i les cèl·lules no tumorals crea un microambient tumoral, que sota la dinàmica del tumor, afavoreix la proliferació i expansió de les primeres.

### 1.2.2. Immunoteràpia en CPCNP

El coneixement d'aquestes *immune-checkpoint molecules* ha obert la porta a nous enfocaments terapèutics en el camp de l'Oncologia, com és la immunoteràpia i en particular els inhibidors dels *immune-checkpoint* dels que a continuació ens referirem.

El bloqueig tant de CTLA-4 com de PD-1 i/o PD-L1 resulta en un augment de l'activitat dels limfòcits T efectors així com en la inhibició dels limfòcits T reguladors, restablint la resposta immunològica. És en base a això que s'han desenvolupat diversos anticossos monoclonals contra CTLA-4, PD-1 i PD-L1.

A la Taula 5 es detallen els diferents fàrmacs comercialitzats. Ipilimumab va ser el primer anticòs contra CTLA-4 que va demostrar un benefici en supervivència en pacients afectes de melanoma<sup>135</sup>, pel que va ser aprovat l'any 2011 per la FDA.

**Taula 5.** Classificació dels inhibidors dels *immune-checkpoint*

anti-CTLA-4	anti-PD-1	anti-PD-L1
Ipilimumab Tremelimumab	Nivolumab Pembrolizumab Cemiplimab	Atezolizumab Durvalumab Avelumab

Quant al càncer de pulmó, en els darrers anys s'han portat a terme múltiples estudis que han posicionat els inhibidors dels *immune-checkpoint* tant en primera com en segona línia de tractament del CPCNP estadi IV.

#### 1.2.2.1. Primera línia

En monoteràpia, el primer estudi que va posicionar el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en el CPCNP va ser l'assaig clínic fase III KEYNOTE-024 en pacients amb PD-L1  $\geq 50\%$  (alta expressió), independentment del subtipus histològic, i amb bon estat general (ECOG-PS 0-1), sense mutacions *driver* ni metàstasis cerebrals no tractades (aquests criteris d'inclusió són molt similars per la resta d'estudis citats a continuació). Aquest estudi aleatoritzava els pacients 1:1 a la branca de pembrolizumab 200 mil·ligrams (mg) endovenós cada 3 setmanes (/3set) *versus* (vs.) la branca de doblet de platí (combinació a elecció de l'investigador). A la progressió a quimioteràpia, aquest darrer grup rebia pembrolizumab (*crossover*). Aquest estudi va demostrar un augment de la supervivència lliure de progressió, que era el seu objectiu principal, a favor del tractament amb pembrolizumab: 18.3 vs. 8.4 mesos (HR 0.54), sent les diferències estadísticament significatives ( $p=0.005$ ); així com també un benefici en la taxa de resposta objectiva (45% vs. 18%) i en supervivència global (30 vs. 14.2 mesos, HR 0.63 i  $p=0.002$ ). Això va fer que al 2015, pembrolizumab fos aprovat tant per la FDA com per la EMA en primera línia en pacients amb alta expressió de PD-L1. Malgrat l'alta taxa de *crossover* (55%), l'actualització als 5 anys continua mostrant diferències estadísticament significatives quant a supervivència global a favor de pembrolizumab (26.3 vs. 13.4 mesos; HR 0.62).<sup>79,80,136</sup>

L'estudi KEYNOTE-042, amb el mateix plantejament terapèutic però amb pacients PD-L1  $\geq 1\%$ , estratificava la població en 3 grups: PD-L1  $\geq 50\%$ ,  $\geq 20\%$  i  $\geq 1\%$ . Aquest estudi va demostrar que en la població amb expressió de PD-L1 entre 1 i 49% pembrolizumab en monoteràpia no millorava la supervivència global en comparació amb el doblet de platí (13.4 vs. 12.1 mesos; HR 0.92).<sup>137</sup>

Els estudis fase III que comparaven atezolizumab 1200 mg (IMpower-110) i cemiplimab 350 mg (EMPOWER-Lung 1) cada 3 setmanes amb la quimioteràpia estàndard en primera línia també han demostrat un clar benefici en supervivència global de la monoteràpia amb inhibidors de *immune-checkpoint* en pacients amb alta expressió de PD-L1: 20.2 vs. 13.1 mesos (HR 0.59;  $p=0.0106$ ) i 22.1 vs. 14.3 mesos (HR 0.68;  $p=0.002$ ), respectivament. Atezolizumab ja rebut l'aprovació de la FDA en pacients amb PD-L1  $\geq 50\%$ .<sup>138,139</sup>

L'estudi MYSTIC, que comparava durvalumab 20 mg/kg (quilograms) i durvalumab amb tremelimumab 1 mg/kg/4set vs. el doblet de platí, no ha mostrat diferències estadísticament significatives, amb medianes de supervivència global de 16.3 vs. 12.9 mesos (HR 0.76;  $p=0.04$ ) i 11.9 vs. 12.9 mesos (HR 0.85;  $p=0.20$ ), respectivament.<sup>140</sup> Tampoc l'estudi CHECKMATE-026, amb nivolumab 3 mg/kg/2set, considerant-se un estudi negatiu (supervivència global 14.4 vs. 13.2 mesos; HR 1.02;  $p$  no reportada).<sup>141</sup>

En els darrers anys s'han desenvolupat estudis de combinació d'inhibidors dels *immuno-checkpoint* amb quimioteràpia. A les Taules 6 i 7 es detallen els estudis per histologia escatosa i no-escatosa.

**Taula 6.** Estudis fase III de combinació d'inhibidors d'*immune-checkpoint* i quimioteràpia en CPCNP amb histologia escatosa

Fàrmac i estudi	SLP	SG	ORR
<p><i>Pembrolizumab</i></p> <p>KEYNOTE-407<sup>93</sup></p> <p>- Pembrolizumab 200 mg + CBDCA AUC6 + paclitaxel 200 mg/m<sup>2</sup> cada 3set o nabpaclitaxel 100 mg/m<sup>2</sup> cada 1set x4 cicles --&gt; pembrolizumab</p> <p>- Placebo + CBDCA + paclitaxel/nabpaclitaxel x4 cicles --&gt; placebo</p>	6.4 vs. 4.8 mesos (HR 0.56)	15.9 vs. 11.3 mesos (HR 0.64)	58.4% vs. 35%
<i>Atezolizumab</i>	6.5 vs. 5.6 mesos	14.2 vs. 13.5 mesos	49.4% vs. 41.3% <sup>#</sup>

IMpower-131 <sup>94,142,143</sup> - Atezolizumab 1200 mg + CBDCA AUC6 + paclitaxel 200 mg/m <sup>2</sup> cada 3set x4-6 cicles --> atezolizumab - Atezolizumab + CBDCA + nabpaclitaxel x4-6 cicles --> atezolizumab - CBDCA + nabpaclitaxel --> BSC	(HR 0.75) <sup>#</sup>	(HR 0.88; p=0.16) <sup>#</sup>	
--	------------------------	--------------------------------	--

<sup>#</sup>comparació final entre les branques de CBDCA-nabpaclitaxel +/- atezolizumab

Abreviatures: SLP, supervivència lliure de progressió; SG, supervivència global; ORR, *objective response rate* (o taxa de resposta objectiva); HR, *hazard ratio*; CBDCA, carboplatí; AUC, *area under the curve* (o àrea sota la corba); mg, mil·ligrams; m<sup>2</sup>, metres quadrats; BSC, *best supportive care*.

L'estudi IMpower-131 no ha mostrat diferències quant a supervivència global, excepte en un anàlisi de subgrups en la població de pacients amb alta expressió de PD-L1. Aquesta combinació no ha rebut l'aprovació per part de la FDA; i cap de les dues combinacions pel CPCNP amb histologia escatosa ha sigut aprovada per la EMA.

**Taula 7.** Estudis fase III de combinació d'inhibidors d'*immune-checkpoint* i quimioteràpia en CPCNP amb histologia no-escatosa

Fàrmac i estudi	SLP	SG	ORR
<i>Pembrolizumab</i>  KEYNOTE-189 <sup>95,144</sup> - Pembrolizumab 200 mg + CBDCA AUC5/cisplatí 75 mg/m <sup>2</sup> + pemetrexed 500 mg/m <sup>2</sup> cada 3set x4 cicles --> pembrolizumab + pemetrexed - Placebo + CBDCA/cisplatí + pemetrexed x4 cicles --> placebo + pemetrexed	9 vs. 4.9 mesos (HR 0.48)	22 vs. 10.7 mesos (HR 0.56)	48% vs. 19.4%
<i>Atezolizumab</i>  IMpower-150 <sup>96</sup> - Atezolizumab 1200 mg + CBDCA AUC6 + paclitaxel 200 mg/m <sup>2</sup> cada 3set x4-6 cicles --> atezolizumab - Atezolizumab + CBDCA + paclitaxel + bevacizumab 15 mg/kg x4-6 cicles --> atezolizumab + bevacizumab - CBDCA + paclitaxel + bevacizumab --> bevacizumab	8.3 vs. 6.8 mesos (HR 0.50)*	19.2 vs. 14.7 mesos (HR 0.78)*	63.5% vs. 48%*
<i>Atezolizumab</i>  IMpower-132 <sup>97,145,146</sup> - Atezolizumab 1200 mg + CBDCA AUC6/cisplatí 75 mg/m <sup>2</sup> + pemetrexed 500 mg/m <sup>2</sup> cada 3set x4-6 cicles --> atezolizumab + pemetrexed - CBDCA/cisplatí + pemetrexed x4-6 cicles --> pemetrexed	7.7 vs. 5.2 mesos (HR 0.56)	17.5 vs. 13.6 mesos (HR 0.86; p=0.155)	51.7% vs. 37.4%

<p><i>Atezolizumab</i></p> <p>IMpower-130<sup>98,147</sup></p> <p>- Atezolizumab 1200 mg + CBDCA AUC6 cada 3set + nabpaclitaxel 100 mg/m<sup>2</sup>/1set x4-6 cicles --&gt; atezolizumab</p> <p>- CBDCA + nabpaclitaxel --&gt; BSC o pemetrexed 500 mg/m<sup>2</sup></p>	<p>7 vs. 5.5 mesos (HR 0.64)</p>	<p>18.6 vs. 13.9 mesos (HR 0.79)</p>	<p>49.2% vs. 32%</p>
---	--------------------------------------	--	--------------------------

\*comparació final entre les branques de CBDCA-paclitaxel-bevacizumab +/- atezolizumab

Abreviatures: SLP, supervivència lliure de progressió; SG, supervivència global; ORR, *objective response rate* (o taxa de resposta objectiva); HR, *hazard ratio*; CBDCA, carboplatí; AUC, *area under the curve* (o àrea sota la corba); mg, mil·ligrams; kg, quilograms; m<sup>2</sup>, metres quadrats; BSC, *best supportive care*.

Malgrat l'estudi IMpower-132 no mostra diferències quant a supervivència global, totes les 4 combinacions han rebut l'aprovació per part de la FDA. Actualment la única combinació aprovada per la EMA és la de pembrolizumab i quimioteràpia (KEYNOTE-189).

Existeixen altres estudis més recents que avaluen la combinació de 2 inhibidors dels *immune-checkpoint*, ipilimumab i nivolumab, o la combinació d'aquests 2 amb quimioteràpia. L'estudi fase III CHECKMATE-227 que comparava ipilimumab-nivolumab (vàries dosis) vs. nivolumab (amb o sense quimioteràpia segons l'expressió de PD-L1 negativa o positiva, respectivament) vs. quimioteràpia estàndard ha demostrat un benefici de la combinació enfront a quimioteràpia sola en termes de supervivència global (17.1 vs. 13.9 mesos; HR 0.73).<sup>148</sup> Els resultats preliminars de l'estudi CHECKMATE-9LA que comparen ipilimumab 1 mg/kg/6set i nivolumab 360 mg/kg/3set amb 2 cicles de quimioteràpia vs. quimioteràpia sola també mostren un avantatge en supervivència global a favor de la combinació (15.6 vs. 10.7 mesos; HR 0.66).<sup>149</sup> Quan s'estratifiquen els resultats dels 2 estudis per expressió de PD-L1, el benefici és major en el grup de pacients amb expressió de PD-L1 negativa i/o <50%.

Tal com s'ha mencionat en la secció de *Tractament del CPCNP*, en els pacients amb CPCNP estadi IV i expressió de PD-L1 ≥50%, tant la monoteràpia amb pembrolizumab com la teràpia de combinació amb un doblet de platí són dues opcions vàlides. Caldrà tenir en compte el comportament del tumor a l'hora d'elegir la millor estratègia; en casos amb una major cinètica de creixement o alt volum tumoral, la combinació serà la millor opció.

Per contra, en pacients amb expressió de PD-L1 <50% o desconeguda, i especialment en els pacients amb expressió de PD-L1 negativa, la combinació d'un inhibidor dels *immuno-*

*checkpoint* amb quimioteràpia és actualment el tractament d'elecció. Caldrien estudis comparatius que ens ajudin a conèixer quina posició ocupen les noves combinacions.

### 1.2.2.2. Segona línia

En segona línia, existeixen 4 estudis que comparen el tractament amb un inhibidor dels *immune-checkpoint* en monoteràpia enfront a docetaxel en pacients que han progressat a un doblet de platí.<sup>99-102</sup> Tots ells mostren un benefici en supervivència global a favor de la branca d'immunoteràpia.

L'estudi KEYNOTE-010 va ser l'únic que requeria una expressió de PD-L1 positiva. Inicialment amb 3 branques, comparant pembrolizumab 10mg/kg vs. 2mg/kg cada 3 setmanes vs. docetaxel, va mostrar una superioritat en termes de supervivència global a favor de la dosi de 10mg/kg. Al comparar les dues dosis de pembrolizumab (10mg/kg vs. 2mg/kg) no es van observar diferències estadísticament significatives quant a supervivència lliure de progressió, supervivència global ni resposta objectiva, pel que pembrolizumab 2mg/kg és la dosi aprovada en segona línia. L'actualització del 2018 que compara aquesta dosi amb la quimioteràpia, mostra un clar benefici de la branca d'immunoteràpia: 11.8 vs. 8.4 mesos (HR 0.69;  $p < 0.00001$ ).<sup>99,150</sup>

**Taula 8.** Estudis fase III d'inhibidors d'*immune-checkpoint* en monoteràpia en segona línia

Fàrmac i estudi	Requisits	SLP	SG	ORR
<i>Pembrolizumab</i> KEYNOTE-010 <sup>99,150</sup> - Pembrolizumab 10 mg/kg/3set - Pembrolizumab 2 mg/kg/3set - Docetaxel 75 mg/m <sup>2</sup> /3set	Escatós i no-escatós PD-L1 ≥1%	4 vs. 3.9 vs. 4 mesos (HR 0.79, 0.88)	12.7 vs. 10.4 vs. 8.5 mesos (HR 0.61, 0.71)	18.5% vs. 18% vs. 9.3%
<i>Nivolumab</i> CHECKMATE-017 <sup>100,151</sup> - Nivolumab 3 mg/kg/2set - Docetaxel 75 mg/m <sup>2</sup> /3set	Histologia escatosa Independent PD-L1	3.5 vs. 2.6 mesos (HR 0.61)	9.2 vs. 6 mesos (HR 0.62)	20 vs. 8.8%
<i>Nivolumab</i> CHECKMATE-057 <sup>101,151</sup> - Nivolumab 3 mg/kg/2set - Docetaxel 75 mg/m <sup>2</sup> /3set	Histologia no-escatosa Independent PD-L1	2.3 vs. 4.2 mesos (HR 0.90)	12.2 vs. 9.5 mesos (HR 0.70)	19.5 vs. 12.2%



<p><i>Atezolizumab</i></p> <p>OAK study<sup>102,152</sup></p> <p>- Atezolizumab 1200 mg/3set</p> <p>- Docetaxel 75 mg/m<sup>2</sup>/3set</p>	<p>Escatós i no-escatós</p> <p>Independent</p> <p>PD-L1</p>	<p>2.8 vs. 4 mesos</p> <p>(HR 0.93)</p>	<p>13.8 vs. 9.6 mesos</p> <p>(HR 0.75)</p>	<p>14.6 vs. 13.4%</p>
--	---	---	--	-----------------------

Abreviatures: SLP, supervivència lliure de progressió; SG, supervivència global; ORR, *objective response rate* (o taxa de resposta objectiva); HR, *hazard ratio*; PD-1, *programmed cell death 1*; mg, mil·ligrams; kg, quilograms; m2, metres quadrats.

En la majoria d'estudis descrits fins aquí, el tractament es mantenia fins a progressió, toxicitat inacceptable o pèrdua del benefici clínic. En els estudis que avaluaven pembrolizumab, aquest es mantenia fins a un total de 35 cicles, és a dir aproximadament uns 2 anys, amb la possibilitat de re-tractament amb el mateix fàrmac a la progressió.

La durada del tractament amb immunoteràpia quan s'aconsegueix una remissió parcial o completa de la malaltia és un tema controvertit.

### 1.2.3. Immunoteràpia i situacions especials

L'activitat i seguretat dels inhibidors dels *immune-checkpoint* han estat avaluades en nombrosos assajos clínics. Tot i així, hi ha certs grups de pacients que són exclosos o poc representats i només petits treballs han començat a explorar l'eficàcia i la incidència de toxicitat en aquestes poblacions sovint anomenades "especials".

#### a) Fragilitat: pacients ancians i/o amb ECOG-PS 2

Els pacients majors de 75 anys suposen un 10-15% de la població total dels estudis que avaluen el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en el CPCNP avançat. Mentre l'eficàcia és similar en els estudis en monoteràpia, aquest fet és menys evident en aquells que avaluen aquests fàrmacs en combinació, probablement degut a una major taxa de toxicitat.

L'estudi PePS2 mostra com pembrolizumab en monoteràpia en pacients PS-ECOG 2 presenta resultats d'eficàcia similars a la d'aquells amb un ECOG-PS 0-1.<sup>153</sup> Segons un altre estudi, quan l'ECOG-PS 2 ve determinat per les comorbiditats pròpies del pacient, els resultats d'eficàcia són millors que quan l'estat general està condicionat pel volum o càrrega tumoral, amb una

supervivència lliure de progressió de 5.6 vs. 1.8 ( $p=0.002$ ) i una supervivència global de 11.8 vs. 2.8 mesos ( $p=0.001$ ).<sup>154</sup>

#### **b) Metàstasis cerebrals**

En alguns treballs retrospectius, la presència de metàstasis cerebrals no ha resultat ser un factor independent de menor eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* (HR 1.1 i  $p=0.28$  per supervivència lliure de progressió, HR 0.99 i  $p=0.96$  per supervivència global), concloent que els pacients amb bon estat general, un número de lesions limitat i sense símptomes que requereixin l'ús de corticoides, no haurien de ser exclosos dels estudis que avaluen aquests fàrmacs.<sup>155,156</sup>

#### **c) Alteracions moleculars *driver***

L'activitat dels inhibidors dels *immune-checkpoint* en pacients amb CPCNP i alteracions moleculars *driver* ha estat poc estudiada.

Tot i la tendència a presentar una expressió alta de PD-L1, un estudi retrospectiu amb 551 pacients afectes de CPCNP amb alteracions moleculars (incloent els gens *KRAS*, *EGFR*, *BRAF*, *MET*, *Her2*, *ALK*, *RET* i *ROS1*) i tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en monoteràpia conclou que malgrat els resultats globals podien ser equiparables als dels estudis amb immunoteràpia en segona línia, aquest fet derivava d'una major representació del subgrup amb la mutació de *KRAS* (49%) que presentava les millors dades d'eficàcia (taxa de resposta 26%, supervivència lliure de progressió 3.2 mesos); mentre que els pacients amb alteracions d'*EGFR*, *ROS1* i especialment *ALK*, mostraven uns resultats inferiors (taxa de resposta 0% i supervivència lliure de progressió 2.5 mesos en aquest darrer subgrup).<sup>157</sup>

#### **d) Tractaments concomitants: corticosteroides i antibiòtics**

Tot i que s'ha descrit un efecte antagònic entre els inhibidors dels *immune-checkpoint* i l'ús de corticosteroides en models cel·lulars i animals, en humans no s'ha realitzat cap estudi explorant aquesta interacció de forma directa.

