

Alice Ambrosetti

Relatore

Chiar.mo Prof

Stefano Fanti

SCUOLA DI SPECIALIZZAZIONE IN MEDICINA NUCLEARE

Direttore: Prof Giuliano Mariani

**TERAPIA RADIORECETTORIALE CON ^{177}Lu -DOTATATE IN
PAZIENTI CON TUMORE NEUROENDOCRINO DEL POLMONE.**

Tesi di Specializzazione

Candidato:

Dott.ssa Katrin Massri

Relatore:

Prof Giuliano Mariani

Correlatore:

Dott. Giovanni Paganelli

CAPITOLO 1	4
1.1 I TUMORI NEUROENDOCRINI	4
1.2.TUMORI NEUROENDOCRINI DEL POLMONE	7
CLASSIFICAZIONE	7
EPIDEMIOLOGIA	12
CARCINOIDE TIPICO	12
CARCINOIDE ATIPICO	13
CARCINOMA NEUROENDOCRINO A GRANDI CELLULE	13
CAPITOLO 2	14
2.1.LA SOMATOSTATINA ED I SUOI ANALOGHI STRUTTURALI	14
2.2.ANALOGHI DELLA SOMATOSTATINA: IMPIEGO CLINICO	19
2.3.ANALOGHI DELLA SOMATOSTATINA: IMPIEGO DIAGNOSTICO	21
2.4.IMPIEGO DEI PEPTIDI RADIOMARCATI NELLE TERAPIE MEDICO-NUCLEARI	26
CAPITOLO 3	32
3.1 MATERIALI E METODI	32
3.2 <i>RISULTATI</i>	38
3.3 <i>DISCUSSIONE</i>	44

A mia zia Anam

CAPITOLO 1

1.1 I TUMORI NEUROENDOCRINI

I tumori neuroendocrini (NET) sono neoplasie ubiquitarie, a bassa incidenza (circa 1 nuovo caso/100000/anno), che possono originare da qualsiasi cellula del sistema neuroendocrino, sia essa appartenente al sistema neuroendocrino diffuso “DNES” o al sistema neuroendocrino confinato “CNES”^{1,2}.

Secondo le conoscenze attuali, il termine “neuroendocrino” definisce quelle cellule, di origine sia ectodermica che endodermica capaci di sintetizzare, immagazzinare e secernere mediatori biologici e/o i loro precursori con modalità endocrina, paracrina ed autocrina, nonché enzimi di tipo neuronale e neurotrasmettitori ^{3,4,5,6}.

In **Figura 1** è riassunta la distribuzione topografica del DNES:

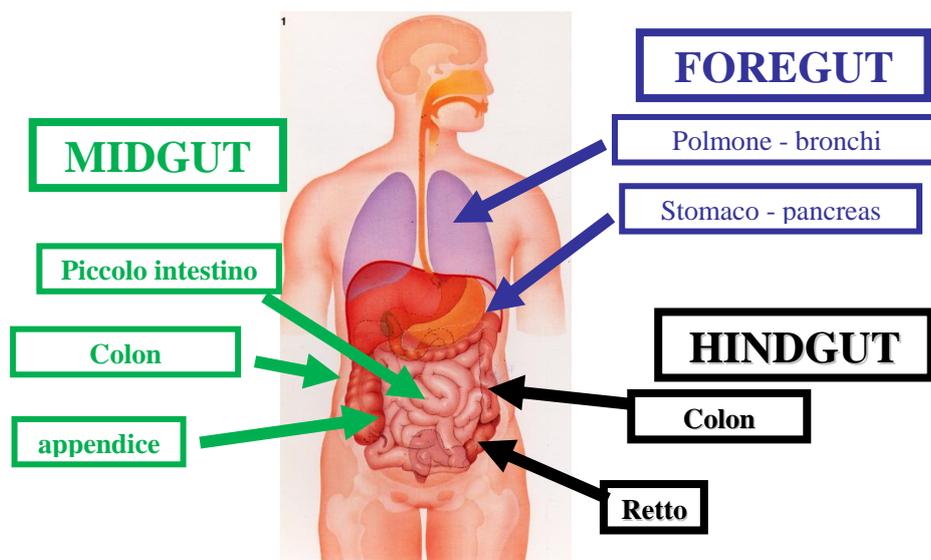


Figura 1: Distribuzione e topografia de Sistema Neuroendocrino Diffuso

I NET sono quindi “neoplasie derivanti da cellule staminali pluripotenti o da cellule neuroendocrine differenziate, caratterizzate da particolare pattern istologico e dalla presenza di prodotti di secrezione e di proteine citoplasmatiche caratteristiche”.