En un estudi amb 640 pacients afectes de CPCNP tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en monoteràpia, l'ús de corticosteroides a dosis equivalent de prednisona diaris de 10mg o més previ a l'inici del tractament s'associava a una eficàcia inferior de la immunoteràpia, tant en termes de supervivència lliure de progressió (HR 1.3,  $p=0.03$ ), com de supervivència global (HR 1.7;  $p<0.001$ ).<sup>158</sup> Les raons principals per utilitzar corticosteroides en aquest estudi eren la dispnea, la astènia i les metàstasis cerebrals.

La composició de la microbiota intestinal afecta a la resposta immunològica contra el tumor, i els antibiòtics alteren la diversitat i la composició d'aquesta conduint a la disbiosi. Diversos estudis retrospectius avalen la idea que la presa d'antibiòtics durant el curs del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* pot afectar l'eficàcia d'aquests últims.<sup>159,160</sup> Un metanàlisi conclou que l'ús d'antibiòtics just abans o després de l'inici de la immunoteràpia redueix la mediana de supervivència global més de 6 mesos.<sup>160</sup>

Tot i així, es desconeix si l'efecte detrimental de la presa de corticosteroides o antibiòtics sobre la eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* és un efecte directe, immunomodulador, d'aquests o conseqüència de tractar-se d'una població de pacients amb un volum tumoral més alt i per tant amb una major agressivitat. Alguns estudis i revisions sistemàtiques recolzen aquesta darrera idea.<sup>161,162</sup>

#### e) Infeccions virals i tuberculosi

Diferents treballs han demostrat que els inhibidors dels *immune-checkpoint* són un tractament segur en els pacients amb un maneig adequat dels virus de la hepatitis B (VHB) i C (VHC), així com el virus de la immunodeficiència humana (VIH), sense haver-se observat diferències quant a la seva eficàcia.<sup>163</sup>

El risc de *flare* o reactivació, i en el cas del VIH també de síndrome de reconstitució immune, són baixos. Es recomana iniciar el tractament antiretroviral previ a l'inici del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, especialment en el VHB fins a aconseguir la seroconversió de l'antigen de superfície (HBsAg).

Els pacients amb tuberculosi latent presenten un augment del risc de reactivació, pel que es recomana post-posar l'inici del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* entre 2 i 4 setmanes després d'haver iniciat la profilaxi amb isoniazida o rifampicina.<sup>164</sup>

#### **f) Malalties autoimmunes**

Diferents treballs han mostrat una major incidència d'efectes adversos derivats del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en els pacients amb malalties autoimmunes, sense diferències quant a dades de supervivència i taxa de resposta respecte a la població general.<sup>163</sup> En un estudi de 30 pacients amb diferents malalties autoimmunes (la majoria reumatològiques, però també incloent casos amb malaltia inflamatòria intestinal, tiroïditis i esclerosi múltiple, entre d'altres) i dels quals 43% rebia teràpia immunosupressora abans de l'inici del tractament amb ipilimumab (sobretot corticosteroides i hidroxicloroquina), 27% dels casos va presentar exacerbacions de la seva malaltia autoimmune i 10% va presentar efectes adversos graus 3-5, manejables amb corticosteroides o infliximab, reportant-se un cas de mort per una colitis immuno-mediada. La taxa de resposta objectiva va ser del 20%.<sup>165</sup>

Per tant, de forma similar al que passa amb les infeccions virals o per micobacteris, quan la malaltia autoimmune està controlada no hauria de ser una contraindicació absoluta per a l'ús dels inhibidors dels *immune-checkpoint*, sent també indispensable el maneig multidisciplinari amb els metges especialistes oportuns.

#### **g) Transplantament d'òrgans**

En un estudi amb 39 pacients receptors de trasplantaments d'òrgan sòlid (59% renal, 28% hepàtic i 13% cardíac), la majoria amb melanoma metastàtic tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* contra PD-1, 41% dels casos va presentar rebuig de l'empelt (11/23 renal, 4/11 hepàtic i 1/5 cardíac) i 81% va perdre aquest; la mortalitat va ser del 46%.<sup>166</sup>

Sembla que el risc de complicacions en el transplantament renal sigui menor. En una sèrie que incloïa 5 casos de receptors de trasplantaments d'òrgan afectes de melanoma i tractats amb pembrolizumab, no es va observar cap cas de rebuig en aquells trasplantats renals, mentre que un transplantament hepàtic va desenvolupar un fall hepàtic fulminant secundari al fall de

l'empelt.<sup>167</sup> També en un altre treball retrospectiu, només un de 6 pacients amb transplantament renal i melanoma tractats amb ipilimumab va presentar rebuig d'aquest.<sup>168</sup>

L'ús cada vegada més freqüent dels inhibidors dels *immune-checkpoint* i la complexitat associada a aquests ha conduït al desplegament de múltiples recursos assistencials, entrellaçant diferents especialitats mèdiques, per poder oferir el millor abordatge terapèutic a cada pacient concret.

Degut a tot això, actualment les contraindicacions absolutes d'aquests fàrmacs són poques, incloent sobretot casos de malalties autoimmunes actives o amb tendència a la recurrència així com els transplantaments cardíac o hepàtic per ser òrgans vitals i en els que els casos descrits han presentat complicacions greus. Tot i així, aquelles situacions que plantegen dubtes caldria discutir-les en un comitè multidisciplinari o derivant al pacient a l'especialista corresponent per a definir millor el risc de complicacions derivades de la immunoteràpia.

#### **1.2.4. Factors predictius del tractament amb immunoteràpia en CPCNP**

Actualment l'expressió tumoral de PD-L1 és l'únic biomarcador predictiu aprovat en el tractament del CPCNP amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. Pràcticament tots els estudis han demostrat una correlació positiva entre el benefici dels inhibidors dels *immune-checkpoint* i l'expressió de PD-L1. Tal com s'ha explicat anteriorment, a l'estudi KEYNOTE-024, per exemple, pembrolizumab en monoteràpia va mostrar una major eficàcia en comparació a la quimioteràpia com a tractament sistèmic de primera línia en pacients amb alta expressió de PD-L1.<sup>79,80,169</sup>

Tot i així, l'expressió de PD-L1 presenta un valor predictiu subòptim, probablement degut a la seva heterogeneïtat (diferent expressió en les diferents localitzacions metastàtiques i també amb el temps, per exemple, en pacients pretractats) i a les diferències entre els múltiples tests diagnòstics disponibles.<sup>170</sup>

Altres biomarcadors estudiats com a factors predictius de resposta a la immunoteràpia són la càrrega mutacional (o *tumor mutational burden*, TMB) i la inestabilitat de microsatèl·lits (o *microsatellite instability*, MSI), basant-se en el fet que els tumors portadors de moltes

mutacions, com el CPCNP, retenen més neoantígens a la superfície de les cèl·lules cancerígenes amb més possibilitats per a ser reconeguts com a estranys per les cèl·lules immunològiques. La TMB és pot mesurar mitjançant mètodes de seqüenciació, definint-se com el número total de mutacions somàtiques a l'exoma tumoral (WES, *whole-exome sequencing*) o com el número total de mutacions per megabase (Mb) present en un 5% o més de la freqüència al·lèlica en el genoma seqüenciat per NGS (*FoundationOne CDx assay*). Una TMB alta s'ha associat en alguns estudis amb una major eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*; tot i així, a l'estudi CHECKMATE-227, el benefici de la combinació d'ipilimumab-nivolumab era independent a aquesta.<sup>148</sup> La manca d'estandardització i de reproductibilitat, així com el seu alt cost, han dificultat el seu ús en la pràctica diària.

De la mateixa manera, la MSI, un patró d'hipermutació produït a causa de defectes en el sistema de reparació de l'ADN, ha demostrat ser un factor predictiu de resposta a la immunoteràpia independentment tipus de tumor sòlid;<sup>171</sup> no obstant això, la seva baixa prevalença (només 3.8% dels càncers i 1% de CPCNP) en dificulta l'ús, almenys en el CPCNP.

A l'estudi MYSTIC, prèviament citat, les mutacions dels gens *STK11* i *KEAP1* es van associar a resistència al tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, amb medianes de supervivència menors en comparació als pacients sense alteracions moleculars (*wild-type*) en les diferents branques de tractament. En canvi, en la branca de combinació de durvalumab-tremelimumab, els casos que presentaven la mutació del gen *ARID1A* van mostrar una major supervivència global amb immunoteràpia.<sup>172</sup>

S'està avaluant el rol predictiu d'altres biomarcadors, especialment relacionats amb l'hoste, com els *circulating biomarkers* prèviament descrits a la secció *Factors pronòstics del CPCNP*.<sup>51</sup> Destaca el *Lung Immune Prognostic Index* (LIPI), que combina 2 paràmetres inflamatoris, el *derived neutrophils/[leukocytes minus neutrophils] ratio* (dNLR) i les xifres de lactat deshidrogenasa (LDH), i que s'ha associat amb l'eficàcia de la immunoteràpia en pacients amb CPCNP avançat.<sup>173</sup>

Per altra banda, en els darrers anys s'ha documentat que la microbiota intestinal pot afectar a la resposta antitumoral. Diversos estudis suggereixen que una microbiota enriquida amb

*Faecalibacterium* (del gènere *Firmicutes*) s'associa a una millor resposta i supervivència dels inhibidors dels *immune-checkpoint*.<sup>174</sup>

### 1.3. Toxicitat dels inhibidors dels *immune-checkpoint*

#### 1.3.1. Epidemiologia i patogènia dels *irAEs*

Malgrat que els inhibidors dels *immune-checkpoint* han millorat de forma notable la supervivència del CPCNP, canviant radicalment el seu maneig, aquests fàrmacs no estan exemptes de toxicitat.

Donat el seu mecanisme d'acció, els inhibidors dels *immune-checkpoint* poden produir efectes adversos de tipus inflamatori, anomenats efectes adversos immuno-relacionats o immuno-mediats, abreviats amb les sigles *irAEs* en anglès.<sup>175</sup> La seva fisiopatologia exacte no es coneix de forma precisa, però la patogènia de les malalties autoimmunes proporciona algunes pistes i la investigació traslacional recolza que són resultat de l'acció de limfòcits T auto-reactius, auto-anticossos i/o citocines pro-inflamatòries (com la interleucina-17).<sup>175-178</sup>

Els *irAEs* són molt freqüents: 60-85% dels pacients tractats amb immunoteràpia presentarà efectes adversos immuno-relacionats de qualsevol grau i 10-38% graus 3-4 de la classificació CTCAE (*Common Terminology Criteria for Adverse Events*) versió 4, segons les diferents sèries.<sup>176-179</sup>

Solen ser més comuns amb els inhibidors de CTLA-4 (70-85%) que amb els inhibidors de PD-1/PD-L1 (55-75%); i també solen ser més greus amb els primers (graus 3-4: 10-27% vs. 15%), especialment amb la dosi de 10mg/kg d'ipilimumab (arribant al 30-40%).<sup>178</sup> La incidència i gravetat dels *irAEs* és similar entre els inhibidors de PD-1 i de PD-L1.

Pel que fa als estudis de combinació, a l'estudi KEYNOTE-189 la incidència d'*irAEs* fou de 22.7% per tots els graus i 8.9% pels graus 3-5, sense semblar major a la dels estudis en monoteràpia.<sup>95</sup> Per contra, a l'estudi CHECKMATE-227, 76.7% dels pacients a la branca d'ipilimumab-nivolumab van presentar *irAEs* de qualsevol grau i 32.8% graus 3 o superior.<sup>148</sup>

### 1.3.2. Tipus d'irAEs

Els *irAEs* poden afectar a qualsevol òrgan o sistema, però són més comuns aquells que afecten a la pell, al tracte gastrointestinal i al sistema endocrí, especialment a la tiroides.<sup>176-178</sup> Mentre que els inhibidors de CTLA-4 s'han relacionat més amb els efectes adversos cutanis, la colitis i amb les alteracions de la hipòfisi, els inhibidors de PD-1/PD-L1 amb la pneumonitis i alteracions de la tiroides. A la Taula 9 es detallen els principals *irAEs*.<sup>176-178</sup>

**Taula 9.** Principals efectes adversos immuno-relacionats.

Tipus d' <i>irAEs</i>		Tots els graus	Grau ≥3	Temps d'aparició
<i>Efectes cutanis (rash, pruija)</i>		35-45%	<1%	3-8 setmanes
<i>Colitis/diarrea</i>		8-27%	1-2%	5-10 setmanes
<i>Pneumonitis</i>		2-5%	1-2%	9-12 setmanes
<i>Efectes endocrinològics</i>	<i>Hipotiroïdisme</i>	1-5% anti-CTLA-4	<1%	6-8 setmanes
	<i>Hipertiroïdisme</i>	5-10% anti-PD-1/PD-L1		
	<i>Eix hipofisari-suprarrenal</i>	1-16% anti-CTLA-4 <1% anti-PD-1/PD-L1	1-5%	9-10 setmanes

Entre els *irAEs* de tipus cutani, els més freqüents són el rash i la pruija. Altres formes menys freqüents són l'exantema psoriasiforme i el vitiligen. També s'han descrit casos més extrems i rars de dermatosis bullosa o inclús formes similars a un síndrome de Stevens-Johnson o a la necròlisi tòxica epidèrmica.<sup>176-178</sup>

Altres menys comuns són l'hepatitis (5-10%), la nefritis (1-2%), *irAEs* de tipus neurològic (1-12%, com reaccions similars al síndrome de Guillain-Barré o a la miastènia gravis), de tipus cardiològic (<1%, com una miocarditis o una pericarditis) o de tipus reumatològic (2-12%, com l'artritis o la vasculitis), entre d'altres.<sup>176-178</sup>

Mentre els efectes adversos cutanis com el rash i la pruija, solen presentar-se de forma més precoç, semblant-se a nivell fisiopatològic a una reacció similar a la d'hipersensibilitat cutània (o reacció al·lèrgica, amb infiltrants limfocitaris perivasculars i eosinofílics), la resta d'*irAEs* normalment solen aparèixer més tard, reproduint patrons més complexes d'inflamació aguda



i crònica, similars a aquells observats en les malalties autoimmunes (amb infiltrats neutrofílics i granulomes).<sup>177,180-182</sup>

Sovint es presenten amb símptomes inespecífics i mals d'interpretar, inclús de vegades passant desapercibuts o essent confosos amb altres derivats de la pròpia malaltia oncològica. És per tant fonamental pensar-hi i tenir-los en compte en el diagnòstic diferencial de qualsevol pacient en tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.

Així, per arribar al seu diagnòstic a vegades són necessàries proves d'imatge (com la TC toràcica en el cas de pneumonitis o la RMN cerebral per les alteracions hipofisiàries) o proves invasives per a la presa de biòpsies amb l'objectiu de descartar altres causes. No hi ha un paràmetre analític específic, però normalment s'observa un patró inflamatori amb augment dels reactants de fase aguda.<sup>178,183</sup>

### 1.3.3. Maneig dels *irAEs*

Els *irAEs* normalment són lleus i reversibles, requerint una monitorització estreta mentre es segueixen diferents mesures simptomàtiques.<sup>184</sup> Tot i així, aproximadament un 10-15% dels casos poden ser greus, acompanyant-se d'una important morbiditat o fins i tot conduint a la mort del pacient.

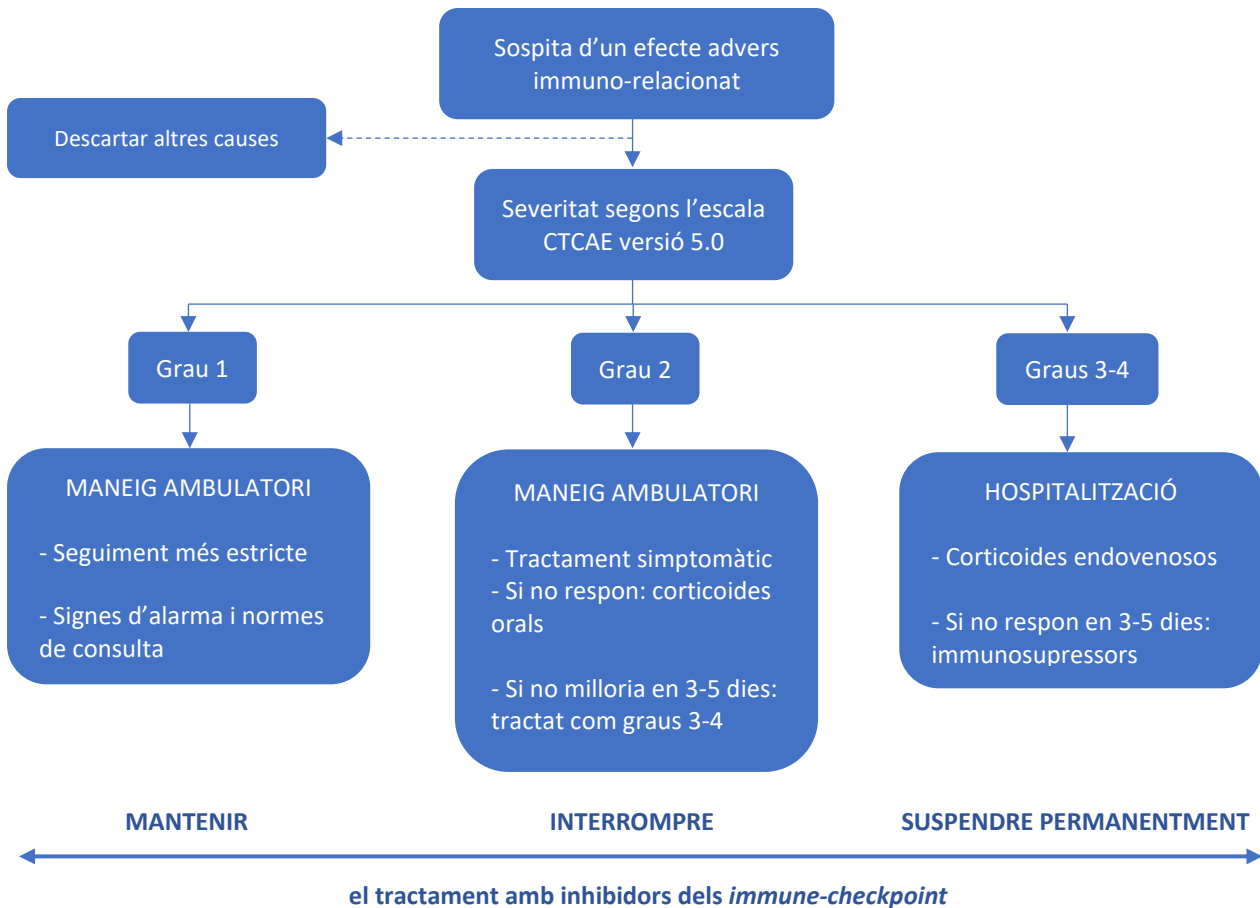
L'efecte advers immuno-relacionat associat a ipilimumab més greu és la colitis, mentre que als inhibidors dels *immune-checkpoint* contra PD-1/PD-L1 és la pneumonitis, seguit de l'hepatitis en tots els casos.<sup>180</sup>

La pedra angular del maneig dels *irAEs*, especialment quan aquests són grau  $\geq 3$ , són els corticosteroides. Pot utilitzar-se la via oral amb prednisona a 0.5-1 mg/kg per dia quan són moderats o la via endovenosa, preferiblement amb metilprednisolona (en bolus de 1000 mg durant 3 dies o a dosis de 1-2 mg/kg per dia), en casos més greus.<sup>178,180,183</sup>

Existeixen alguns pacients que són refractaris al tractament amb corticosteroides en els que és necessari instaurar un tractament amb immunosupressors, com per exemple l'infliximab per a la colitis o el micofenolat de mofetil per a la hepatitis.<sup>178,180,183</sup>

A la Figura 8 es mostra el maneig general dels *irAEs* que resumeix les recomanacions de les guies tant americanes com europees elaborades amb aquest propòsit.<sup>178,180,183</sup>

**Figura 8.** Maneig general dels efectes adversos immunorelacionats.



Abreviatures: CTCAE, *Common Terminology Criteria for Adverse Events*.