In generale queste neoplasie sono caratterizzate da un’aggressività biologica e clinica relativamente limitata. Inoltre, possono mantenere ed enfatizzare l’attività secretiva delle cellule originarie,

determinando quadri sindromici (Biologically Active Neuroendocrine Tumors – BANTs, Functioning Neuroendocrine Tumors – FNT) oppure risultare, per molteplici concausalità biologicamente inattivi (Biologically Inactive Neuroendocrine Tumors – BINTs, Non-Functioning neuroendocrine Tumors, NFNT).

La produzione e iniezione di mediatori biologici può avvenire con modalità entopica oppure ectopica. I NET “entopici” (o eutopici) sono rappresentati da neoplasie che sintetizzano sostanze fisiologicamente prodotte dal tipo di tessuto da cui si sviluppano (organi con componente endocrina): in questo caso la sindrome clinica è il risultato di una autonomizzazione funzionale probabilmente legata a una condizione di iper-espressione genica, incontrollata, da parte del tessuto tumorale. I NET “ectopici” invece producono sostanze che, in condizioni normali, non vengono espresse dai tessuti interessati. L’acquisizione di questa nuova funzione secretoria, differente dalla primitiva attività funzionale tipica del tessuto, sembra essere legata a meccanismi di de-repressione ed iper-espressione genica tipica dei fenomeni di de-differenziazione delle cellule tumorali.

Su base anatomo-topografica, i NET possono essere distinti in base alla loro sede di insorgenza in tumori derivanti dal sistema GEP (Gastro-Entero-Pancreatico), per quelli interessanti il compartimento addominale, e tumori non-GEP per indicare quelli che insorgono in altri distretti corporei.

Le cellule neuroendocrine possono essere localizzate in un singolo organo (es. le cellule ECL gastriche) o una distribuzione lungo tutto l’apparato. Nonostante le diverse localizzazioni esse hanno caratteristiche comuni:

- Linee di derivazioni;
- Produzione di specifiche proteine (es Cromogranina A)
- Trasporto (veicole trasportatori monamine VMAT1, VMAT2)
- Sintesi di specifiche amine (istamina e serotonina)
- Decarbossilazione delle amine
- Secrezione di granuli elettrodensi
- Recettori inibitori come i recettori della somatostatina (SSTR).

Come già detto, l’incidenza delle neoplasie neuroendocrine è di circa 2-3 casi ogni 100000 abitanti per anno^{1,2}. Questo dato si è modificato in senso accrescitivo negli ultimi trent’anni, probabilmente grazie ad una maggiore attenzione e conoscenza della patologia e al miglioramento delle tecniche di diagnosi⁷. Anche la prevalenza ha avuto un trend in crescita per la frequente natura indolente di queste neoplasie e per un ventaglio di terapie sempre maggiore. Oggi infatti i tumori neuroendocrini sono secondi solo all’adenocarcinoma colon-rettale come prevalenza, nonostante siano considerati un’entità rara (rappresentano l’1% di tutti i tumori e il 2% dei tumori del tratto gastrointestinale)⁸.

La sopravvivenza a 5 anni si attesta attorno al 67.2% e varia dal 15% al 95% in rapporto alla sede d'origine ed all'estensione della malattia (**Figura 2**)⁹.