Per a la majoria d'*irAEs* grau  $\geq 3$  es recomana suspendre el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* de forma permanent. En aquest context, la taxa de discontinuació és d'entorn al 4-8% quan s'utilitzen en monoteràpia. Pel que fa a la combinació, a l'estudi KEYNOTE-189 un 13.8% dels pacients amb *irAEs* grau  $\geq 3$  van suspendre el tractament en front a un 7.9% en el grup placebo. A l'estudi CHECKMATE-227, la taxa de discontinuació va ser de 18.1% en el grup experimental i 9.1% en el grup placebo.<sup>95,148</sup>

Quan a la mortalitat produïda pels *irAEs*, aquesta és menor a 1% en els estudis de monoteràpia, arribant al 6.7% en els estudis de combinació del quimioteràpia i inhibidors dels *immune-*

*checkpoint*.<sup>95,176,177</sup> A l'estudi CHECKMATE-227, es va reportar una mortalitat de 1.4% en el grup d'ipilimumab-nivolumab.<sup>148</sup>

#### 1.3.4. Relació entre els *irAEs* i l'eficàcia de la immunoteràpia

La relació entre els *irAEs* i l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* és l'últim capítol d'un llarg debat sobre la toxicitat i l'eficàcia dels agents antitumorals.

L'any 2014, una metaanàlisi que incloïa 99 estudis que avaluaven principalment fàrmacs quimioteràpics va demostrar que el benefici del tractament experimental era proporcional a la toxicitat derivada d'aquest en termes de supervivència lliure de progressió, sense detectar diferències quant a supervivència global.<sup>185</sup>

Tot i així, existeix una clara diferència a l'hora d'abordar aquesta qüestió pel que fa al tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. Mentre que la relació entre toxicitat i resposta rau en l'efecte antitumoral directe exercit pels fàrmacs quimioteràpics i les dosis d'aquests (com més agressiva sigui la teràpia, major serà l'efecte terapèutic així com la incidència i gravetat dels efectes adversos), pel que fa als inhibidors dels *immune-checkpoint*, tant l'efecte antitumoral com la toxicitat es produeixen mitjançant l'activació del sistema immunitari i són en la majoria de casos independents de la dosi del tractament rebut.

Diversos treballs han mostrat una associació entre el desenvolupament dels *irAEs* i l'activitat dels inhibidors dels *immune-checkpoint*. Tot i així, la majoria no tenen en compte el biaix degut a la naturalesa temps-depenent dels efectes adversos immuno-relacionats, també conegut amb el nom de *immortal-time bias*, que afecta aquells estudis que exploren la relació entre una variable que depèn del temps i un resultat determinat, podent magnificar la relació toxicitat-resposta. De fet, alguns *irAEs* poden requerir força temps per produir-se, inclús varis mesos. Per aquest motiu, els pacients amb mal pronòstic, que no tenen prou temps per desenvolupar aquest tipus de toxicitat ja sigui perquè moren o progressen durant els primers mesos de tractament, s'inclouen dins el grup "no-*irAEs*", magnificant així la relació *irAEs*-resposta.<sup>186,187</sup>

Històricament, les alteracions cutànies i particularment el vitiligen va ser el primer tipus d'*irAEs* que es van relacionar amb una millor eficàcia del tractament amb immunoteràpia en el melanoma avançat.<sup>188</sup>

Quant al CPCNP, s'han portat a terme diversos estudis per analitzar la relació entre la presència dels *irAEs* i l'eficàcia del tractament, mostrant diferències en supervivència i alguns també en taxa de resposta objectiva. La majoria d'aquests estudis inclouen un número limitats de pacients, fets molts d'ells amb població asiàtica.<sup>189-194</sup>

Entre aquests destaquen 2 treballs, per ser els que inclouen més pacients i per aplicar l'anàlisi *landmark*, que té en compte només els casos vius o amb control de la malaltia després d'un període de temps preestablert, excloent així el casos extrems (progressors ràpids), amb l'objectiu de corregir l'*immortal-time bias*.<sup>195,196</sup> El primer és un estudi multicèntric japonès, amb una cohort de 134 pacients afectes de CPCNP avançat i tractats amb nivolumab en segona línia, i que tot i aplicant l'anàlisi *landmark*, va demostrar com la presència d'*irAEs* s'associava de forma estadísticament significativa a una millor supervivència lliure de progressió i supervivència global. En un anàlisi multivariat, els *irAEs* de tipus cutani i endocrí eren els que es relacionaven de forma independent amb una millor supervivència.<sup>194</sup> El segon és un estudi italià monocèntric que incloïa 195 pacients també tractats amb nivolumab; en aquest, la pneumonitis, la colitis, els efectes adversos endocrins i cutanis es van associar de forma independent a una major supervivència.<sup>197</sup>

Tot i així, altres estudis han mostrat resultats oposats.<sup>198,199</sup> En un anàlisi multivariat fet en pacients amb tumors sòlids no-melanoma, només els *irAEs* de baix grau es van associar a una millor resposta dels inhibidors dels *immune-checkpoint* contra PD-1.<sup>198</sup> Així, és possible que només alguns subtipus d'*irAEs* estiguin associats a una major eficàcia del tractament.

En aquest sentit, diversos treballs han demostrat com la toxicitat immuno-mediada de tipus endocrí es correlaciona amb un millor pronòstic.<sup>199,200</sup> Fujisawa *et al.* en un estudi retrospectiu amb pacients amb melanoma tractats amb ipilimumab i nivolumab no va trobar una correlació entre la presència d'*irAEs* i l'eficàcia del tractament, però en un anàlisi multivariat, els efectes endocrins eren un factor independent associat a una major supervivència.<sup>199</sup>

De la mateixa manera, diversos estudis han mostrat una associació entre els efectes adversos immuno-relacionats cutanis i una millor resposta al tractament. Tot i així, probablement per la

heterogeneïtat entre els diferents efectes cutanis immuno-mediats, aquesta associació pot ser diferent segons el tipus d'alteració cutània. Així, alguns estudis han mostrat, a diferència del que succeeix en els pacients amb melanoma, que la presència de vitiligen no s'associava a una major resposta, però sí que existia una correlació entre l'eficàcia del tractament i altres alteracions cutànies en pacients amb tumors sòlids no-melanoma.<sup>188,201,202</sup>

De tot això sorgeix la qüestió sobre si els corticosteroides per al maneig dels efectes adversos immuno-relacions, per contra, pot reduir l'eficàcia del tractament amb immunoteràpia. L'ús de corticosteroides, tal com hem mencionat abans, pot tenir un efecte antagònic al dels inhibidors dels *immune-checkpoint* i alguns estudis suggereixen que l'ús de corticoides pel maneig de símptomes derivats de la malaltia oncològica s'associa a una menor eficàcia del tractament<sup>158,161,162</sup> No s'ha analitzat si passa el mateix quan la seva utilització és per al tractament de la toxicitat immuno-relacionada.

### 1.3.5. Biomarcadors predictius dels *irAEs*

Mentre que els biomarcadors predictius de resposta a la immunoteràpia són àmpliament estudiats, existeixen escasses dades publicades sobre potencials marcadors predictius dels *irAEs*.

Alguns treballs han suggerit que el sexe femení, la insuficiència renal i paràmetres que indiquin un estat nutricional pobre (com els nivells baixos d'albúmina i la sarcopènia), s'associen a un major risc de toxicitat degut a un augment de la susceptibilitat a la inflamació sistèmica; de fet, la major prevalença de les malalties autoimmunes en les dones és una dada epidemiològica ja coneguda.<sup>203-205</sup>

En 2 estudis amb pacients amb melanoma tractats amb ipilimumab, el predomini de *Firmicutes* a la microbiota intestinal es va associar al desenvolupament de colitis,<sup>174</sup> mentre que *Bacteroidetes phylum* semblava que protegia d'aquest tipus d'efecte immuno-relacionat.<sup>206</sup> Quant als biomarcadors circulants, també s'han portat a terme alguns treballs que mostren com, donada la seva participació en la patogènia d'aquest tipus de toxicitat, diferents

components del sistema immunològic, especialment neutròfils i citocines, poden tenir un rol en la predicció dels *irAEs*.<sup>207</sup>

En un estudi multivariat en pacients amb melanoma, carcinoma urotelial i carcinoma renal tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* contra PD-1, el recompte absolut de leucòcits i d'eosinòfils, basals i després del primer mes de l'inici del tractament, van resultar ser factors independents associats de forma significativa a una incidència d'*irAEs* grau  $\geq 2$ .<sup>208</sup> En un altre treball, nivells elevats de leucòcits i neutròfils però baixos de limfòcits, també es va associar a una major incidència de pneumonitis i colitis immuno-relacionades.<sup>209</sup>

A més, l'expressió de CD163 i CXCL5 (marcadors de macròfags i monòcits) i de CD177 i CEACAM1 (marcadors de neutròfils activats), també s'han associat al desenvolupament d'*irAEs* en pacients en melanoma.<sup>210,211</sup> En un altre estudi, l'expressió genètica combinada de LCP1 i ADPGK, 2 marcadors d'activació dels neutròfils, es va associar a una major taxa d'*irAEs*, especialment amb pneumonitis, en pacients amb tumors sòlids, la majoria d'ells amb CPCNP.<sup>212</sup>

S'han observat nivells elevats de la interleucina-17 (IL-17), una citocina que participa en diferents processos inflamatoris com ara el reclutament de neutròfils, en els pacients amb malaltia inflamatòria intestinal; i de forma similar, alguns treballs retrospectius també han mostrat una correlació entre la presència de nivells alts d'IL-17 i el desenvolupament de colitis immuno-relacionada en pacients amb melanoma estadi IV tractats amb ipilimumab.<sup>213,214</sup> En un altre treball amb diferents tipus de tumors sòlids, el desenvolupament de toxicitat tiroïdal immuno-mediada es va relacionar amb nivells basals elevats de IL-1 $\beta$  i IL-2 i MCP-1 i un descens precoç de IL-8 i GM-CSF.<sup>215</sup> A la vegada, en aquest estudi els autoanticossos anti-peroxidasa i anti-tiroglobulina estaven elevats en els pacients que van presentar disfunció tiroïdal. Per contra, diferents treballs han reportat dades contradictòries pel que fa a el paper de les IL-6 i IL-8.<sup>205</sup>



## 2. HIPÒTESIS





El desenvolupament dels *irAEs* s'ha associat a una major eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*, però la majoria d'estudis són petits i una gran part esbiaixats degut a la naturalesa temps-depenent d'aquest tipus de toxicitat.<sup>189-194,197,216,217</sup> També s'ha observat una correlació negativa entre els inhibidors dels *immune-checkpoint* i l'ús de corticosteroides pel maneig de símptomes derivats de la malaltia oncològica,<sup>158,162,218,219</sup> però quan aquests són utilitzats pel tractament dels *irAEs* no s'ha analitzat específicament.

Ates els resultats d'eficàcia que ofereix el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, és fonamental la recerca de biomarcadors que permetin el diagnòstic precoç dels *irAEs*. Entre els biomarcadors circulants s'han estudiat sobretot citocines i marcadors de neutròfils activats. Les plaquetes, que participen en el procés de carcinogènesi i metàstasi, també presenten una funció immuno-moduladora a través de l'activació de citocines, factors de creixement i l'expressió de molècules a la seva superfície que permeten la seva unió a leucòcits.<sup>220-222</sup> Diverses molècules participen en la unió de les plaquetes amb els leucòcits, formant complexos que poden tenir una funció tant anti- com pro-inflamatòria;<sup>222-224</sup> de fet, els pacients amb malalties inflamatòries cròniques, com les malalties autoimmunes, presenten nivells alts de complexos circulants de leucòcits-PLT.<sup>225,226</sup>

En aquest treball es planteja que existeix una correlació entre l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* i els *irAEs*, però que per analitzar-la cal aplicar l'anàlisi *landmark* que permet corregir el biaix abans mencionat (*immortal-time bias*). També es planteja que l'impacte negatiu atribuït a l'ús dels corticosteroides durant la immunoteràpia podria ser degut a les característiques de pitjor pronòstic d'aquell subgrup de pacients que els requereixen pel control de símptomes, mentre que els corticosteroides destinats al maneig dels *irAEs* no impactarien en l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*. A més, els complexos circulants de leucòcits-PLT, ates l'augment de la seva presència en malalties de caràcter autoimmunes, també podrien jugar un paper en la patogènia i predicció dels *irAEs* en pacients amb CPCNP.



### 3. OBJECTIUS



### 3.1. Objectiu principal:

Analitzar l'associació entre la presència d'*irAEs* i l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* (anti-PD-1/PD-L1) en pacients afectes de CPCNP avançat, utilitzant l'anàlisi *landmark*

### 3.2. Objectius secundaris:

- Analitzar la correlació entre l'eficàcia dels inhibidors de PD-1/PD-L1 i l'ús de corticosteroides en pacients amb CPCNP avançat, tant pel maneig dels *irAEs* com pel control de símptomes derivats de la malaltia oncològica
- Analitzar la relació entre els complexos leucòcits-PLT circulants i el desenvolupament d'*irAEs* en pacients amb CPCNP avançat tractats amb inhibidors de PD-1/PD-L1
- Analitzar la relació entre els diferents complexos leucòcits-PLT circulants i el tipus i la severitat dels *irAEs* en pacients amb CPCNP avançat tractats amb inhibidors de PD-1/PD-L1



## 4. MATERIAL I MÈTODES - ARTICLES





#### 4.1. Anàlisi de l'associació entre la presència d'*irAEs* i l'ús de corticosteroides amb l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* en el CPCNP avançat

En aquest apartat s'inclou la publicació descrita a continuació:

Títol:

*Immune-Related Adverse Events and Corticosteroid Use for Cancer-Related Symptoms Are Associated With Efficacy in Patients With Non-small Cell Lung Cancer Receiving Anti-PD-(L)1 Blockade Agents.*

*Frontiers in Oncology.* 2020 Sep 7;10:1677.

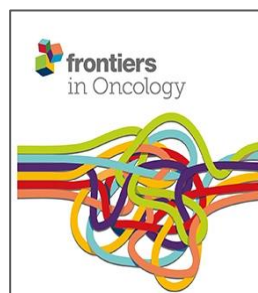
DOI: 10.3389/fonc.2020.01677.

PMID: 33014837.

Autors:

**Mariona Riudavets**, Joaquin Mosquera, Rosario Garcia-Campelo, Jorgina Serra, Geòrgia Anguera, Pablo Gallardo, Ivana Sullivan, Andrés Barba, Luís del Carpio, Agustí Barnadas, Ignasi Gich, Margarita Majem.

Departament d'Oncologia mèdica de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Espanya.





doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(1/11 pags)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(2/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(3/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(4/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(5/11)



doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(6/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(7/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(8/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(9/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(10/11)

doi: 10.3389/fonc.2020.01677  
(11/11)



## 4.2. Anàlisi dels complexos leucòcits-plaquetes circulants com a factor predictiu dels *irAEs*, el seu tipus i la seva severitat, en el CPCNP avançat

En aquest apartat s'inclou la publicació descrita a continuació:

### Títol:

*Circulating leukocyte-platelet complexes as a predictive biomarker for the development of immune-related adverse events in advanced non-small cell lung cancer patients receiving anti-PD-(L)1 blocking agents.*

*Cancer Immunology and Immunotherapy.* 2021 Jun;70(6):1691-1704.

DOI: 10.1007/s00262-020-02793-4.

PMID: 33388994.

### Autors:

Carlos Zamora\*, **Mariona Riudavets\***, Geòrgia Anguera, Leticia Alserawan, Ivana Sullivan, Andrés Barba, Jorgina Serra, M. Àngels Ortiz, Pablo Gallardo, Lúdia Perea, Javier Gavira, Agustí Barnadas, Margarita Majem, Sílvia Vidal.

\*co-primers autors

Departament d'Oncologia mèdica de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau i Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Espanya.







doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(1/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(2/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(3/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(4/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(5/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(6/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(7/14 pags)



doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(8/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(9/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(10/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(11/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(12/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(13/14 pags)

doi: 10.1007/s00262-020-02793-4  
(14/14 pags)







## 5. RESUM GLOBAL DELS RESULTATS



Aquests 2 treballs posen de manifest, en primer lloc, la rellevància clínica del desenvolupament dels *irAEs* en pacients amb CPCNP tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. En segon lloc, l'existència de paràmetres biològics que poden predir de forma precoç l'aparició dels diferents tipus d'*irAEs* per poder evitar la progressió a graus més severos o irreversibles que podrien comprometre la continuïtat del tractament i també la vida dels pacients.

El **primer treball** inclou 267 pacients afectes de CPCNP avançat tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD1/PD-L1, la majoria en monoteràpia (78.3%), en primera o segona línia (30.3 i 49.1%, respectivament), sent nivolumab i pembrolizumab els 2 fàrmacs més utilitzats (44.2 i 25.6%, respectivament). Un 9.4% dels casos van rebre la combinació d'un inhibidor de PD-1/PD-L1 amb un inhibidor de CTLA-4.

Cent cinquanta-dos pacients (56.9%) va presentar un total de 255 *irAEs*. La mediana d'*irAEs* per pacient va ser de 1 [0-5] i la mediana de temps per a l'inici d'aquests de 7.6 setmanes [0.1-123.4]. Els tipus d'*irAEs* més freqüents van ser els cutanis (incloent el rash i la pruija), la diarrea i l'hipotiroïdisme. La majoria van ser de grau 1 (58.4%) i en pacients que rebien el tractament en primera línia (74.1%). En els casos tractats en combinació amb inhibidors de CTLA-4, els efectes adversos de tipus endocrí van ser més freqüents (36% vs. 8.6% amb un anti-PD1 i 8.9% amb un anti-PD-L1); i també es va observar una tendència, no significativa, a presentar una major taxa d'*irAEs* de grau  $\geq 3$ . No es van observar diferències significatives pel que fa als diferents tipus d'*irAEs* i els diferents inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD1/PD-L1 en monoteràpia.

Quaranta-quatre pacients (20.2%) va discontinuar el tractament amb *immune-checkpoint* a conseqüència dels *irAEs*, essent la pneumonitis, les alteracions endocrines i la colitis els tipus d'*irAEs* més freqüentment associats a la discontinuació del tractament; un total de 68.2% d'aquests *irAEs* eren de grau  $\geq 3$ .

Amb una mediana de seguiment de 8.5 mesos i aplicant l'anàlisi *landmark*, tant la mediana de SLP com de SG van ser significativament superiors en el subgrup de pacients que havien presentat *irAEs*: pel que fa a la SLP, 12.4 mesos (interval de confiança [IC] 95%, 1.9-22.9) vs. 4.1 mesos (IC 95%, 2.6-5.6) (HR 0.43;  $p < 0.001$ ) i quant a SG, 28.2 mesos (IC 95%, no assolida) vs. 12.5 mesos (IC 95%, 10.8-14.2) (HR 0.38;  $p < 0.001$ ). De forma similar, els pacients que experimentaven *irAEs* també mostraven una taxa de resposta objectiva major, de 48.6% vs.

22.8% (*odds ratio* [OR] 3.23;  $p < 0.001$ ), inclús aplicant l'anàlisi *landmark* (a les 8 setmanes, 54.8% vs. 28%; OR 5 i  $p = 0.004$ ), amb una mediana de duració de la resposta superior: 6.1 mesos [0.5-50] vs. 2.6 mesos [0.2-51.9] ( $p < 0.001$ ).

Cent quaranta-sis pacients (54.7%) van rebre corticosteroides de forma concomitant al tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* (des d'un mes abans de l'inici o durant el tractament amb d'aquests), amb una mediana de duració de tractament de 59 dies [0.5-83] i sense observar diferències entre els pacients que rebien els inhibidors dels *immune-checkpoint* en primera línia o en línies posteriors. Cent trenta-quatre (91.8%) pacients van rebre corticosteroides en dosis equivalents de prednisona de  $\geq 10$  mg diaris: el 44% dels casos pel maneig dels *irAEs* i el 56% pel control de símptomes relacionats amb la malaltia oncològica (essent el maneig de les metàstasis cerebrals i la dispnea els principals motius d'ús).

La mediana de SG va ser major en el grup de pacients que no rebia corticosteroides o que ho va fer en una dosi equivalent de prednisona  $< 10$  mg diaris en comparació amb els que van rebre una dosi equivalent de prednisona  $\geq 10$  mg al dia: 14.7 mesos (IC 95%, 11.1-18.3) vs. 8.3 mesos (IC 95%, 6.9-9.8) (HR 0.66;  $p = 0.010$ ). Quan analitzàvem els resultats en funció del motiu d'ús, els pacients que rebien dosis  $\geq 10$  mg diaris pel control de símptomes relacionats amb el CPCNP presentaven una pitjor SG respecte la resta de pacients: 6 mesos (IC 95%, 4.4-7.5) vs. 15.9 mesos (IC 95%, 11.2-20.7) (HR 2.28;  $p < 0.001$ ). No es van observar diferències entre els pacients que rebien  $\geq 10$  mg equivalents de prednisona diaris pel maneig dels *irAEs*, els que rebien  $< 10$  mg per qualsevol indicació o els que no rebien corticosteroides durant el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* ( $p = 0.314$ ). No es van observar diferències pel que fa a la SLP.