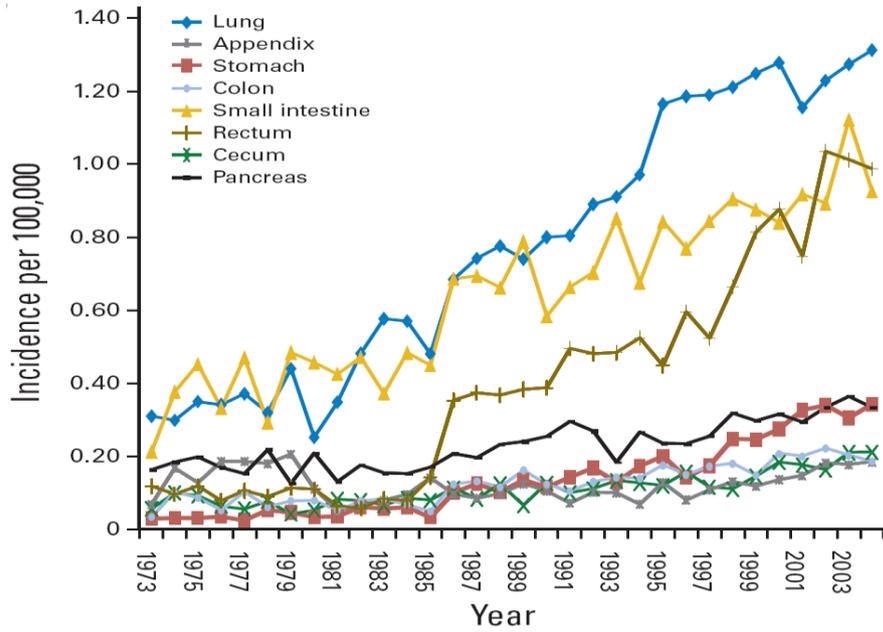


Figura 2: Incremento assoluto dei NET registrati nel periodo 1973-2005 a seconda della sede d'origine. Fonte dati SEER database, US National Cancer Institute.

1.2.TUMORI NEUROENDOCRINI DEL POLMONE

I tumori neuroendocrini del polmone originano dalle cellule di Kulchitzky (o cellule enterocromaffini) che fanno parte del sistema neuroendocrino diffuso e sono normalmente presenti nello strato basale dell'epitelio di rivestimento bronchiale e nella mucosa bronchiale (tra la membrana basale e l'epitelio colonnare), prevalentemente a livello della biforcazione dei bronchi (**Figura 3**)¹⁰.

I NETs polmonari rappresentano 1-2% di tutte le neoplasie polmonari e sono il 20-25% di tutti i tumori neuroendocrini¹¹. I NETs polmonari non sono legati al tabagismo o ad altri fattori di ambientali, l'età media d'insorgenza è intorno ai 40-50 aa e l'incidenza è uguale nei due sessi¹².

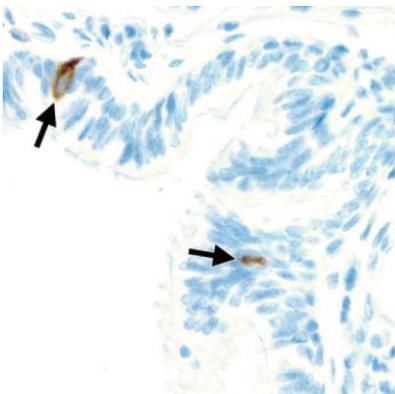


Figura 3: Cellule di Kulchitzky

Classificazione

In accordo con la classificazione del World Health Organization (WHO) del 2004, i NETs polmonari vengono suddivisi primariamente dal punto di vista morfologico in:

- Carcinoide Tipico (TC)
- Carcinoide Atipico (AT)
- Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule (LCNEC)
- Carcinoma a piccole cellule (SCLC).

Secondariamente dal punto di vista istopatologico si definiscono:

- “Carcinoidi” quelli caratterizzati da un'architettura organoide costituita da aggregati di cellule piccole ed uniformi disposti in trabecole, nidi e lobuli o ammassi solidi con scarso stroma e prominente vascolarizzazione e presenza di cellule cuboidali o fusate (queste ultime più frequenti nei tumori a sede periferica)**Figura 4**;
- “Carcinoidi atipici” quelli che presentano un' aumentata attività mitotica e focale necrosi **Figura 5**

- “Carcinomi neuroendocrini a grandi cellule”, quelli formati, come implica il nome stesso, da grandi cellule poligonali a margini ben definiti, con nucleo tondeggiante, cromatina grossolanamente granulare e prominente nucleolo, disposte in aggregati trabecolari o nodulari con evidente palizzamento periferico; le mitosi sono alquanto numerose in questo istotipo e la necrosi può essere estensiva e confluyente **Figura 6**;
- “Carcinomi neuroendocrini a piccole cellule”, quelli che sono costituiti da elementi di piccole dimensioni con scarso citoplasma, fittamente stipate le une contro le altre al punto da improntare vicendevolmente il nucleo, con cromatina finemente granulare ed uniformemente dispersa e nucleolo assente o poco evidente; la necrosi estensiva e confluyente e le numerosissime figure mitotiche e diffusione della cromatina sulla parete dei vasi (fenomeno di Azzopardi) a causa dell'estrema, intrinseca fragilità delle cellule neoplastiche completano le principali caratteristiche istopatologiche di questo tumore.

Infine, dal punto di vista del grado di differenziazione o “grading” si suddividono in:

- Ben differenziato GRADO 1 (G1);
- Moderatamente differenziato GRADO 2 (G2);
- Scarsamente differenziato GRADO 3 (G3). (Tabella 1)¹³

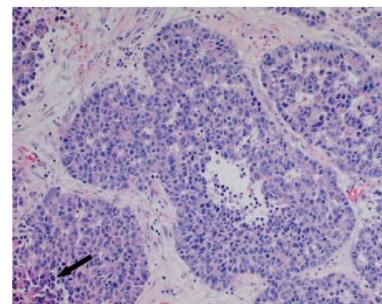
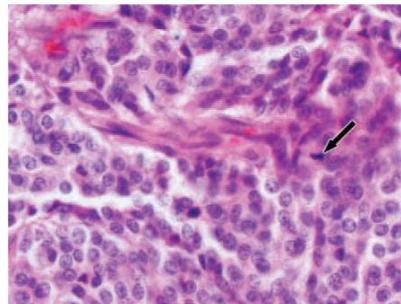
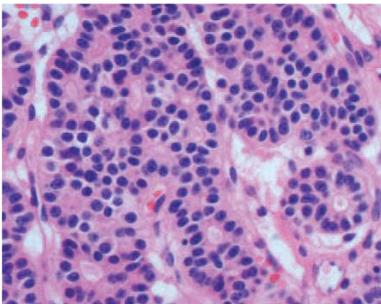


Figura 4:Typical carcinoid.

Figura 5:Atypical carcinoid

Figura 6:LCNEC.

	Typical carcinoid	Atypical carcinoid	Large cell neuroendocrine carcinoma	Smal cell lung carcinoma
Grade	Low	Intermediate	High	High
Morphology	Well-differentiated NET	Well-differentiated NET	Poorly-differentiated NET	Poorly-differentiated NET
Mitoses per 10 HPFs	< 2	2-10	> 10 (median, 70)	> 10 (median, 80)
Necrosis	None	Present (focal punctate)	Present (extensive)	Present (extensive)

Tabella 1: Classificazione WHO 2004

Negli ultimi 5 anni è stata osservata una drastica riduzione del tasso di sopravvivenza (47,3% vs 84,7%) nei carcinoidi. Una spiegazione plausibile è il maggior uso dei markers neuroendocrini negli esami istologici che portano l'individuazione precoce anche di forme poco differenziate.

La sopravvivenza risulta, poi, ancora più bassa se si considerano i SCLC (3,9%-4.8%), nonostante l'utilizzo di terapie molto aggressive. (Figura 7)¹⁴

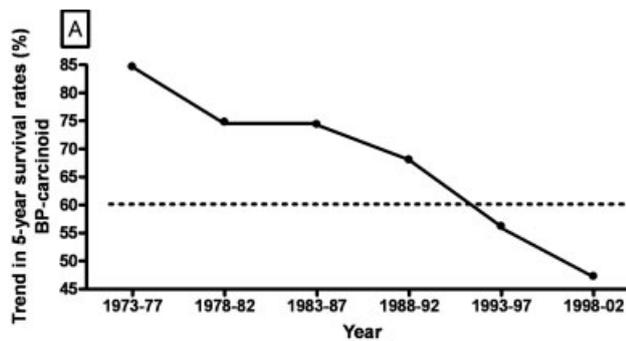
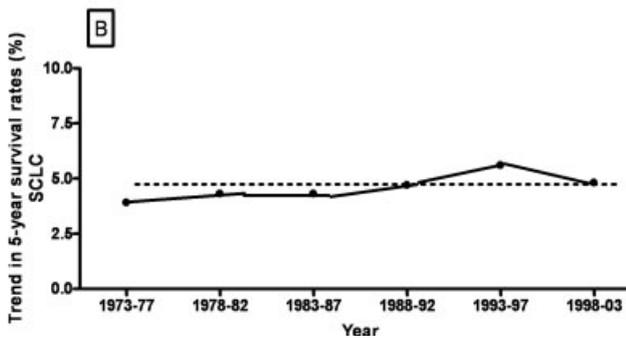