Cent quaranta-un pacients van rebre antibiòtics (des de 3 mesos abans de l'inici del tractament fins a 3 mesos després); tot i així, no es van observar diferències quant a supervivència pel que fa al seu ús ( $p = 0.924$  i  $p = 0.454$  per SG i SLP, respectivament).

En el nostre treball es van dur a terme 2 tipus d'anàlisis multivariats, el primer tenint en compte diferents característiques clíniques i el segon els diversos tipus d'*irAEs* que havien mostrat significació estadística en els respectius anàlisis univariats prèviament realitzats. Els anàlisis multivariats es van repetir tant per SG com per taxa de resposta objectiva.

Pel que fa al primer, en el que s'inclouen factors pronòstics com la presència d'*irAEs*, l'ECOG PS, la presència de metàstasis hepàtiques, l'ús de corticosteroides i la línia de tractament, la presència dels *irAEs* va ser la variable independent associada tant a una major SG (HR 0.32;  $p < 0.001$ ) com a una major taxa de resposta objectiva (OR 2.78;  $p = 0.001$ ). Variables com l'ECOG PS  $\geq 2$ , la presència de metàstasis hepàtiques, l'ús de corticosteroides i rebre el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en segona línia o posterior es van associar a pitjors resultats. No es va observar cap associació entre la presència de metàstasis cerebrals i SG ni taxa de resposta objectiva. En l'anàlisi univariat no es va observar cap associació entre el grau dels *irAEs* (grau 1-2 vs. grau 3-4) i la SG ( $p = 0.198$ ) ni la taxa de resposta objectiva ( $p = 0.349$ ). Quant al segon anàlisi multivariat, el rash, la pruija, les alteracions endocrines i l'artritis van resultar variables independents per SG; i només el rash, les alteracions endocrines i l'artritis pel que fa a taxa de resposta objectiva. La pruija i l'artritis van ser els 2 tipus de toxicitats que van presentar unes HR més favorables: pel que fa a SG, HR 0.26 (IC 95%, 0.14-0.49;  $p < 0.001$ ) la pruija i HR 0.26 (IC 95%, 0.10-0.62;  $p = 0.003$ ) l'artritis; pel que fa a taxa de resposta objectiva, OR 3.57 (IC 95%, 1.39-9.10;  $p = 0.008$ ) l'artritis.

El **segon treball** és un estudi prospectiu que inclou 87 pacients amb CPCNP avançat tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD1/PD-L1 on s'analitza el rol de les plaquetes, i concretament dels leucòcits units a plaquetes (o complexos leucòcits-PLT circulants), com a biomarcadors predictius dels *irAEs*. La majoria dels pacients rebien el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD1/PD-L1 en monoteràpia (92%) i en segona línia o posterior (73.6%). Els resultats obtinguts es van comparar amb els de 26 donants sans.

Seixanta-quatre pacients (73.6%) van desenvolupar un total de 121 *irAEs*, amb una mediana de 1 [1-3] *irAEs* per pacient. Igual que en el primer treball, els *irAEs* més freqüents eren els cutanis (rash i pruija), seguit de la diarrea i l'hipotiroïdisme; també la majoria eren de grau 1 (71.1%).

En comparació als donants sans, es va observar un major percentatge de diferents subpoblacions de leucòcits units a plaquetes en els pacients amb CPCNP avançat ( $p < 0.001$ ). Els anàlisis subseqüents d'aquest treball es van focalitzar en els monòcits (CD14+) units a plaquetes (complexes CD14+PLT+) i limfòcits CD4+ units a plaquetes (complexes CD4+PLT+), donada la seva correlació amb els neutròfils i altres subpoblacions de limfòcits units a

plaquetes, considerant els complexos CD14+PLT+ i CD4+PLT+ representatius de les línies mieloide i limfoide, respectivament.

No es van observar diferències en els percentatges basals dels complexos CD14+PLT+ i CD4+PLT+ en funció de les característiques clíniques dels pacients, excepte un major percentatge de complexos CD14+PLT+ en aquells pacients tractats prèviament amb quimioteràpia o radioteràpia. El percentatge dels complexos CD4+PLT+ es van correlacionar amb el recompte de plaquetes en sang perifèrica en els pacients amb CPCNP avançat.

De forma global, no es van observar diferències pel que fa als percentatges dels complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+ entre els pacients amb o sense *irAEs*. La relació entre els percentatges dels complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+ i el tipus i la severitat dels *irAEs* es va representar en un *heat-map*, en el que els pacients amb percentatges alts de complexos CD4+PLT+ presentaven una major incidència d'*irAEs* de tipus dermatològic (44.8% vs. 10.3% de tipus no-dermatològic) i la majoria de grau 1 (82.8%); mentre que aquells amb percentatges baixos de CD4+PLT+ presentaven una major proporció d'*irAEs* de tipus no-dermatològic (39.7% vs. 8.6% de tipus dermatològic) i de grau  $\geq 2$  (41.4%), sent les diferències quant a tipus i gravetat dels *irAEs* estadísticament significatives ( $p < 0.001$  i  $< 0.05$ , respectivament). No es van observar diferències en la predicció dels *irAEs* en funció dels percentatges dels complexos CD14+PLT+.

A l'agrupar aquests 2 tipus de complexos (veure *Annex 3*), els pacients amb percentatges alts de complexos CD4+PLT+ i baixos de CD14+PLT+ (identificats a l'article com a grup 3) van presentar menys *irAEs* ( $n=13$ , 61.5%), tots ells de tipus dermatològic (rash i prurí) i de grau 1. En canvi, aquells amb percentatges baixos de CD4+PLT+ i alts de CD14+PLT+ (grup 2) presentaven una major incidència d'*irAEs* ( $n=20$ , 75%) i de tipus no-dermatològics (45%), predominant la colitis i l'hepatitis, amb la taxa més alta d'*irAEs* grau  $\geq 3$  (32.8%). Per tant, al combinar els 2 tipus de complexos sí que es van observar diferències quant a la incidència dels *irAEs*, així com pel que fa al tipus i la gravetat d'aquests, sent estadísticament significatives ( $p < 0.01$ ,  $< 0.01$  i  $< 0.05$ , respectivament).

Al comparar el recompte en microlitres ( $\mu\text{L}$ ) de monòcits CD14+, limfòcits T CD4+ i plaquetes, la *ratio* entre aquests, així com el percentatge i recompte de plaquetes activades (PLT CD62P+), tot i que el subgrup de pacients amb percentatges alts de complexos CD4+PLT+ i baixos de CD14+PLT+ (grup 3) presentava un recompte de plaquetes més alt i una *ratio* PLT/CD4+ major ( $p < 0.001$ ), també presentava el recompte de plaquetes activades més baix ( $p < 0.05$ ).

Finalment, també es va analitzar l'associació entre el perfil de citocines pro i antiinflamatòries i els 4 grups anteriors, determinant les concentracions plasmàtiques d'IFN $\gamma$ , IL-17 i IL-10. Tot i que no es van observar diferències significatives en els nivells d'IL-17 o IL-10 entre els 4 grups, els grups 1 (percentatges baixos de CD4+PLT+ i de CD14+PLT+) i 2 van presentar una tendència a uns nivells més elevats d'IFN $\gamma$  en comparació a la resta ( $p=0.08$ ).





## 6. RESUM GLOBAL DE LA DISCUSSIÓ



El CPCNP és el segon tipus de tumor sòlid més freqüent a nivell mundial i el que s'associa a una major mortalitat.<sup>1</sup> Els inhibidors dels *immune-checkpoint* han revolucionat la seva estratègia terapèutica, oferint unes medianes de supervivència global en primera línia d'entre 20-22 mesos (esquemes de combinació amb quimioteràpia) fins a 26 mesos (monoteràpia en pacients PD-L1  $\geq 50\%$ ) en comparació als 10-13 mesos assolits amb el doblet de platí. En segona línia, les medianes de supervivència reportades són d'entorn els 12-14 mesos comparades als 6-9 mesos amb la quimioteràpia estàndard.<sup>79,80,93,95-99,101,102,142,144,146,147,150-152,183</sup>

No obstant, els inhibidors dels *immune-checkpoint* no estan exemptes de toxicitats. A conseqüència del seu mecanisme d'acció, poden produir efectes adversos immuno-relacionats, també coneguts com *irAEs*, relativament freqüents, però que si es detecten a temps poden ser fàcilment controlables i reversibles.<sup>175</sup>

Malauradament, els *irAEs* sovint cursen amb símptomes inespecífics, dificultant i endarrerint el seu diagnòstic i permetent que avancin a formes més greus que poden forçar a suspendre de forma permanent el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. El percentatge d'*irAEs* grau  $\geq 3$  descrit en els diferents estudis és d'un 10-38%. Un 4-8% dels pacients tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en monoteràpia discontinua el tractament degut a la toxicitat immuno-relacionada, i fins a un 18% en els casos de combinació.

Al seu torn, diferents estudis han demostrat una associació entre el desenvolupament d'*irAEs* i uns millors resultats d'eficàcia del tractament amb els inhibidors dels *immune-checkpoint* en diferents tipus de tumors, convertint-se així en un factor predictiu de resposta a aquests.<sup>189-194,197,216,217</sup>

Per tant, amb l'ús cada cop més extens dels inhibidors dels *immune-checkpoint*, la detecció i el tractament precoç de la toxicitat immuno-relacionada, i especialment de les seves formes més greus, s'ha convertit en una peça clau en el maneig del CPCNP per poder garantir la continuïtat del tractament amb immunoteràpia que fins ara ha demostrat els millors resultats d'eficàcia en el CPCNP sense alteracions moleculars *driver*.

En el **primer treball**, probablement perquè es tracta d'una cohort *real-world* de pacients afectes de CPCNP avançat tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD-1/PD-L1, la incidència d'*irAEs* va ser més alta en comparació als percentatges fins ara reportats.<sup>175,184,189-194,197,216,217</sup>

En el nostre estudi, els pacients que rebien el tractament en primera línia van presentar una major taxa d'*irAEs*. Aquestes troballes van en línia amb aquelles reportades en els estudis KEYNOTE-010 i KEYNOTE-024, en els quals es va observar una major incidència d'efectes adversos en els pacients *naïve* de tractament.<sup>79,99</sup> Aquest fet es deu probablement a que són pacients menys immunodeprimits que els pacients que han rebut un tractament de quimioteràpia i, per tant, més susceptibles a presentar reaccions immuno-mediades.

Es van observar diferències estadísticament significatives en termes de SG, SLP, així com quant a taxa de resposta objectiva i durada de la resposta entre el grup de pacients amb *irAEs* i el grup no-*irAEs*, el que confirma l'associació entre la toxicitat immuno-mediada i l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*.

Recentment s'ha publicat un metanàlisi que inclou 34 estudis i un total de 8115 pacients afectes de CPCNP avançat, demostrant la correlació entre el desenvolupament d'*irAEs* i els resultats d'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*. D'entre ells, el nostre treball és un dels 6 que reporta dades tant de supervivència com de resposta, i també un dels 12 que prova aquesta relació aplicant l'anàlisi *landmark*.<sup>227</sup>

Un meta-anàlisi de 29 articles que analitza la relació entre la toxicitat immuno-mediada i l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, mostra diferències estadísticament significatives quant a la magnitud de l'efecte d'aquesta associació entre aquells treballs que aplicaven l'anàlisi *landmark* per corregir l'*immortal-time bias* i aquells que no (HR 0.61 vs. 0.41 per SG,  $p < 0.015$ ; 0.66 vs. 0.47 per SLP,  $p < 0.029$ ; OR 2.59 vs. 6.77 per taxa de resposta,  $p < 0.001$ ). Tot i que l'associació entre la presència d'*irAEs* i l'eficàcia del tractament s'observava també en aquells treballs que no utilitzaven l'anàlisi *landmark*, suggerint que aquesta relació és independent d'aquest biaix, els resultats eren heterogenis i la mida de l'efecte sobreestimada. Per contra, els estudis que aplicaven aquesta metodologia presentaven resultats més homogenis i, per tant, més fiables i de major utilitat clínica.<sup>186,187</sup>

Una de les limitacions de l'anàlisi *landmark* és l'arbitrarietat en l'elecció del punt de tall en el temps per sota del qual s'exclouen els casos extrems (progressors ràpids).<sup>186,187,195,196</sup> La majoria d'estudis utilitzen com a referència 6 setmanes.<sup>186</sup> En el nostre treball vam utilitzar com a punt de tall 2.4 mesos per SLP i 5.9 mesos per SG, estant aquests predefinits abans de l'anàlisi i determinats a partir de la mediana de SLG i SG dels grup de pacients sense *irAEs*.

Quant a taxa de resposta, el punt-de-tall fou de 8 setmanes. A més es van fer anàlisis complementaris als 6 i 12 mesos per SG i SLP i a les 10, 12 i 16 setmanes per taxa de resposta objectiva. En aquests darrers, es van observar diferències quant a SG tant als 6 i 12 mesos i quant a taxa de resposta a les 10 setmanes.<sup>193,217</sup>

L'efecte del *immortal-time bias* depèn del temps necessari per a observar els esdeveniments "classificadors" (en el nostre cas, els *irAEs*) en relació a l'interval de temps durant el qual els esdeveniments "resultat" (mort, progressió) poden ocórrer. És per això que aquells pacients "llargs-responders" podrien presentar, de forma similar però oposada als pacients que moren o progressen aviat, resultats esbiaixats. En el nostre treball, el subgrup de pacients que experimentaven *irAEs* també presentava una major mediana de durada del tractament (4.8 mesos [0.03-56.4; 9.8] vs. 1.8 mesos [0.03-46.2; 2.7],  $p < 0.001$ ), plantejant el dubte de si l'avantatge en supervivència i resposta atribuïda al desenvolupament d'aquests no és més que la conseqüència de l'augment de la toxicitat associada al període més llarg de tractament o un efecte directe dels *irAEs per se*. Diversos treballs retrospectius i prospectius han demostrat que aquesta relació és independent del *immortal-time bias*, degut a què la majoria de pacients presentava els *irAEs* durant les primeres 8 setmanes després de l'inici dels inhibidors dels *immune-checkpoint*, recolzant el valor predictiu d'aquest tipus de toxicitat per sobre de la durada del tractament.<sup>193,217</sup>

Amb tot, el nostre treball és un dels estudis més grans que analitza l'associació entre el desenvolupament d'*irAEs* i l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en pacients amb CPCNP avançat tot i aplicant aquest tipus de metodologia.

A l'anàlisi multivariat es van incloure diverses característiques clíniques, i la presència dels *irAEs* va ser la única variable associada tant a una major SG com a una major taxa de resposta objectiva. Per contra, no es va observar una correlació entre el grau de severitat dels *irAEs* i la SG ni la taxa de resposta, troballa que va en línia amb els resultats observats en el meta-anàlisi de Wang *et al.*, en el que els pacients amb *irAEs* grau  $\geq 3$  no van presentar pitjors resultats de supervivència.<sup>227</sup>

El rash, la pruija, les alteracions endocrines i l'artritis són els *irAEs* que es van associar de forma significativa tant a una major SG com a una taxa de resposta més alta, essent la pruija i l'artritis els que van mostrar una HR/OR més favorable. De forma similar, altres treballs també han

mostrat una major SG en aquells casos de toxicitat tiroïdal i cutània.<sup>228,229</sup> A més, en el mateix metà-anàlisi prèviament citat, la toxicitat immuno-mediada de tipus cutani, endocrina i gastrointestinal es va associar a una SG més llarga, essent les dues primeres les que van mostrar els HR més baixos.<sup>227</sup>

Els corticosteroides són la pedra angular del maneig de la toxicitat immuno-mediada, però també són un dels fàrmacs més utilitzats pel control simptomàtic en pacients amb CPCNP avançat. En el nostre treball, el seu ús a dosis equivalents de prednisona  $\geq 10$  mg diaris pel control de símptomes relacionats amb la malaltia oncològica previ a l'inici i/o durant el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* es va associar amb uns resultats de SG inferiors respecte a la resta de la població. Tot i que d'entrada els pacients que no rebien corticosteroides o els que rebien una dosis equivalent de prednisona  $< 10$  mg diaris presentaven uns millors resultats de SG, els pacients que van rebre una dosi equivalent de prednisona  $\geq 10$  mg diaris pel maneig dels *irAEs* no van mostrar pitjors resultats que aquells que rebien  $< 10$  mg per a qualsevol indicació o els que no rebien corticosteroides durant el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.

Un estudi de 640 pacients amb CPCNP avançat tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint* contra PD-1/PD-L1 en monoteràpia va demostrar, en un anàlisi multivariat que també tenia en compte el tabaquisme, l'ECOG PS i les metàstasis cerebrals, que l'ús de corticosteroides previ a l'inici del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* s'associava de forma independent a una menor SG, SLP i taxa de resposta objectiva.<sup>158</sup> El nostre anàlisi multivariat sobre característiques clíniques va incloure factors pronòstics similars, però també la línia de tractament com a variable que podria influenciar els resultats d'eficàcia; i de fet, en el nostre treball, l'ús de corticosteroides pel maneig de símptomes relacionats amb la malaltia oncològica i el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en segona línia o posterior van ser les variables independents associades a pitjors resultats pel que fa a SG i taxa de resposta objectiva, respectivament.

Per altra banda, en el nostre estudi el grup de pacients que rebien corticosteroides pel control de símptomes derivats de la malaltia oncològica també presentava, de forma significativa, un pitjor estat general, rebien el tractament en segona línia o posterior, i en monoteràpia.

En global, aquestes troballes suggereixen que l'ús de corticosteroides pel control de símptomes podria, senzillament, identificar un subgrup de pacients amb una malaltia

oncològica més agressiva (amb un major volum tumoral o afectació visceral, per exemple) o aquells amb comorbiditats basals que podrien empitjorar el pronòstic del pacient. Ricciuti *et al.* va fer la mateixa inferència, conclouent en el seu treball que incloïa 650 pacients afectes de CPCNP, que els pitjors resultats d'eficàcia associats a l'ús de corticosteroides en dosis equivalents de prednisona  $\geq 10$  mg diaris durant el tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* semblava derivat del pitjor pronòstic inherent a un grup de pacients que requerien corticosteroides per la pal·liació dels símptomes derivats de la malaltia oncològica.<sup>162</sup>

En el nostre treball també vam analitzar si existien diferències quant a l'eficàcia del tractament quan els corticosteroides utilitzats pel control de símptomes eren iniciats 30 dies abans dels començament dels inhibidors dels *immune-checkpoint* o durant el tractament amb aquests, no trobant-hi diferències significatives ( $p=0.898$ ). Aquestes dades són similars a les observades per De Giglio *et al.*, on els corticosteroides iniciats durant les primeres 8 setmanes del tractament (corticosteroides intercurrents) s'associaven a uns pitjors resultats de SLP i SG, de forma similar a com ho feien els corticosteroides que s'iniciaven abans dels inhibidors dels *immune-checkpoint* (corticosteroides basals), sempre que el motiu del seu ús fos el control de símptomes relacionats amb la malaltia oncològica.<sup>218</sup>

Similar als nostres resultats, altres estudis tampoc van observar diferències quant a supervivència entre els pacients que no havien rebut corticosteroides i els que n'havien rebut per raons diferents al control de símptomes, principalment pel maneig de la toxicitat immuno-relacionada, conclouent que en aquest context els corticosteroides no haurien de restringir-se.<sup>218,219,230</sup>

En el nostre estudi no vam observar cap relació entre l'ús concomitant d'antibiòtics i l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint*. Aquests resultats difereixen d'aquells reportats en altres treballs.<sup>159,160,231</sup> En un meta-anàlisi que incloïa 23 estudis que avaluaven l'impacte de l'ús d'aquests fàrmacs en pacients afectes de CPCNP tractats amb immunoteràpia, la mediana de SG es reduïa 6.7 mesos en els pacients exposats a antibiòtics. El seu efecte perjudicial semblava dependre del moment en el què els pacients rebien el tractament, essent major quan els pacients rebien antibiòtics entre els 60 dies abans i els 60 dies després de l'inici dels inhibidors dels *immune-checkpoint*. Tot i així, aquest treball també conclou que degut a l'heterogeneïtat dels diferents articles inclosos i múltiples factors de confusió, calen estudis



prospectius addicionals per reforçar la comprensió de l'efecte produït pels antibiòtics sobre l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.<sup>160</sup>

La interrupció del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* deguda a la presència dels *irAEs* és un tema que ens preocupa. En el nostre estudi un 20.2% dels pacients va haver de suspendre el tractament degut a la toxicitat immuno-mediada, però d'aquests, un 65.9% no va progressar, contrastant amb el 28.7% dels pacients que no va discontinuar els inhibidors dels *immune-checkpoint* per toxicitat i tampoc va progressar. Aquest fenomen ja s'havia descrit en l'anàlisi *post-hoc* de l'assaig clínic CHECKMATE-067 en pacients amb melanoma estadi IV, on tant la SG com la SLP eren similars independent de la discontinuació del tractament degut al desenvolupament d'*irAEs*.<sup>232</sup> En conjunt, aquests resultats suggereixen que la interrupció del tractament degut a la toxicitat immuno-mediada sembla no comprometre l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*.