Figura 7: The 5-year survival trend for: (A) bronchopulmonary (BP)-carcinoids; and (B) small-cell lung cancer (SCLC). The average 5-year survival rates over the entire period (dotted line) indicate a 60.6% survival for BPcarcinoids (the SEER database does not distinguish between typical carcinoid tumor [TC] and atypical carcinoid tumor [AC]) and 4.8% SCLC, respectively. SEER 1973-2003 containing 5622 BP-carcinoids and 44,789 SCLC.



Per definire la primitività polmonare nella diagnosi di un tumore neuroendocrino la cui origine è apparentemente ignota può essere utile la ricerca sui preparati istologici di fattori di trascrizione quali il Fattore di trascrizione tiroidea 1 (TTF-1), in particolare nelle forme ad alto grado.

Il TTF-1 è una proteina nucleare del peso molecolare di 38 kDa facente parte della famiglia genetica Nkx2. Tali geni appartengono al gruppo degli "homeobox genes" che sono normalmente coinvolti nei fenomeni di differenziazione cellulare¹⁵. Esso è espresso normalmente nella tiroide, nell'epitelio respiratorio e nel diencefalo.

La positività immunostochimica del TTF-1 è caratteristica nelle neoplasie polmonari e tiroidee, in particolare nelle cellule C della tiroide è stato dimostrato il suo coinvolgimento nella modulazione dell'espressione di diversi geni coinvolti nell'omeostasi del calcio¹⁶. TTF-1 nelle cellule epiteliali del polmone, invece, svolge un ruolo cruciale nella morfogenesi e nella funzione regolando l'espressione genica delle proteine sulfattanti e la secrezione di proteine da parte delle cellule di Clara¹⁷.

Recentemente è stata dimostrata l'espressione del TTF-1 anche nei tumori neuroendocrini polmonari in particolare nel 35% dei carcinomi tipici, 100% nei carcinomi atipici e nel 75% dei carcinomi neuroendocrini a grandi cellule^{18,19,20,21}. **(Figura 8,9,10)**

Le informazioni ottenute dall'uso di tale marcatore vanno comunque interpretate in un contesto clinico appropriato, essendovi limiti in termini di sensibilità (espressione del TTF-1 solo in una minoranza dei carcinoidi tipici), sia di specificità (ad esempio il TTF-1 si trova soprattutto in forme scarsamente differenziate con coinvolgimento extrapolmonare).

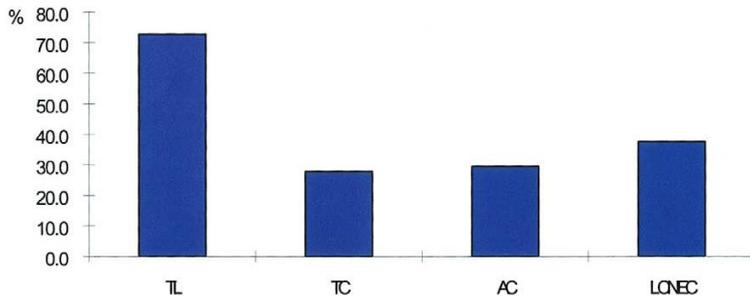


Figura 8: Incidence of thyroid transcription factor (TTF)-1 positivity (defined as both TTF-I and TTF-E scores of 1 or greater) was significantly higher in tumorlets than in typical carcinoid (TC), atypical carcinoids (AC), and large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) cases ($P = 0.03$). There was no significant difference in the TTF-1 positivity among TC, AC, and LCNEC cases ($P = 0.66$).

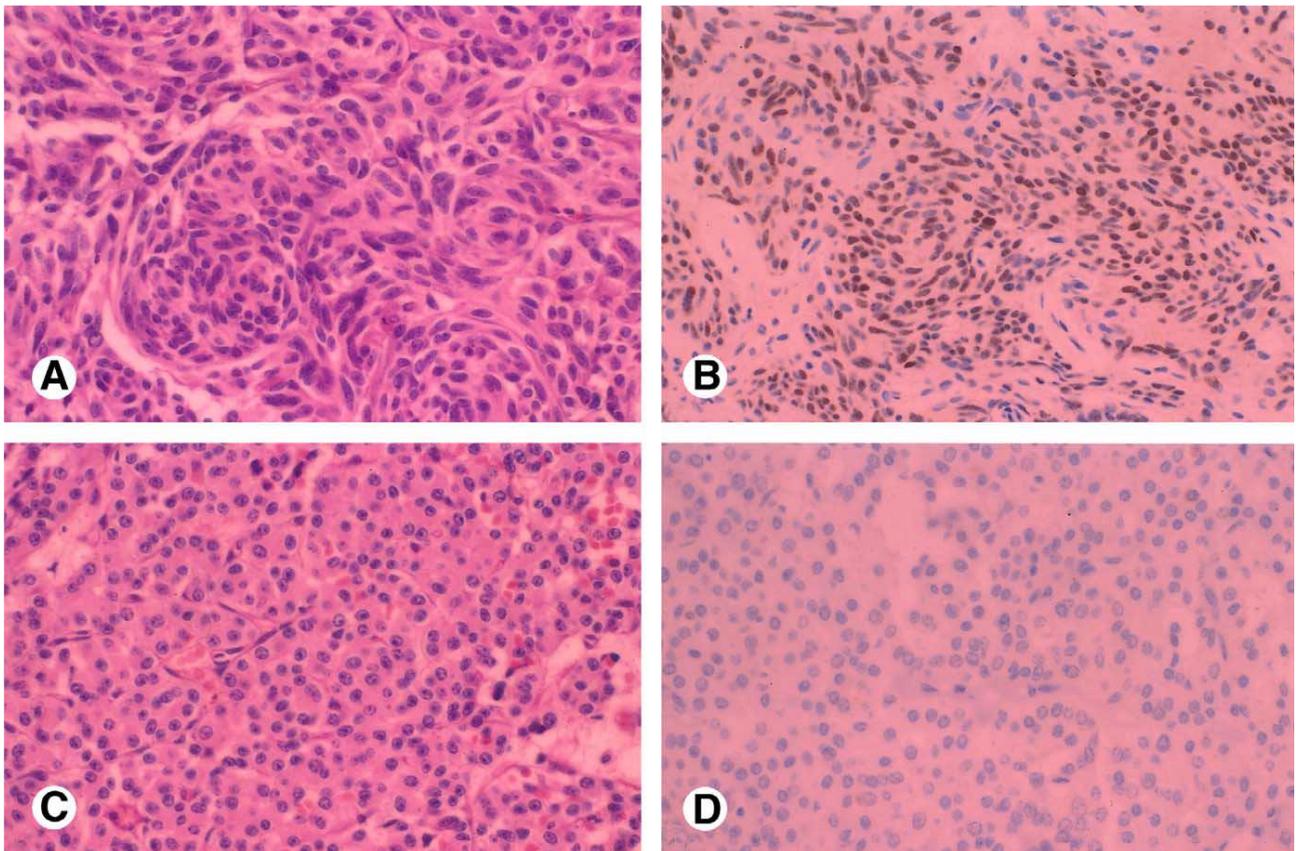


Figura 9: Typical carcinoid (TC) with predominantly spindle cell morphology showing diffuse thyroid transcription factor (TTF)-1 positivity (A and B), whereas TC composed of rounded cells is negative for TTF-1 (C and D).