Inevitablement però, el desenvolupament dels *irAEs* afecta el tractament i el pronòstic dels pacients amb CPCNP tractats amb inhibidors dels *immune-checkpoint*. Tal com s'ha revisat prèviament, existeixen diversos treballs que avaluen diferents factors predictius de la toxicitat immuno-mediada, entre els que destaquen biomarcadors circulants, especialment les interleuquines i altres marcadors associats a l'activació dels neutròfils.

Tot i així, l'espectre de la gravetat dels *irAEs* és força àmplia, especialment quan comparem el rash i la pruija, que són els *irAEs* més freqüents, amb aquells que afecten a vísceres com l'hepatitis o la pneumonitis. Lligat a això, i malgrat que no es coneix amb certesa, la fisiopatologia de la toxicitat immuno-mediada sembla diferir entre els *irAEs* dermatològics més habituals i els *irAEs* no-dermatològics més greus.<sup>177,181,182,233</sup>

La importància de detectar els *irAEs* de forma precoç, i especialment aquells *irAEs* greus, va motivar el **nostre segon treball**.

Aquest és el primer estudi que analitza el paper dels complexos de leucòcits-PLT circulants en càncer, i concretament en pacients amb CPCNP avançat. El motiu per haver centrat el nostre treball en les plaquetes radica en la estreta relació existent entre aquestes, el càncer i el sistema immunitari<sup>221,222</sup>. Per un costat, les cèl·lules tumorals activen les plaquetes a través de factors solubles així com per contacte directe.<sup>234</sup> Per altra banda, les plaquetes participen en

la carcinogènesi i el procés de metàstasi a través de la seva unió amb les cèl·lules tumorals, que afavoreix que altres cèl·lules cancerígenes adoptin el fenotip invasiu de la transició epitelial-mesènquima, i també facilitant la propagació d'aquestes al conferir protecció contra l'atac de les cèl·lules NK.<sup>235-237</sup>

En aquest treball vam observar que un recompte més alt de plaquetes en sang s'associava a uns percentatges majors de complexos de leucòcits-PLT circulants en pacients amb CPCNP avançat, el que podria explicar-se pel fet que en aquests pacients moltes plaquetes circulen en un estat d'activació expressant majors nivells de molècules essencials per a unir-se a leucòcits.<sup>238</sup> Una troballa interessant en la nostra cohort és que els pacients pretractats presentaven uns percentatges més alts d'aquests complexos (concretament de CD14+PLT+). En línia amb això, s'ha demostrat que el cisplatí indueix l'activació de les plaquetes i que la quimioteràpia podria incrementar el percentatge de leucòcits-PLT circulants.<sup>239</sup>

També vam observar un augment significatiu dels complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+ en pacients amb CPCNP avançat, tot i que no existia una associació entre el percentatge dels 2 tipus de complexos. Aquesta manca de correlació podria explicar-se pels diferents tipus de receptors associats a la línia limfoide o mioide per unir-se a les plaquetes; i al fet que aquesta unió pot ser diferent entre els pacients amb càncer i els donants sans. De la bibliografia publicada fins al moment es desprèn que la unió de les plaquetes a limfòcits T CD4+ activats inclou els següents parells de receptor-ligand: P-selectina-PSGL1, P-selectina-ALCAM, GPIIb/IIIa-Mac1 i CD40L-CD40;<sup>240,241</sup> mentre que la unió de plaquetes a monòcits implica P-selectina-PSGL1, P-selectina-CD15, GPIIbβ3-MAC1, GPIb-Mac1, JAM-C-Mac1, CD40L-CD40, TREM1L-TREM1 i CD36-trombospondin-CD36, a més de la via CD147.<sup>242,243</sup> Variacions en la glicosilació de PSGL-1 també podria explicar algunes diferències en el percentatge de complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+.<sup>244</sup> La raó és que, a diferència dels monòcits, que tenen la capacitat d'unir-se a la P-selectina, només els limfòcits que expressen l'alfa3 fucosil-transferasa i, per tant, que tenen PSGL-1 fucosilat, poden unir-se a la P-selectina.<sup>245</sup>

Tot i que els percentatges dels complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+ eren comparables entre els pacients amb i sense *irAEs*, es van trobar diferències en el tipus i grau dels *irAEs* segons els percentatges dels complexos circulants CD4+PLT+, suggerint que poden jugar un paper important en el desenvolupament de la toxicitat immuno-relacionada en pacients amb CPCNP.

Quan aquests percentatges eren baixos, els *irAEs* predominants foren els *irAEs* no-dermatològics i de grau  $\geq 2$ , i quan els percentatges eren alts presentaven una major incidència de *irAEs* dermatològics i de grau 1. Una possible explicació és el fet que la unió de les plaquetes regula la proliferació i la producció d'IFN $\gamma$  per part dels limfòcits T, de forma similar al que passa en els pacients amb malalties inflamatòries cròniques, com les malalties autoimmunitàries. En un estudi realitzat pel grup de recerca d'Immunologia del nostre centre, els pacients amb aquests tipus de malalties i amb un percentatge baix de complexes CD4+PLT+ presentaven els nivells més alts de les molècules pro-inflamatòries IFN $\gamma$  i IL-17 i els nivells més baixos de l'antiinflamatori IL-10 en plasma, suggerint una resposta mediada pels limfòcits T CD4+ *helper 1* (resposta *Th1*).<sup>222</sup> Tenint en compte que el desenvolupament d'*irAEs* s'associa amb l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* i que la resposta *Th1*-IFN $\gamma$  és crucial per aconseguir una resposta antitumoral efectiva,<sup>246</sup> el canvi a *Th1* originat per una menor unió de plaquetes als limfòcits T CD4+ conduiria a un major desenvolupament d'*irAEs*.

És important remarcar que en el nostre treball vam demostrar com els complexes CD4+PLT+, però no els CD14+PLT+, estaven associats de forma estadísticament significativa amb el tipus i grau dels *irAEs*. Diferències entre aquests 2 tipus de complexes podrien explicar aquestes troballes. La unió de les plaquetes als limfòcits o monòcits implica molècules amb diferents vies de senyalització intracel·lular i expressió gènica. No només són diferents els tipus de receptor-ligand, tal com s'ha mencionat prèviament, sinó que cada tipus de complex també té un efecte distintiu i, fins i tot, efectes immunològics oposats sobre limfòcits i monòcits. Un estudi, també publicat pel grup de recerca d'Immunologia, va mostrar que la unió de plaquetes a limfòcits disminueix la proliferació de limfòcits T i la producció de citocines pro-inflamatòries, alhora que augmenta la producció d'IL-10 en pacients amb malalties inflamatòries cròniques o autoimmunes.<sup>222-224</sup> Pel que fa als complexes CD14+PLT+, en aquest estudi es va observar un doble rol de les plaquetes en funció de l'estat dels monòcits. En donats sans, la unió de les plaquetes als monòcits activats a través del receptor *toll-like* (TLR, en anglès) disminuïa els nivells de TNF $\alpha$  i augmentava la producció d'IL-10;<sup>224</sup> però també s'ha reportat que la unió de plaquetes activades a monòcits en repòs induïx l'expressió de TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12 i MIP-1 $\beta$  *in vitro*.<sup>247,248</sup> Una possible explicació és que les plaquetes, a més dels efectes per contacte amb els leucòcits, també segreguen factors solubles que podrien tenir efectes diferents sobre els limfòcits T i els monòcits.<sup>222,223,249</sup> Per tant, la unió de plaquetes a limfòcits

però no a monòcits afavoriria un estat antiinflamatori. Els nostres resultats van en línia amb aquesta hipòtesi donat que els pacients amb percentatges baixos de CD4+PLT+ i alts de CD14+PLT+ eren el grup amb nivells elevats d'IFN $\gamma$  i IL-17, a més del subgrup amb la *ratio* PLT/CD4+ més baix. Més important, aquest subgrup presentava una major taxa d'*irAEs* no-dermatològics i un major percentatge d'*irAEs* grau  $\geq 3$ . Aquestes troballes suggereixen que aquests pacients podrien requerir un seguiment més estret. Altres estudis amb pacients amb melanoma també han reportat majors concentracions d'IL-17 i altres tipus de citocines prèvies a l'inici del tractament en pacients amb *irAEs* d'alt grau.<sup>213,250</sup> Per contra, els pacients amb percentatge alts de CD4+PLT+ i baixos de CD14+PLT+ constituïa el grup amb la incidència i grau dels *irAEs* més baixes, la majoria de tipus dermatològic, el que podria venir explicat per una major modulació de la resposta inflamatòria.

Tenint en compte totes aquestes consideracions, els complexos circulants de leucòcits-PLT, i concretament la combinació dels percentatges de CD4+PLT+ i CD14+PLT+, podrien servir com un biomarcador predictiu del tipus i de la gravetat dels *irAEs* en pacients amb CPCNP, d'acord amb el seu mecanisme fisiopatològic: hipersensibilitat vs. auto-inflamatori, tal com s'ha mencionat prèviament.

A més, donat que es tracta d'una eina no invasiva, ràpida i econòmica podria ser d'utilitat per a identificar, previ a l'inici del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* anti-PD-1/PD-L1, quins pacients podrien tenir un major risc de desenvolupar un tipus de toxicitat immuno-relacionada més agressiva i que, per tant, requeririen una vigilància més estreta.



## 7. CONCLUSIONS



Les conclusions d'aquesta tesi són les següents:

1. La presència d'*irAEs* es va associar a una major eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* (anti-PD-1/anti-PD-L1) en pacients amb CPCNP avançat, en termes de supervivència global, supervivència lliure de progressió i taxa de resposta objectiva i aplicant l'anàlisi *landmark*
2. En pacients amb CPCNP avançat tractats amb anti-PD-1/PD-L1, l'ús de corticosteroides a dosis equivalents de prednisona  $\geq 10$  mg/dia es va associar a una menor supervivència global quan s'utilitzaven pel maneig de símptomes derivats de la malaltia oncològica
3. En pacients amb CPCNP avançat tractats amb anti-PD-1/PD-L1, no es van observar diferències estadísticament significatives en supervivència global entre els pacients que no rebien corticosteroides, els que rebien dosis equivalents de prednisona  $< 10$  mg/dia i els que rebien  $\geq 10$  mg/dia pel maneig dels *irAEs*
4. Previ a l'inici del tractament amb anti-PD-1/PD-L1, els pacients amb CPCNP avançat presentaven un major percentatge de complexos leucòcits-PLT circulants
5. Els complexos leucòcits-PLT circulants i la combinació dels percentatges de CD4+PLT+ i CD14+PLT+ són potencials biomarcadors predictius del tipus i de la gravetat dels *irAEs* en pacients amb CPCNP avançat tractats amb anti-PD-1/PD-L1
6. La unió de plaquetes a leucòcits podria desenvolupar un rol important en els pacients amb CPCNP avançat tractats amb anti-PD-1/PD-L1, modulant la resposta inflamatòria i contribuint a la patogènia dels *irAEs*





## 8. LÍNIES DE FUTUR



Tenint en compte els resultats i les conclusions obtingudes en aquesta tesi doctoral, es plantegen les següents línies d'investigació:

### **1. Replicar l'estudi en els pacients afectes de càncer de pulmó de cèl·lula petita**

Després dels resultats obtinguts en CPCNP, el mateix grup de treball, format per membres tant del servei d'Oncologia mèdica com d'Immunologia de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, està estudiant si aquestes associacions entre els complexos leucòcits-PLT, els *irAEs* i l'eficàcia dels inhibidors dels *immune-checkpoint* són també aplicables en el CPCP, a través d'una cohort prospectiva de pacients afectes de CPCP tractats en primera línia amb la combinació d'immunoteràpia i quimioteràpia. Actualment es disposa d'una mostra de més de 50 pacients, dels quals s'estan recollint els resultats de les mostres de sang.

### **2. Recerca de factors predictius de resposta als inhibidors dels *immune-checkpoint***

Malgrat que l'expressió de PD-L1 és l'únic biomarcador aprovat en CPCNP per a la indicació i regulació del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint*, no tots els pacients amb expressió positiva o alta de PD-L1 se'n beneficiaran, mentre que alguns casos amb l'estatus de PD-L1 negatiu respondran al tractament amb immunoteràpia, el que emfatitza la necessitat de trobar altres biomarcadors predictius de resposta als inhibidors dels *immune-checkpoint*.

El mateix grup de treball està estudiant diferents paràmetres, tant clínics, com són els *irAEs*; com biològics, com l'expressió de PD-L1 en leucòcits i plaquetes i de PD-L1 soluble, a més de l'expressió de PD-L1 en teixit tumoral; per, de forma integrada, poder predir millor l'eficàcia del tractament amb inhibidors dels *immune-checkpoint* en el CPCNP.



## 9. BIBLIOGRAFIA



1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*. 2019;144(8):1941-1953. doi:10.1002/ijc.31937
2. Ettinger DS, Wood DE, Aisner DL, Akerley W, Bauman JR, Bharat A,. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines<sup>®</sup>) for Non-Small Cell Lung Cancer (Version 2.2021).
3. Alberg AJ, Brock MV, Ford JG, Samet JM, Spivack SD. Epidemiology of lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2013;143(5 Suppl):e1S-e29S. doi:10.1378/chest.12-2345
4. *The Health Consequences of Smoking: A Report of the Surgeon General*. Office of the Surgeon General (US); Office on Smoking and Health (US).; 2004.
5. Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors. *Br Med J*. 1976;2(6051):1525-1536. doi:10.1136/bmj.2.6051.1525
6. Secretan B, Straif K, Baan R, et al. A review of human carcinogens—Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *The Lancet Oncology*. 2009;10(11):1033-1034. doi:10.1016/S1470-2045(09)70326-2
7. Subramanian J, Govindan R. Lung Cancer in Never Smokers: A Review. *JCO*. 2007;25(5):561-570. doi:10.1200/JCO.2006.06.8015
8. Janerich DT, Thompson WD, Varela LR, et al. Lung Cancer and Exposure to Tobacco Smoke in the Household. *N Engl J Med*. 1990;323(10):632-636. doi:10.1056/NEJM199009063231003
9. Taylor R, Najafi F, Dobson A. Meta-analysis of studies of passive smoking and lung cancer: effects of study type and continent. *International Journal of Epidemiology*. 2007;36(5):1048-1059. doi:10.1093/ije/dym158
10. Jett J, Stone E, Warren G, Cummings KM. Cannabis Use, Lung Cancer, and Related Issues. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018;13(4):480-487. doi:10.1016/j.jtho.2017.12.013
11. Betser L, Glorion M, Mordant P, et al. Cannabis use and lung cancer: time to stop overlooking the problem? *Eur Respir J*. Published online January 28, 2021:2004132. doi:10.1183/13993003.04132-2020



12. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, metals, fibres, and dusts. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum.* 2012;100(Pt C):11-465.
13. Nielsen LS, Bælum J, Rasmussen J, et al. Occupational Asbestos Exposure and Lung Cancer—A Systematic Review of the Literature. *Archives of Environmental & Occupational Health.* 2014;69(4):191-206. doi:10.1080/19338244.2013.863752
14. Lorenzo-González M, Torres-Durán M, Barbosa-Lorenzo R, Provencio-Pulla M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Radon exposure: a major cause of lung cancer. *Expert Review of Respiratory Medicine.* 2019;13(9):839-850. doi:10.1080/17476348.2019.1645599
15. *WHO Handbook on Indoor Radon: A Public Health Perspective.*; 2009.
16. Brenner DR, Boffetta P, Duell EJ, et al. Previous Lung Diseases and Lung Cancer Risk: A Pooled Analysis From the International Lung Cancer Consortium. *American Journal of Epidemiology.* 2012;176(7):573-585. doi:10.1093/aje/kws151
17. Kaufman EL, Jacobson JS, Hershman DL, Desai M, Neugut AI. Effect of Breast Cancer Radiotherapy and Cigarette Smoking on Risk of Second Primary Lung Cancer. *JCO.* 2008;26(3):392-398. doi:10.1200/JCO.2007.13.3033
18. Miller AB, Altenburg H-P, Bueno-de-Mesquita B, et al. Fruits and vegetables and lung cancer: Findings from the European prospective investigation into cancer and nutrition: Fruits and Vegetables and Lung Cancer. *Int J Cancer.* 2004;108(2):269-276. doi:10.1002/ijc.11559
19. Matakidou A, Eisen T, Houlston RS. Systematic review of the relationship between family history and lung cancer risk. *Br J Cancer.* 2005;93(7):825-833. doi:10.1038/sj.bjc.6602769
20. Foulkes WD. Inherited Susceptibility to Common Cancers. *N Engl J Med.* 2008;359(20):2143-2153. doi:10.1056/NEJMra0802968
21. Samet JM. Health benefits of smoking cessation. *Clin Chest Med.* 1991;12(4):669-679.
22. Prochaska JJ, Benowitz NL. Current advances in research in treatment and recovery: Nicotine addiction. *Sci Adv.* 2019;5(10):eaay9763. doi:10.1126/sciadv.aay9763
23. Oken MM, Hocking WG, Kvale PA, et al. Screening by Chest Radiograph and Lung Cancer Mortality: The Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Randomized Trial. *JAMA.* 2011;306(17):1865. doi:10.1001/jama.2011.1591

24. The National Lung Screening Trial Research Team. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N Engl J Med.* 2011;365(5):395-409. doi:10.1056/NEJMoa1102873
25. Ost DE, Jim Yeung S-C, Tanoue LT, Gould MK. Clinical and Organizational Factors in the Initial Evaluation of Patients With Lung Cancer. *Chest.* 2013;143(5):e121S-e141S. doi:10.1378/chest.12-2352
26. Buccheri G. Lung cancer: clinical presentation and specialist referral time. *European Respiratory Journal.* 2004;24(6):898-904. doi:10.1183/09031936.04.00113603
27. Postmus PE, Kerr KM, Oudkerk M, et al. Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology.* 2017;28:iv1-iv21. doi:10.1093/annonc/mdx222
28. Álvarez FV, Trueba IM, Sanchis JB, et al. Recomendaciones SEPAR de diagnóstico y tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas. *Archivos de Bronconeumología.* 2016;52:2-62. doi:10.1016/S0300-2896(16)30198-3
29. Silvestri GA, Gonzalez AV, Jantz MA, et al. Methods for Staging Non-small Cell Lung Cancer. *Chest.* 2013;143(5):e211S-e250S. doi:10.1378/chest.12-2355
30. Torrego A, Majem M, Pallarés C. *Diagnóstico Del Cáncer de Pulmón. Ediciones ERGON, 2015. Protocolos y Procedimientos Del Servicio de Neumología Del Hospital de La Santa Creu i Sant Pau.* 2nd edition.
31. Pajares V, Torrego A, Martínnez-Téllez E, Trujillo-Reyes JC. Diagnosis and invasive staging: Non-surgical invasive mediastinal staging. Endobronchial ultrasound. *J Clin Transl Res.* 2020;6(4):121-126.
32. Yasufuku K, Pierre A, Darling G, et al. A prospective controlled trial of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration compared with mediastinoscopy for mediastinal lymph node staging of lung cancer. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2011;142(6):1393-1400.e1. doi:10.1016/j.jtcvs.2011.08.037
33. Herth FJF, Eberhardt R, Vilmann P, Krasnik M, Ernst A. Real-time endobronchial ultrasound guided transbronchial needle aspiration for sampling mediastinal lymph nodes. *Thorax.* 2006;61(9):795-798. doi:10.1136/thx.2005.047829