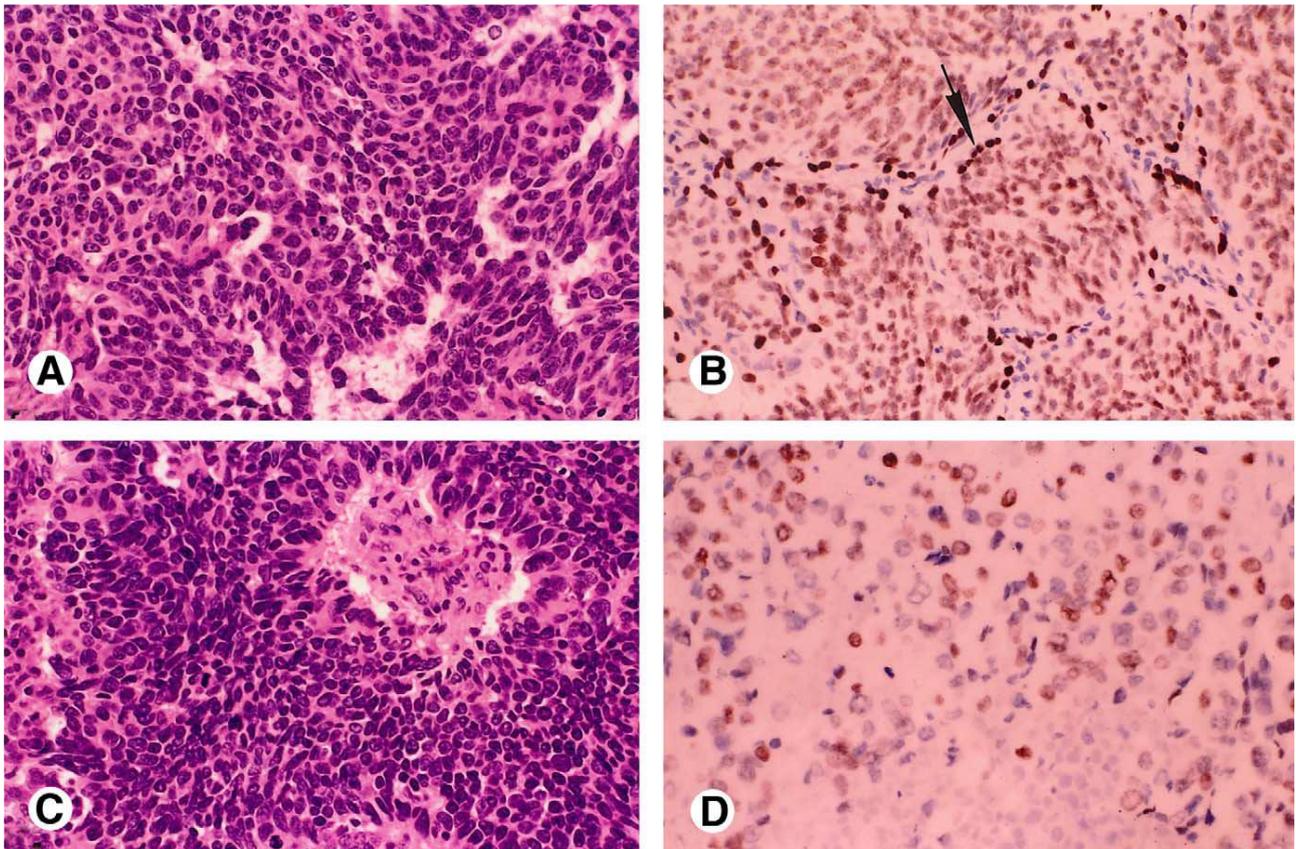


Figura 10: Atypical carcinoid showing fusiform and elongated cells (A, hematoxylin and eosin [HE] stain) with diffuse thyroid transcription factor (TTF)-1 positivity (entrapped alveolar cells marked with arrows; B). Large cell neuroendocrine carcinoma with high mitotic activity and necrosis on HE stain (C) showing strong TTF-1 positivity (D).

Molti NET-polmonari esprimono i recettori della somatostatina, in particolare il sottotipo 2 e meno frequentemente i tipi 3 e 5. L'espressione dei SSTR è comune a tutte le forme istologiche, spettro che ha due estremi: vede il tumore neuroendocrino ben differenziato (carcinoido tipico) e il carcinoma scarsamente differenziato (microcitoma). La determinazione degli SSTR "in vitro" sul tessuto neoplastico mediante tecniche di immunistochimica e "in vivo" con indagini scintigrafiche con analoghi della somatostatina radio marcati ha reso più semplice e attuabile la ricerca dell'espressione di tali recettori fornendo importanti informazioni per la caratterizzazione diagnostica e il trattamento di questi tipi di neoplasie neuroendocrine.