34. Lemaire A, Nikolic I, Petersen T, et al. Nine-Year Single Center Experience With Cervical Mediastinoscopy: Complications and False Negative Rate. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2006;82(4):1185-1190. doi:10.1016/j.athoracsur.2006.05.023
35. Majem M, Juan O, Insa A, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of non-small cell lung cancer (2018). *Clin Transl Oncol*. 2019;21(1):3-17. doi:10.1007/s12094-018-1978-1
36. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, 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. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(1):39-51. doi:10.1016/j.jtho.2015.09.009
37. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(2):244-285. doi:10.1097/JTO.0b013e318206a221
38. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(9):1243-1260. doi:10.1097/JTO.0000000000000630
39. Cagle P, Allen TC, Beasley MB, et al. *Precision Molecular Pathology of Lung Cancer*.; 2018.
40. Hasleton P, Flieder DB, eds. *Pathology of the Lung*. 6th edition.; 2014.
41. Adam J, Le Stang N, Rouquette I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2018;29(4):953-958. doi:10.1093/annonc/mdy014
42. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443-2454. doi:10.1056/NEJMoa1200690
43. Novello S, Barlesi F, Califano R, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2016;27:v1-v27. doi:10.1093/annonc/mdw326
44. Kalemkerian GP, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular Testing Guideline for the Selection of Patients With Lung Cancer for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/International

- Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Clinical Practice Guideline Update. *JCO*. 2018;36(9):911-919. doi:10.1200/JCO.2017.76.7293
45. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2018;142(3):321-346. doi:10.5858/arpa.2017-0388-CP
  46. Gandara D, Felip E, Gascón P, eds. *Lung Cancer: Updates & Future Trends. Cellular and Molecular Biology, Biomarkers.*; 2019.
  47. Read WL, Page NC, Tierney RM, Piccirillo JF, Govindan R. The epidemiology of bronchioloalveolar carcinoma over the past two decades: analysis of the SEER database. *Lung Cancer*. 2004;45(2):137-142. doi:10.1016/j.lungcan.2004.01.019
  48. Billingham LJ, Cullen MH. The benefits of chemotherapy in patient subgroups with unresectable non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2001;12(12):1671-1675. doi:10.1023/A:1013582618920
  49. Guo NL, Tosun K, Horn K. Impact and interactions between smoking and traditional prognostic factors in lung cancer progression. *Lung Cancer*. 2009;66(3):386-392. doi:10.1016/j.lungcan.2009.02.012
  50. Nakamura H, Ando K, Shinmyo T, et al. Female Gender Is an Independent Prognostic Factor in Non-small-cell Lung Cancer: A Meta-analysis. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2011;17(5):469-480. doi:10.5761/atcs.oa.10.01637
  51. Riudavets M, Auclin E, Mezquita L. Host circulating biomarkers for immune-checkpoint inhibitors: single-agent and combinations. *Future Oncol*. 2020;16(23):1665-1668. doi:10.2217/fon-2020-0182
  52. El-Sherif A, Gooding WE, Santos R, et al. Outcomes of Sublobar Resection Versus Lobectomy for Stage I Non-Small Cell Lung Cancer: A 13-Year Analysis. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2006;82(2):408-416. doi:10.1016/j.athoracsur.2006.02.029
  53. Blackmon SH, Cooke DT, Whyte R, et al. The Society of Thoracic Surgeons Expert Consensus Statement: A Tool Kit to Assist Thoracic Surgeons Seeking Privileging to Use New Technology and

- Perform Advanced Procedures in General Thoracic Surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2016;101(3):1230-1237. doi:10.1016/j.athoracsur.2016.01.061
54. Videtic GMM, Donington J, Giuliani M, et al. Stereotactic body radiation therapy for early-stage non-small cell lung cancer: Executive Summary of an ASTRO Evidence-Based Guideline. *Practical Radiation Oncology*. 2017;7(5):295-301. doi:10.1016/j.prro.2017.04.014
  55. Burdett S, Pignon JP, Tierney J, et al. Adjuvant chemotherapy for resected early-stage non-small cell lung cancer. Cochrane Lung Cancer Group, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Published online March 2, 2015. doi:10.1002/14651858.CD011430
  56. Strauss GM, Herndon JE, Maddaus MA, et al. Adjuvant Paclitaxel Plus Carboplatin Compared With Observation in Stage IB Non–Small-Cell Lung Cancer: CALGB 9633 With the Cancer and Leukemia Group B, Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group Study Groups. *JCO*. 2008;26(31):5043-5051. doi:10.1200/JCO.2008.16.4855
  57. Wu Y-L, Tsuboi M, He J, et al. Osimertinib in Resected *EGFR* -Mutated Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(18):1711-1723. doi:10.1056/NEJMoa2027071
  58. Adjuvant chemotherapy, with or without postoperative radiotherapy, in operable non-small-cell lung cancer: two meta-analyses of individual patient data. *The Lancet*. 2010;375(9722):1267-1277. doi:10.1016/S0140-6736(10)60059-1
  59. Pignon J-P, Tribodet H, Scagliotti GV, et al. Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation: A Pooled Analysis by the LACE Collaborative Group. *JCO*. 2008;26(21):3552-3559. doi:10.1200/JCO.2007.13.9030
  60. Le Pechoux, Pourel N, Barlesi F, Faivre-Finn C, Lerouge D, Zalcman G. LBA3\_PR - An international randomized trial, comparing post-operative conformal radiotherapy (PORT) to no PORT, in patients with completely resected non-small cell lung cancer (NSCLC) and mediastinal N2 involvement: Primary end-point analysis of LungART (IFCT-0503, UK NCRI, SAKK) NCT00410683. Presidential Symposium II presented at the: ESMO 2020; 2020.
  61. Burdett SS, Stewart LA, Rydzewska L. Chemotherapy and surgery versus surgery alone in non-small cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(3):CD006157. doi:10.1002/14651858.CD006157.pub2

62. Pless M, Stupp R, Ris H-B, et al. Induction chemoradiation in stage IIIA/N2 non-small-cell lung cancer: a phase 3 randomised trial. *The Lancet*. 2015;386(9998):1049-1056. doi:10.1016/S0140-6736(15)60294-X
63. Chen Y, Peng X, Zhou Y, Xia K, Zhuang W. Comparing the benefits of chemoradiotherapy and chemotherapy for resectable stage III A/N2 non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *World J Surg Onc*. 2018;16(1):8. doi:10.1186/s12957-018-1313-x
64. van Meerbeeck JP, Kramer GWPM, Van Schil PEY, et al. Randomized Controlled Trial of Resection Versus Radiotherapy After Induction Chemotherapy in Stage IIIA-N2 Non-Small-Cell Lung Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(6):442-450. doi:10.1093/jnci/djk093
65. Albain KS, Swann RS, Rusch VW, et al. Radiotherapy plus chemotherapy with or without surgical resection for stage III non-small-cell lung cancer: a phase III randomised controlled trial. *The Lancet*. 2009;374(9687):379-386. doi:10.1016/S0140-6736(09)60737-6
66. Rusch VW, Giroux DJ, Kraut MJ, et al. Induction Chemoradiation and Surgical Resection for Superior Sulcus Non-Small-Cell Lung Carcinomas: Long-Term Results of Southwest Oncology Group Trial 9416 (Intergroup Trial 0160). *JCO*. 2007;25(3):313-318. doi:10.1200/JCO.2006.08.2826
67. Provencio M, Nadal E, Insa A, et al. Neoadjuvant chemotherapy and nivolumab in resectable non-small-cell lung cancer (NADIM): an open-label, multicentre, single-arm, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2020;21(11):1413-1422. doi:10.1016/S1470-2045(20)30453-8
68. Aupérin A, Le Péchoux C, Rolland E, et al. Meta-Analysis of Concomitant Versus Sequential Radiochemotherapy in Locally Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2010;28(13):2181-2190. doi:10.1200/JCO.2009.26.2543
69. Bradley JD, Paulus R, Komaki R, et al. Standard-dose versus high-dose conformal radiotherapy with concurrent and consolidation carboplatin plus paclitaxel with or without cetuximab for patients with stage IIIA or IIIB non-small-cell lung cancer (RTOG 0617): a randomised, two-by-two factorial phase 3 study. *The Lancet Oncology*. 2015;16(2):187-199. doi:10.1016/S1470-2045(14)71207-0
70. Pritchard RS. Chemotherapy plus Radiotherapy Compared with Radiotherapy Alone in the Treatment of Locally Advanced, Unresectable, Non-Small-Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Ann Intern Med*. 1996;125(9):723. doi:10.7326/0003-4819-125-9-199611010-00003

71. Vokes EE, Herndon JE, Crawford J, et al. Randomized Phase II Study of Cisplatin With Gemcitabine or Paclitaxel or Vinorelbine as Induction Chemotherapy Followed by Concomitant Chemoradiotherapy for Stage IIIB Non–Small-Cell Lung Cancer: Cancer and Leukemia Group B Study 9431. *JCO*. 2002;20(20):4191-4198. doi:10.1200/JCO.2002.03.054
72. Santana-Davila R, Devisetty K, Szabo A, et al. Cisplatin and Etoposide Versus Carboplatin and Paclitaxel With Concurrent Radiotherapy for Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer: An Analysis of Veterans Health Administration Data. *JCO*. 2015;33(6):567-574. doi:10.1200/JCO.2014.56.2587
73. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(20):1919-1929. doi:10.1056/NEJMoa1709937
74. Antonia SJ, Özgüroğlu M. Durvalumab in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(9):869-870. doi:10.1056/NEJMc1716426
75. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med*. 2018;379(24):2342-2350. doi:10.1056/NEJMoa1809697
76. Faivre-Finn C, Vicente D, Kurata T, et al. Four-Year Survival With Durvalumab After Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC—an Update From the PACIFIC Trial. *Journal of Thoracic Oncology*. Published online January 2021:S1556086421000228. doi:10.1016/j.jtho.2020.12.015
77. Reck M, Lee KH, Frost N, Kowalski DM. OA02.03: Pembrolizumab plus platinum chemotherapy and radiotherapy in unresectable, locally advanced, stage III NSCLC: KEYNOTE-799. Presented at the: International Association for the Study of Lung Cancer 2020 World Conference on Lung Cancer (WCLC); 2020; Singapore.
78. Jabbour SK, Lee KH, Frost N, et al. Phase II study of pembrolizumab (pembro) plus platinum doublet chemotherapy and radiotherapy as first-line therapy for unresectable, locally advanced stage III NSCLC: KEYNOTE-799. *JCO*. 2020;38(15\_suppl):9008-9008. doi:10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.9008
79. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1–Positive Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1823-1833. doi:10.1056/NEJMoa1606774

80. Reck M, Rodríguez–Abreu D, Robinson AG, 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. *JCO*. 2019;37(7):537-546. doi:10.1200/JCO.18.00149
81. NSCLC Meta-Analyses Collaborative Group. Chemotherapy in Addition to Supportive Care Improves Survival in Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient Data From 16 Randomized Controlled Trials. *JCO*. 2008;26(28):4617-4625. doi:10.1200/JCO.2008.17.7162
82. Lilenbaum RC, Herndon JE, List MA, et al. Single-agent versus combination chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: the cancer and leukemia group B (study 9730). *J Clin Oncol*. 2005;23(1):190-196. doi:10.1200/JCO.2005.07.172
83. Sandler AB, Nemunaitis J, Denham C, et al. Phase III Trial of Gemcitabine Plus Cisplatin Versus Cisplatin Alone in Patients With Locally Advanced or Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2000;18(1):122-122. doi:10.1200/JCO.2000.18.1.122
84. Wozniak AJ, Crowley JJ, Balcerzak SP, et al. Randomized trial comparing cisplatin with cisplatin plus vinorelbine in the treatment of advanced non-small-cell lung cancer: a Southwest Oncology Group study. *JCO*. 1998;16(7):2459-2465. doi:10.1200/JCO.1998.16.7.2459
85. Gridelli C, Ardizzoni A, Le Chevalier T, et al. Treatment of advanced non-small-cell lung cancer patients with ECOG performance status 2: results of an European Experts Panel. *Annals of Oncology*. 2004;15(3):419-426. doi:10.1093/annonc/mdh087
86. Ardizzoni A, Boni L, Tiseo M, et al. Cisplatin- versus carboplatin-based chemotherapy in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(11):847-857. doi:10.1093/jnci/djk196
87. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of Four Chemotherapy Regimens for Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2002;346(2):92-98. doi:10.1056/NEJMoa011954
88. Park JO, Kim S-W, Ahn JS, et al. Phase III Trial of Two Versus Four Additional Cycles in Patients Who Are Nonprogressive After Two Cycles of Platinum-Based Chemotherapy in Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2007;25(33):5233-5239. doi:10.1200/JCO.2007.10.8134



89. Rossi A, Chiodini P, Sun J-M, et al. Six versus fewer planned cycles of first-line platinum-based chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014;15(11):1254-1262. doi:10.1016/S1470-2045(14)70402-4
90. Li M, Zhang Q, Fu P, et al. Pemetrexed plus platinum as the first-line treatment option for advanced non-small cell lung cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS One.* 2012;7(5):e37229. doi:10.1371/journal.pone.0037229
91. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III Study Comparing Cisplatin Plus Gemcitabine With Cisplatin Plus Pemetrexed in Chemotherapy-Naive Patients With Advanced-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO.* 2008;26(21):3543-3551. doi:10.1200/JCO.2007.15.0375
92. Paz-Ares LG, de Marinis F, Dediu M, et al. PARAMOUNT: Final overall survival results of the phase III study of maintenance pemetrexed versus placebo immediately after induction treatment with pemetrexed plus cisplatin for advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2013;31(23):2895-2902. doi:10.1200/JCO.2012.47.1102
93. Paz-Ares L, Luft A, Vicente D, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;379(21):2040-2051. doi:10.1056/NEJMoa1810865
94. Jotte RM, Cappuzzo F, Vynnychenko I. LBA900: IMpower131: Primary PFS and safety analysis of a randomized phase III study of atezolizumab + carboplatin + paclitaxel or nab-paclitaxel vs carboplatin + nab-paclitaxel as 1L therapy in advanced squamous NSCLC. Presented at the: ASCO Congress; 2018; Chicago.
95. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018;378(22):2078-2092. doi:10.1056/NEJMoa1801005
96. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med.* 2018;378(24):2288-2301. doi:10.1056/NEJMoa1716948
97. Papadimitrakopoulou VA, Cobo M, Bordoni R, Durbray-Longeras P. OA05.7: IMpower132:PFS and safety results with 1L atezollizumab + carboplatin +pemetrexed in stage IV non-squamous NSCLC. Presented at the: World Conference on Lung Cancer; 2018; Toronto.

98. Capuzzo F, McCleod M, Hussein M. 2887 - IMpower130: Progression-free survival (PFS) and safety analysis from a randomised phase 3 study of carboplatin + nab-paclitaxel (CnP) with or without atezolizumab (atezo) as first-line (1L) therapy in advanced non-squamous NSCLC. Presented at the: ESMO Congress; 2018; Munich.
99. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10027):1540-1550. doi:10.1016/S0140-6736(15)01281-7
100. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-135. doi:10.1056/NEJMoa1504627
101. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-1639. doi:10.1056/NEJMoa1507643
102. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *The Lancet*. 2017;389(10066):255-265. doi:10.1016/S0140-6736(16)32517-X
103. Reck M, Kaiser R, Mellemegaard A, et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomised controlled trial. *The Lancet Oncology*. 2014;15(2):143-155. doi:10.1016/S1470-2045(13)70586-2
104. Shepherd FA, Dancey J, Ramlau R, et al. Prospective Randomized Trial of Docetaxel Versus Best Supportive Care in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Platinum-Based Chemotherapy. *JCO*. 2000;18(10):2095-2103. doi:10.1200/JCO.2000.18.10.2095
105. Hanna N, Shepherd FA, Fossella FV, et al. Randomized Phase III Trial of Pemetrexed Versus Docetaxel in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy. *JCO*. 2004;22(9):1589-1597. doi:10.1200/JCO.2004.08.163
106. Molina-Garrido M-J, Guillén-Ponce C, Blanco R, et al. Delphi consensus of an expert committee in oncogeriatrics regarding comprehensive geriatric assessment in seniors with cancer in Spain. *Journal of Geriatric Oncology*. 2018;9(4):337-345. doi:10.1016/j.jgo.2017.11.012

107. Lee CK, Davies L, Wu Y-L, et al. Gefitinib or Erlotinib vs Chemotherapy for EGFR Mutation-Positive Lung Cancer: Individual Patient Data Meta-Analysis of Overall Survival. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2017;109(6). doi:10.1093/jnci/djw279
108. Yang JC-H, Wu Y-L, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *The Lancet Oncology*. 2015;16(2):141-151. doi:10.1016/S1470-2045(14)71173-8
109. Sequist LV, Yang JC-H, Yamamoto N, et al. Phase III Study of Afatinib or Cisplatin Plus Pemetrexed in Patients With Metastatic Lung Adenocarcinoma With *EGFR* Mutations. *JCO*. 2013;31(27):3327-3334. doi:10.1200/JCO.2012.44.2806
110. Soria J-C, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated *EGFR* -Mutated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;378(2):113-125. doi:10.1056/NEJMoa1713137
111. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall Survival with Osimertinib in Untreated, *EGFR* -Mutated Advanced NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;382(1):41-50. doi:10.1056/NEJMoa1913662
112. Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J, et al. Osimertinib or Platinum–Pemetrexed in *EGFR* T790M–Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;376(7):629-640. doi:10.1056/NEJMoa1612674
113. Solomon BJ, Mok T, Kim D-W, et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in *ALK* -Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(23):2167-2177. doi:10.1056/NEJMoa1408440
114. Soria J-C, Tan DSW, Chiari R, et al. First-line ceritinib versus platinum-based chemotherapy in advanced *ALK* -rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-4): a randomised, open-label, phase 3 study. *The Lancet*. 2017;389(10072):917-929. doi:10.1016/S0140-6736(17)30123-X
115. Peters S, Camidge DR, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated *ALK* -Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;377(9):829-838. doi:10.1056/NEJMoa1704795
116. Camidge DR, Kim HR, Ahn M-J, et al. Brigatinib versus Crizotinib in *ALK* -Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(21):2027-2039. doi:10.1056/NEJMoa1810171
117. Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, et al. First-Line Lorlatinib or Crizotinib in Advanced *ALK* -Positive Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2020;383(21):2018-2029. doi:10.1056/NEJMoa2027187

118. Shaw AT, Felip E, Bauer TM, et al. Lorlatinib in non-small-cell lung cancer with ALK or ROS1 rearrangement: an international, multicentre, open-label, single-arm first-in-man phase 1 trial. *The Lancet Oncology*. 2017;18(12):1590-1599. doi:10.1016/S1470-2045(17)30680-0
119. Novello S, Mazières J, Oh I-J, et al. Alectinib versus chemotherapy in crizotinib-pretreated anaplastic lymphoma kinase (ALK)-positive non-small-cell lung cancer: results from the phase III ALUR study. *Annals of Oncology*. 2018;29(6):1409-1416. doi:10.1093/annonc/mdy121
120. Kim D-W, Tiseo M, Ahn M-J, et al. Brigatinib in Patients With Crizotinib-Refractory Anaplastic Lymphoma Kinase-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer: A Randomized, Multicenter Phase II Trial. *JCO*. 2017;35(22):2490-2498. doi:10.1200/JCO.2016.71.5904
121. Shaw AT, Ou S-HI, Bang Y-J, et al. Crizotinib in ROS1 -Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963-1971. doi:10.1056/NEJMoa1406766
122. Shaw AT, Riely GJ, Bang Y-J, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Annals of Oncology*. 2019;30(7):1121-1126. doi:10.1093/annonc/mdz131
123. Drilon A, Siena S, Dziadziuszko R, et al. Entrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020;21(2):261-270. doi:10.1016/S1470-2045(19)30690-4
124. Planchard D, Besse B, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAFV600E-mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2016;17(7):984-993. doi:10.1016/S1470-2045(16)30146-2
125. Planchard D, Smit EF, Groen HJM, et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously untreated BRAFV600E-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: an open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2017;18(10):1307-1316. doi:10.1016/S1470-2045(17)30679-4
126. Juan O, Popat S. Ablative Therapy for Oligometastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Lung Cancer*. 2017;18(6):595-606. doi:10.1016/j.clcc.2017.03.002
127. Gomez DR, Tang C, Zhang J, 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. *JCO*. 2019;37(18):1558-1565. doi:10.1200/JCO.19.00201

128. Weickhardt AJ, Scheier B, Burke JM, et al. Local Ablative Therapy of Oligoprogressive Disease Prolongs Disease Control by Tyrosine Kinase Inhibitors in Oncogene-Addicted Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2012;7(12):1807-1814. doi:10.1097/JTO.0b013e3182745948
129. Nicholson LB. The immune system. *Essays Biochem*. 2016;60(3):275-301. doi:10.1042/EBC20160017
130. Varadé J, Magadán S, González-Fernández Á. Human immunology and immunotherapy: main achievements and challenges. *Cell Mol Immunol*. Published online September 2, 2020. doi:10.1038/s41423-020-00530-6
131. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013;39(1):1-10. doi:10.1016/j.immuni.2013.07.012
132. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-264. doi:10.1038/nrc3239
133. Naidoo J, Page DB, Wolchok JD. Immune Checkpoint Blockade. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2014;28(3):585-600. doi:10.1016/j.hoc.2014.02.002
134. Walker LSK, Sansom DM. Confusing signals: Recent progress in CTLA-4 biology. *Trends in Immunology*. 2015;36(2):63-70. doi:10.1016/j.it.2014.12.001
135. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(8):711-723. doi:10.1056/NEJMoa1003466
136. Brahmer JR, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG. LBA51 - KEYNOTE-024 5-year OS update: First-line (1L) pembrolizumab (pembro) vs platinum-based chemotherapy (chemo) in patients (pts) with metastatic NSCLC and PD-L1 tumour proportion score (TPS)  $\geq 50\%$ . Presented at the: ESMO Virtual Congress; 2020.
137. Mok TSK, Wu Y-L, Kudaba I, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *The Lancet*. 2019;393(10183):1819-1830. doi:10.1016/S0140-6736(18)32409-7
138. Spiegel D, de Marinis F, Giaccone G, Reinmuth N. 6256 - IMpower110: Interim overall survival (OS) analysis of a phase III study of atezolizumab (atezo) vs platinum-based chemotherapy

- (chemo) as first-line (1L) treatment (tx) in PD-L1–selected NSCLC. Presented at the: ESMO Congress; 2019; Barcelona.
139. Sezer A, Kilickap S, Gümüs M. LBA52 - EMPOWER-Lung 1: Phase III first-line (1L) cemiplimab monotherapy vs platinum-doublet chemotherapy (chemo) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) with programmed cell death-ligand 1 (PD-L1)  $\geq 50\%$ . Presented at the: ESMO Virtual Congress; 2020.
  140. Rizvi NA, Cho BC, Reinmuth N, et al. Durvalumab With or Without Tremelimumab vs Standard Chemotherapy in First-line Treatment of Metastatic Non–Small Cell Lung Cancer: The MYSTIC Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2020;6(5):661. doi:10.1001/jamaoncol.2020.0237
  141. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017;376(25):2415-2426. doi:10.1056/NEJMoa1613493
  142. Jotte R, Cappuzzo F, Vynnychenko I, et al. Atezolizumab in Combination With Carboplatin and Nab-Paclitaxel in Advanced Squamous NSCLC (IMpower131): Results From a Randomized Phase III Trial. *Journal of Thoracic Oncology.* 2020;15(8):1351-1360. doi:10.1016/j.jtho.2020.03.028
  143. Cappuzzo F, Jotte R, Vynnychenko I. OA14.02: Final OS results of carboplatin + nab-paclitaxel +/- atezolizumab in advanced squamous NSCLC. Presented at the: World Conference in Lung Cancer; 2019; Barcelona.
  144. Gadgeel S, Rodríguez-Abreu D, Speranza G, et al. Updated Analysis From KEYNOTE-189: Pembrolizumab or Placebo Plus Pemetrexed and Platinum for Previously Untreated Metastatic Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO.* 2020;38(14):1505-1517. doi:10.1200/JCO.19.03136
  145. Nishio M, Barlesi F, Ball S. 3750 - Final efficacy results from IMpower132: First-line atezolizumab + chemotherapy in patients with stage IV non-squamous NSCLC. Presented at the: ESMO Virtual Congress; 2020.
  146. Nishio M, Barlesi F, West H, et al. Atezolizumab Plus Chemotherapy for First-Line Treatment of Nonsquamous NSCLC: Results From the Randomized Phase 3 IMpower132 Trial. *Journal of Thoracic Oncology.* 2021;16(4):653-664. doi:10.1016/j.jtho.2020.11.025

147. West H, McCleod M, Hussein M, et al. Atezolizumab in combination with carboplatin plus nab-paclitaxel chemotherapy compared with chemotherapy alone as first-line treatment for metastatic non-squamous non-small-cell lung cancer (IMpower130): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2019;20(7):924-937. doi:10.1016/S1470-2045(19)30167-6
148. Hellmann MD, Paz-Ares L, Bernabe Caro R, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2019;381(21):2020-2031. doi:10.1056/NEJMoa1910231
149. Paz-Ares L, Ciuleanu T-E, Cobo M, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab combined with two cycles of chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer (CheckMate 9LA): an international, randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2021;22(2):198-211. doi:10.1016/S1470-2045(20)30641-0
150. Herbst RS, Garon EB, Kim D. 479 - Long-term follow-up in the KEYNOTE-010 study of pembrolizumab (pembro) for advanced NSCLC, including in patients (pts) who completed 2 years of pembro and pts who received a second course of pembro. Presented at the: ESMO Congress; 2018; Munich.
151. Borghaei H, Gettinger S, Vokes EE, et al. Five-Year Outcomes From the Randomized, Phase III Trials CheckMate 017 and 057: Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2021;39(7):723-733. doi:10.1200/JCO.20.01605
152. Fehrenbacher L, von Pawel J, Park K, et al. Updated Efficacy Analysis Including Secondary Population Results for OAK: A Randomized Phase III Study of Atezolizumab versus Docetaxel in Patients with Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018;13(8):1156-1170. doi:10.1016/j.jtho.2018.04.039
153. Middleton G, Brock K, Savage J, et al. Pembrolizumab in patients with non-small-cell lung cancer of performance status 2 (PePS2): a single arm, phase 2 trial. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(9):895-904. doi:10.1016/S2213-2600(20)30033-3
154. Facchinetti F, Mazzaschi G, Barbieri F, et al. First-line pembrolizumab in advanced non-small cell lung cancer patients with poor performance status. *European Journal of Cancer*. 2020;130:155-167. doi:10.1016/j.ejca.2020.02.023

155. Hendriks LEL, Henon C, Auclin E, et al. Outcome of Patients with Non–Small Cell Lung Cancer and Brain Metastases Treated with Checkpoint Inhibitors. *Journal of Thoracic Oncology*. 2019;14(7):1244-1254. doi:10.1016/j.jtho.2019.02.009
156. Goldberg SB, Schalper KA, Gettinger SN, et al. Pembrolizumab for management of patients with NSCLC and brain metastases: long-term results and biomarker analysis from a non-randomised, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*. 2020;21(5):655-663. doi:10.1016/S1470-2045(20)30111-X
157. Mazieres J, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Annals of Oncology*. 2019;30(8):1321-1328. doi:10.1093/annonc/mdz167
158. Arbour KC, Mezquita L, Long N, et al. Impact of Baseline Steroids on Efficacy of Programmed Cell Death-1 and Programmed Death-Ligand 1 Blockade in Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2018;36(28):2872-2878. doi:10.1200/JCO.2018.79.0006
159. Derosa L, Hellmann MD, Spaziano M, et al. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2018;29(6):1437-1444. doi:10.1093/annonc/mdy103
160. Lurienne L, Cervesi J, Duhalde L, et al. NSCLC Immunotherapy Efficacy and Antibiotic Use: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Thoracic Oncology*. 2020;15(7):1147-1159. doi:10.1016/j.jtho.2020.03.002
161. Garant A, Guilbault C, Ekmekjian T, Greenwald Z, Murgoi P, Vuong T. Concomitant use of corticosteroids and immune checkpoint inhibitors in patients with hematologic or solid neoplasms: A systematic review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2017;120:86-92. doi:10.1016/j.critrevonc.2017.10.009
162. Ricciuti B, Dahlberg SE, Adeni A, Sholl LM, Nishino M, Awad MM. Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes for Patients With Non–Small-Cell Lung Cancer Receiving Baseline Corticosteroids for Palliative Versus Nonpalliative Indications. *JCO*. 2019;37(22):1927-1934. doi:10.1200/JCO.19.00189
163. Antonuzzo A, Calabrò F, Quaglino P, et al. Immunotherapy in Underrepresented Populations of Patients with Cancer: Do We Have Enough Evidence at Present? A Focus on Patients with Major



- Viral Infections and Autoimmune Disorders. *The Oncol.* 2020;25(6). doi:10.1634/theoncologist.2020-0035
164. Haddad FG, Kattan C, Kattan J. Should immune checkpoint inhibitors be contraindicated in lung cancer patients with latent tuberculosis? *Immunotherapy.* 2020;12(11):759-762. doi:10.2217/imt-2020-0069
  165. Johnson DB, Sullivan RJ, Ott PA, et al. Ipilimumab Therapy in Patients With Advanced Melanoma and Preexisting Autoimmune Disorders. *JAMA Oncol.* 2016;2(2):234. doi:10.1001/jamaoncol.2015.4368
  166. Abdel-Wahab N, Safa H, Abudayyeh A, et al. Checkpoint inhibitor therapy for cancer in solid organ transplantation recipients: an institutional experience and a systematic review of the literature. *J immunotherapy cancer.* 2019;7(1):106. doi:10.1186/s40425-019-0585-1
  167. Rai R, Ezeoke OM, McQuade JL. 2822 - Immunotherapy in patients with concurrent solid organ transplant, HIV, and Hepatitis B and C. Presented at the: ESMO Congress; 2017; Madrid.
  168. Zehou O, Leibler C, Arnault J-P, et al. Ipilimumab for the treatment of advanced melanoma in six kidney transplant patients. *Am J Transplant.* 2018;18(12):3065-3071. doi:10.1111/ajt.15071
  169. Kerr KM. The PD-L1 Immunohistochemistry Biomarker: Two Steps Forward, One Step Back? *Journal of Thoracic Oncology.* 2018;13(3):291-294. doi:10.1016/j.jtho.2018.01.020
  170. Prelaj A, Tay R, Ferrara R, Chaput N, Besse B, Califano R. Predictive biomarkers of response for immune checkpoint inhibitors in non-small-cell lung cancer. *European Journal of Cancer.* 2019;106:144-159. doi:10.1016/j.ejca.2018.11.002
  171. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science.* 2017;357(6349):409-413. doi:10.1126/science.aan6733
  172. Rizvi N, Cho BC, Reinmuth N. OA04.07 Mutations Associated with Sensitivity or Resistance to Immunotherapy in mNSCLC: Analysis from the MYSTIC Trial. Presented at the: World Conference in Lung Cancer; 2019; Barcelona.
  173. Mezquita L, Auclin E, Ferrara R, et al. Association of the Lung Immune Prognostic Index With Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2018;4(3):351-357. doi:10.1001/jamaoncol.2017.4771

174. Chaput N, Lepage P, Coutzac C, et al. Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Annals of Oncology*. 2017;28(6):1368-1379. doi:10.1093/annonc/mdx108
175. Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. Longo DL, ed. *N Engl J Med*. 2018;378(2):158-168. doi:10.1056/NEJMra1703481
176. Weber JS, Postow M, Lao CD, Schadendorf D. Management of Adverse Events Following Treatment With Anti-Programmed Death-1 Agents. *The Oncologist*. 2016;21(10):1230-1240. doi:10.1634/theoncologist.2016-0055
177. Naidoo J, Page DB, Li BT, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Annals of Oncology*. 2015;26(12):2375-2391. doi:10.1093/annonc/mdv383
178. Haanen JBAG, Carbonnel F, Robert C, et al. Management of toxicities from immunotherapy: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2017;28:iv119-iv142. doi:10.1093/annonc/mdx225
179. National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events. 2009. Presented at the: [https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE\\_4.03/Archive/CTCAE\\_4.0\\_2009-05-29\\_QuickReference\\_8.5x11.pdf](https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/Archive/CTCAE_4.0_2009-05-29_QuickReference_8.5x11.pdf)
180. Thompson JA, Schneider BJ, Brahmer J, et al. Management of Immunotherapy-Related Toxicities, Version 1.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 2019;17(3):255-289. doi:10.6004/jnccn.2019.0013
181. Abu-Sbeih H, Ali FS, Luo W, Qiao W, Raju GS, Wang Y. Importance of endoscopic and histological evaluation in the management of immune checkpoint inhibitor-induced colitis. *J immunotherapy cancer*. 2018;6(1):95. doi:10.1186/s40425-018-0411-1
182. Corsello SM, Barnabei A, Marchetti P, De Vecchis L, Salvatori R, Torino F. Endocrine Side Effects Induced by Immune Checkpoint Inhibitors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2013;98(4):1361-1375. doi:10.1210/jc.2012-4075
183. Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, et al. Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical

- Oncology Clinical Practice Guideline. *JCO*. 2018;36(17):1714-1768. doi:10.1200/JCO.2017.77.6385
184. Champiat S, Lambotte O, Barreau E, et al. Management of immune checkpoint blockade dysimmune toxicities: a collaborative position paper. *Annals of Oncology*. 2016;27(4):559-574. doi:10.1093/annonc/mdv623
185. Abola MV, Prasad V, Jena AB. Association between treatment toxicity and outcomes in oncology clinical trials. *Annals of Oncology*. 2014;25(11):2284-2289. doi:10.1093/annonc/mdu444
186. Dall'Olio FG, Rizzo A, Mollica V, Massucci M, Maggio I, Massari F. Immortal time bias in the association between toxicity and response for immune checkpoint inhibitors: a meta-analysis. *Immunotherapy*. 2021;13(3):257-270. doi:10.2217/imt-2020-0179
187. Giobbie-Hurder A, Gelber RD, Regan MM. Challenges of guarantee-time bias. *J Clin Oncol*. 2013;31(23):2963-2969. doi:10.1200/JCO.2013.49.5283
188. Teulings H-E, Limpens J, Jansen SN, et al. Vitiligo-Like Depigmentation in Patients With Stage III-IV Melanoma Receiving Immunotherapy and Its Association With Survival: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JCO*. 2015;33(7):773-781. doi:10.1200/JCO.2014.57.4756
189. Sato K, Akamatsu H, Murakami E, et al. Correlation between immune-related adverse events and efficacy in non-small cell lung cancer treated with nivolumab. *Lung Cancer*. 2018;115:71-74. doi:10.1016/j.lungcan.2017.11.019
190. Teraoka S, Fujimoto D, Morimoto T, et al. Early Immune-Related Adverse Events and Association with Outcome in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab: A Prospective Cohort Study. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(12):1798-1805. doi:10.1016/j.jtho.2017.08.022
191. Toi Y, Sugawara S, Kawashima Y, et al. Association of Immune-Related Adverse Events with Clinical Benefit in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Treated with Nivolumab. *The Oncol*. 2018;23(11):1358-1365. doi:10.1634/theoncologist.2017-0384
192. Shafqat H, Gourdin T, Sion A. Immune-related adverse events are linked with improved progression-free survival in patients receiving anti-PD-1/PD-L1 therapy. *Seminars in Oncology*. 2018;45(3):156-163. doi:10.1053/j.seminoncol.2018.07.003

193. Lisberg A, Tucker DA, Goldman JW, et al. Treatment-Related Adverse Events Predict Improved Clinical Outcome in NSCLC Patients on KEYNOTE-001 at a Single Center. *Cancer Immunol Res.* 2018;6(3):288-294. doi:10.1158/2326-6066.CIR-17-0063
194. Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, et al. Association of Immune-Related Adverse Events With Nivolumab Efficacy in Non–Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2018;4(3):374. doi:10.1001/jamaoncol.2017.2925
195. Anderson JR, Cain KC, Gelber RD. Analysis of Survival by Tumor Response and Other Comparisons of Time-to-Event by Outcome Variables. *JCO.* 2008;26(24):3913-3915. doi:10.1200/JCO.2008.16.1000
196. Dafni U. Landmark Analysis at the 25-Year Landmark Point. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2011;4(3):363-371. doi:10.1161/CIRCOUTCOMES.110.957951
197. Ricciuti B, Genova C, De Giglio A, et al. Impact of immune-related adverse events on survival in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with nivolumab: long-term outcomes from a multi-institutional analysis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2019;145(2):479-485. doi:10.1007/s00432-018-2805-3
198. Judd J, Zibelman M, Handorf E, et al. Immune-Related Adverse Events as a Biomarker in Non-Melanoma Patients Treated with Programmed Cell Death 1 Inhibitors. *The Oncol.* 2017;22(10):1232-1237. doi:10.1634/theoncologist.2017-0133
199. Fujisawa Y, Yoshino K, Otsuka A, et al. Retrospective study of advanced melanoma patients treated with ipilimumab after nivolumab: Analysis of 60 Japanese patients. *Journal of Dermatological Science.* 2018;89(1):60-66. doi:10.1016/j.jdermsci.2017.10.009
200. Kim HI, Kim M, Lee S-H, et al. Development of thyroid dysfunction is associated with clinical response to PD-1 blockade treatment in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Oncolimmunology.* 2018;7(1):e1375642. doi:10.1080/2162402X.2017.1375642
201. Freeman-Keller M, Kim Y, Cronin H, Richards A, Gibney G, Weber JS. Nivolumab in Resected and Unresectable Metastatic Melanoma: Characteristics of Immune-Related Adverse Events and Association with Outcomes. *Clin Cancer Res.* 2016;22(4):886-894. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-1136

202. Rzepecki AK, Cheng H, McLellan BN. Cutaneous toxicity as a predictive biomarker for clinical outcome in patients receiving anticancer therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2018;79(3):545-555. doi:10.1016/j.jaad.2018.04.046
203. Daly LE, Power DG, O'Reilly Á, et al. The impact of body composition parameters on ipilimumab toxicity and survival in patients with metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2017;116(3):310-317. doi:10.1038/bjc.2016.431
204. Valpione S, Pasquali S, Campana LG, et al. Sex and interleukin-6 are prognostic factors for autoimmune toxicity following treatment with anti-CTLA4 blockade. *J Transl Med*. 2018;16(1):94. doi:10.1186/s12967-018-1467-x
205. Nakamura Y. Biomarkers for Immune Checkpoint Inhibitor-Mediated Tumor Response and Adverse Events. *Front Med*. 2019;6:119. doi:10.3389/fmed.2019.00119
206. Dubin K, Callahan MK, Ren B, et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis. *Nat Commun*. 2016;7(1):10391. doi:10.1038/ncomms10391
207. Stucci S, Palmirotta R, Passarelli A, et al. Immune-related adverse events during anticancer immunotherapy: Pathogenesis and management (Review). *Oncol Lett*. Published online September 8, 2017. doi:10.3892/ol.2017.6919
208. Diehl A, Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee E, Grossman SA. Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors. *Oncotarget*. 2017;8(69):114268-114280. doi:10.18632/oncotarget.23217
209. Fujisawa Y, Yoshino K, Otsuka A, et al. Fluctuations in routine blood count might signal severe immune-related adverse events in melanoma patients treated with nivolumab. *Journal of Dermatological Science*. 2017;88(2):225-231. doi:10.1016/j.jdermsci.2017.07.007
210. Fujimura T, Sato Y, Tanita K, et al. Serum levels of soluble CD163 and CXCL5 may be predictive markers for immune-related adverse events in patients with advanced melanoma treated with nivolumab: a pilot study. *Oncotarget*. 2018;9(21):15542-15551. doi:10.18632/oncotarget.24509

211. Shahabi V, Berman D, Chasalow SD, et al. Gene expression profiling of whole blood in ipilimumab-treated patients for identification of potential biomarkers of immune-related gastrointestinal adverse events. *J Transl Med.* 2013;11(1):75. doi:10.1186/1479-5876-11-75
212. Jing Y, Liu J, Ye Y, et al. Multi-omics prediction of immune-related adverse events during checkpoint immunotherapy. *Nat Commun.* 2020;11(1):4946. doi:10.1038/s41467-020-18742-9
213. Callahan MK, Yang A, Tandon S. Evaluation of serum IL-17 levels during ipilimumab therapy: Correlation with colitis. Presented at the: ASCO Congress; 2011; Chicago.
214. Tarhini AA, Zahoor H, Lin Y, et al. Baseline circulating IL-17 predicts toxicity while TGF- $\beta$ 1 and IL-10 are prognostic of relapse in ipilimumab neoadjuvant therapy of melanoma. *J immunotherapy cancer.* 2015;3(1):39. doi:10.1186/s40425-015-0081-1
215. Kurimoto C, Inaba H, Ariyasu H, et al. Predictive and sensitive biomarkers for thyroid dysfunctions during treatment with immune-checkpoint inhibitors. *Cancer Sci.* 2020;111(5):1468-1477. doi:10.1111/cas.14363
216. Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, et al. Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *JCO.* 2017;35(7):785-792. doi:10.1200/JCO.2015.66.1389
217. Toi Y, Sugawara S, Sugisaka J, et al. Profiling Preexisting Antibodies in Patients Treated With Anti-PD-1 Therapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5(3):376. doi:10.1001/jamaoncol.2018.5860
218. De Giglio A, Mezquita L, Auclin E, et al. Impact of Intercurrent Introduction of Steroids on Clinical Outcomes in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients under Immune-Checkpoint Inhibitors (ICI). *Cancers.* 2020;12(10):2827. doi:10.3390/cancers12102827
219. Petrelli F, Signorelli D, Ghidini M, et al. Association of Steroids use with Survival in Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancers (Basel).* 2020;12(3). doi:10.3390/cancers12030546
220. Dinkla S, van Cranenbroek B, van der Heijden WA, et al. Platelet microparticles inhibit IL-17 production by regulatory T cells through P-selectin. *Blood.* 2016;127(16):1976-1986. doi:10.1182/blood-2015-04-640300

221. McNicol A, Israels S. Beyond Hemostasis: The Role of Platelets in Inflammation, Malignancy and Infection. *CHDDT*. 2008;8(2):99-117. doi:10.2174/187152908784533739
222. Zamora C, Cantó E, Nieto JC, et al. Functional consequences of platelet binding to T lymphocytes in inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*. 2013;94(3):521-529. doi:10.1189/jlb.0213074
223. Zamora C, Cantó E, Nieto JC, et al. Binding of Platelets to Lymphocytes: A Potential Anti-Inflammatory Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Jl*. 2017;198(8):3099-3108. doi:10.4049/jimmunol.1601708
224. Zamora C, Canto E, Nieto JC, et al. Inverse Association Between Circulating Monocyte-Platelet Complexes and Inflammation in Ulcerative Colitis Patients. *Inflammatory Bowel Diseases*. 2018;24(4):818-828. doi:10.1093/ibd/izx106
225. Elalamy I, Chakroun T, Gerotziafas GT, et al. Circulating platelet–leukocyte aggregates: A marker of microvascular injury in diabetic patients. *Thrombosis Research*. 2008;121(6):843-848. doi:10.1016/j.thromres.2007.07.016
226. Marques P, Collado A, Martínez-Hervás S, et al. Systemic Inflammation in Metabolic Syndrome: Increased Platelet and Leukocyte Activation, and Key Role of CX3CL1/CX3CR1 and CCL2/CCR2 Axes in Arterial Platelet-Proinflammatory Monocyte Adhesion. *JCM*. 2019;8(5):708. doi:10.3390/jcm8050708
227. Wang D, Chen C, Gu Y, et al. Immune-Related Adverse Events Predict the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Lung Cancer Patients: A Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021;11:631949. doi:10.3389/fonc.2021.631949
228. Osorio JC, Ni A, Chaft JE, et al. Antibody-mediated thyroid dysfunction during T-cell checkpoint blockade in patients with non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*. 2017;28(3):583-589. doi:10.1093/annonc/mdw640
229. Hasan Ali O, Diem S, Markert E, et al. Characterization of nivolumab-associated skin reactions in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Oncolimmunology*. 2016;5(11):e1231292. doi:10.1080/2162402X.2016.1231292
230. Scott SC, Pennell NA. Early Use of Systemic Corticosteroids in Patients with Advanced NSCLC Treated with Nivolumab. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018;13(11):1771-1775. doi:10.1016/j.jtho.2018.06.004

231. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359(6371):91-97. doi:10.1126/science.aan3706
232. Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2018;19(11):1480-1492. doi:10.1016/S1470-2045(18)30700-9
233. Curry JL, Tetzlaff MT, Nagarajan P, et al. Diverse types of dermatologic toxicities from immune checkpoint blockade therapy: Dermatologic toxicities from immune checkpoint blockade. *J Cutan Pathol*. 2017;44(2):158-176. doi:10.1111/cup.12858
234. Li N. Platelets in cancer metastasis: To help the “villain” to do evil. *Int J Cancer*. 2016;138(9):2078-2087. doi:10.1002/ijc.29847
235. Miyashita T, Tajima H, Makino I, et al. Metastasis-promoting role of extravasated platelet activation in tumor. *Journal of Surgical Research*. 2015;193(1):289-294. doi:10.1016/j.jss.2014.07.037
236. Labelle M, Begum S, Hynes RO. Direct Signaling between Platelets and Cancer Cells Induces an Epithelial-Mesenchymal-Like Transition and Promotes Metastasis. *Cancer Cell*. 2011;20(5):576-590. doi:10.1016/j.ccr.2011.09.009
237. Placke T, Kopp H-G, Salih HR. Modulation of Natural Killer Cell Anti-Tumor Reactivity by Platelets. *J Innate Immun*. 2011;3(4):374-382. doi:10.1159/000323936
238. Li N, Ji Q, Hjerdahl P. Platelet-lymphocyte conjugation differs between lymphocyte subpopulations. *J Thromb Haemost*. 2006;4(4):874-881. doi:10.1111/j.1538-7836.2006.01817.x
239. Togna GI, Togna AR, Franconi M, Caprino L. Cisplatin Triggers Platelet Activation. *Thrombosis Research*. 2000;99(5):503-509. doi:10.1016/S0049-3848(00)00294-2
240. Starossom SC, Veremeyko T, Yung AWY, et al. Platelets Play Differential Role During the Initiation and Progression of Autoimmune Neuroinflammation. *Circ Res*. 2015;117(9):779-792. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306847
241. Li N. Platelet-lymphocyte cross-talk. *Journal of Leukocyte Biology*. 2008;83(5):1069-1078. doi:10.1189/jlb.0907615



242. van Gils JM, Zwaginga JJ, Hordijk PL. Molecular and functional interactions among monocytes, platelets, and endothelial cells and their relevance for cardiovascular diseases. *Journal of Leukocyte Biology*. 2009;85(2):195-204. doi:10.1189/jlb.0708400
243. Rong M, Wang C, Wu Z, et al. Platelets induce a proinflammatory phenotype in monocytes via the CD147 pathway in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(6):478. doi:10.1186/s13075-014-0478-0
244. Yago T, Tsukuda M, Minami M. P-selectin binding promotes the adhesion of monocytes to VCAM-1 under flow conditions. *J Immunol*. 1999;163(1):367-373.
245. van Wely CA, Blanchard AD, Britten CJ. Differential Expression of  $\alpha$ 3 Fucosyltransferases in Th1 and Th2 Cells Correlates with Their Ability to Bind P-Selectin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1998;247(2):307-311. doi:10.1006/bbrc.1998.8786
246. Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. 2005;54(8):721-728. doi:10.1007/s00262-004-0653-2
247. Suzuki J, Hamada E, Shodai T, et al. Cytokine Secretion from Human Monocytes Potentiated by P-Selectin-Mediated Cell Adhesion. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;160(2):152-160. doi:10.1159/000339857
248. Weyrich AS, Elstad MR, McEver RP, et al. Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes. *J Clin Invest*. 1996;97(6):1525-1534. doi:10.1172/JCI118575
249. Rachidi S, Metelli A, Riesenber B, et al. Platelets subvert T cell immunity against cancer via GARP-TGF $\beta$  axis. *Sci Immunol*. 2017;2(11):eaai7911. doi:10.1126/sciimmunol.aai7911
250. Lim SY, Lee JH, Gide TN, et al. Circulating Cytokines Predict Immune-Related Toxicity in Melanoma Patients Receiving Anti-PD-1–Based Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2019;25(5):1557-1563. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-2795



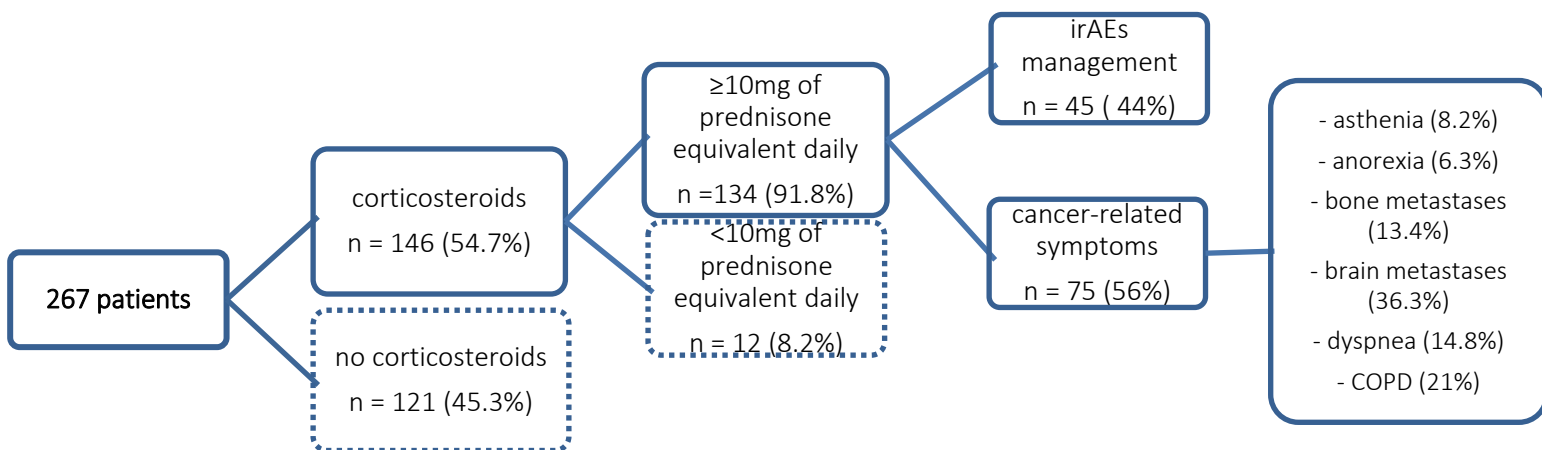


## 10. ANNEXES



## ANNEX 1. Material supplementari article 1

**Figure S1.** Flow chart detailing corticosteroid usage: reasons and doses.



To analyze efficacy according to the dose of corticosteroids patient were divided into two groups: those receiving prednisone equivalent  $\geq 10$ mg daily and those receiving prednisone equivalent  $\leq 10$  mg daily, which includes patients who did not receive corticosteroids.

Abbreviations: irAEs, immune-related adverse events.

**Table S1.** Landmark analysis of ORR according to the presence of irAEs.

Landmark analyses	ORR		Odds ratio (95% CI)	P value
	irAEs group	no-irAEs group		
8 weeks (n = 134)	54.8%	28%	3.13 (1.47-6.67)	0.004
10 weeks (n = 99)	62.3%	36.7%	2.86 (1.18-7.14)	0.028
12 weeks (n = 69)	61.4%	50%	1.59 (0.46-5.56)	0.527
16 weeks (n = 44)	100%	72.5%	0.73 (0.60-0.88)	0.558

Abbreviations: ORR, overall response rate; irAEs, immune-related adverse events; CI, confidence interval.

**Table S2.** Multivariable analysis of overall survival according to clinical features (A) and type of irAEs (B).

**A.** Overall survival and clinical features (n = 267)

Variable	Hazard ratio	95% CI	P value
<b>ECOG PS</b>			
0-1	1.67	1.09-2.57	0.019
≥2			
<b>Presence of liver metastases</b>			
No	1.84	1.20-2.80	0.005
Yes			
<b>Presence of irAEs</b>			
No	0.32	0.22-0.46	<0.001
Yes			
<b>Corticosteroids use</b> (Prednisone equivalent ≥10mg/day)			
No			
For irAEs management	1.28	0.66-2.47	0.466
For cancer-related symptoms	2.40	1.37-4.22	0.002
<b>Treatment line</b>			
1st line	1.56	1.04-2.34	0.033
≥2nd line			

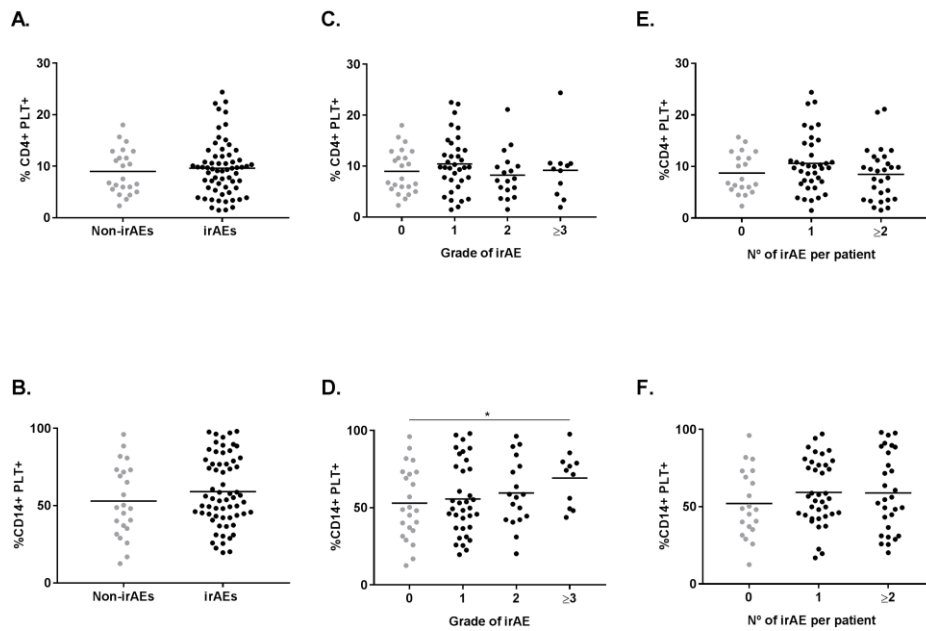
**B.** Overall survival and type of irAEs (n = 267)

Variable	Hazard ratio	95% CI	P value
<b>Rash</b>			
No	0.42	0.23-0.75	0.003
Yes			
<b>Pruritus</b>			
No	0.26	0.14-0.49	<0.001
Yes			
<b>Endocrine dysfunction</b>			
No	0.59	0.34-1.00	0.050
Yes			
<b>Arthritis</b>			
No	0.26	0.10-0.62	0.003
Yes			

Abbreviations: CI, confidence interval; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status; irAEs, immune-related adverse events.

## ANNEX 2. Material supplementari article 2

**Supplementary figure 1.** Association of percentages of circulating CD4+PLT+ and CD14+PLT+ complexes according to the presence of irAEs.

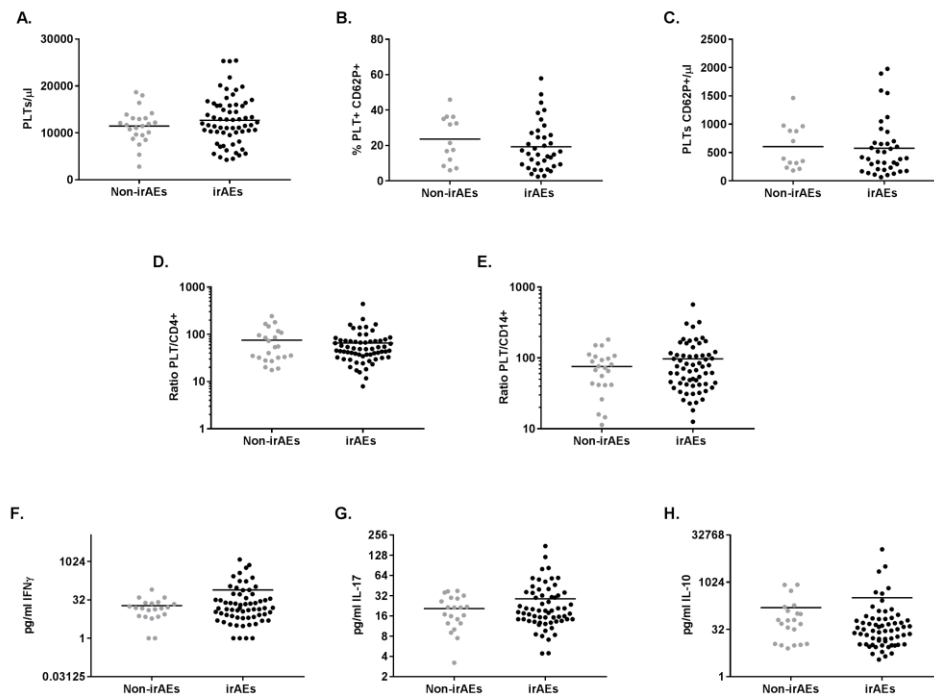


Percentage of CD4+PLT+ and CD14+PLT+ complexes in (A-B) non-irAEs vs. irAEs groups, (C-D) grade of irAEs (0-≥3) and (E-F) number of irAEs per patient. The statistical analysis was performed using the t-test. \* $p < 0.05$ .

Abbreviations: irAEs, immune-related adverse events; N°, number.



**Supplementary figure 2.** Association of platelet blood count, percentage and count of activated platelets (PLT CD62P+), ratio of platelets to CD4+ T lymphocytes (PLT/CD4) and CD14+ monocytes (PLT/CD14+), and plasmatic levels of IFN $\gamma$ , IL-17 and IL-10 according to the presence of irAEs.



The dot plots show (A) platelets blood levels (PLT/ $\mu$ l), (B) the percentage of activated platelets, (C) the levels of activated platelets (PLT CD62P+/ $\mu$ l), (D) the ratio of PLT/CD4+, (E) the ratio of PLT/CD14+, pg/ml of (F) IFN $\gamma$ , (G) IL-17 and (H) IL-10 according to non-irAEs and irAEs groups. An unpaired t-test was used for the analysis of PLT/ $\mu$ l, % PLT CD62P+ and PLT CD62P+/ $\mu$ l, and the Mann-Whitney test for the analysis of the PLT/CD4+, PLT/CD14+, IFN $\gamma$ , IL-17 and IL-10 ratios.

Abbreviations: irAEs, immune-related adverse events; PLT, platelets; IFN $\gamma$ , interferon gamma; IL-17, interleukin 17; IL-10, interleukin 10;  $\mu$ l, microlitres; pg, picograms; ml, milliliters.

**ANNEX 3.** Grups segons els percentatges dels complexos leucòcits-plaquetes (CD4+PLT+ i CD14+PLT+)

Es van agrupar els pacients en 4 grups diferents d'acord amb els percentatges, alts o baixos, dels complexos CD4+PLT+ i CD14+PLT+, tal i com es detalla a la següent taula, per tal d'analitzar el tipus i gravetat dels *irAEs*, observant diferències estadísticament significatives ( $p < 0.01$  i  $p < 0.05$ , respectivament).

	<b>Grup 1</b> (n=38)	<b>Grup 2</b> (n=20)	<b>Grup 3</b> (n=13)	<b>Grup 4</b> (n=16)
<i>Complexes CD4+PLT+</i>	Baixos	Baixos	Alts	Alts
<i>Complexes CD14+PLT+</i>	Baixos	Alts	Baixos	Alts
<i>Tipus d'irAEs</i>				
<i>no irAEs</i>	23.7%	25%	38.5%	25%
<i>dermatològics</i>	13.2%	0%	53.8%	37.5%
<i>no-dermatològics</i>	36.8%	45%	0%	18.8%
<i>ambdós</i>	26.3%	30%	7.7%	18.8%
<i>Grau dels irAEs</i>				
<i>grau 0-1</i>	63.2%	50%	100%	68.8%
<i>grau 2</i>	26.3%	20%	0%	25%
<i>grau <math>\geq 3</math></i>	10.5%	30%	0%	6.3%

Abreviacions: *irAEs*, *immune-related adverse events*; PLT, plaquetes.