Epidemiologia

Il database di sorveglianza ed epidemiologia (SEER) indica che i carcinoidi polmonari rappresentano 1.2% sul totale di 463338 neoplasie maligne del polmone¹⁴. L'incidenza negli Stati Uniti è aumentato rapidamente negli ultimi 30 anni (circa il 6% all'anno). I carcinoidi sono più prevalenti nei bianchi rispetto ai neri (rapporto 0.45), nella razza asiatica rispetto alle altre (rapporto 0.52), negli *ispanici* rispetto ai *non-ispanici* (rapporto 0.23)²².

I carcinoidi tipici rappresentano l'80-90% di tutti i carcinoidi e sono più frequenti nella V^a-VI^a decade della vita, possono tuttavia manifestarsi in qualsiasi età, addirittura nell'infanzia sono i tumori polmonari più comuni²³.

I LCNEC sono 1-3% di tutti tumori neuroendocrini del polmone, si verificano più frequentemente nella VII^a decade e sono quattro volte più frequenti negli uomini rispetto alle donne^{24,14}.

I SCLC sono di solito diagnosticati nella VI^a -VII^a decade e rappresentano il 9.8% di tutti i tumori del polmone¹⁴. (**Figura 11**)

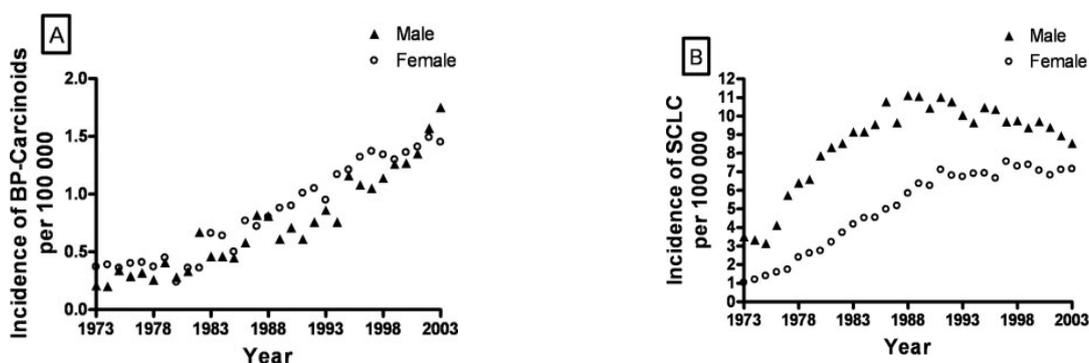


Figura 11: Age-adjusted incidence/100,000 of (A) bronchopulmonary (BP) carcinoids (the SEER registry does not distinguish between atypical carcinoid tumor [AC] and typical carcinoid tumor [TC]), and (B) small-cell lung cancer (SCLC). Men (~) and Women (*).

Carcinoide tipico

E' la neoplasia a miglior prognosi con sopravvivenza a 5 anni di circa 87-100%. La localizzazione è ubiquitaria, spesso endobronchiale. Raramente si associa a sindrome da carcinoide. Nel 10-15% dei casi si presenta con localizzazione ai linfonodi regionali e solo nel 5-10% dei casi vi sono metastasi a distanza.

Carcinoide atipico

Si tratta di una neoplasia a maggiore aggressività rispetto al carcinomide tipico con tassi di sopravvivenza a 5 anni del 61-73%. La neoplasia è prevalentemente periferica nell'ambito del parenchima polmonare e nel 40-50% è estesa ai linfonodi regionali al momento della diagnosi, mentre solo nel 10% dei casi sono presenti metastasi a distanza all'esordio.

Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule

Fu descritto per la prima volta nel 1991. Rappresenta il 3% delle neoplasie polmonari, con prevalenza dei maschi fumatori e picco di incidenza attorno ai 60 anni. La neoplasia a prevalente localizzazione periferica raramente si associa a produzione di ormoni: spesso metastatizza all'esordio; presenta scarsa differenziazione e cattiva prognosi. La diagnosi differenziale più importante è con il microcitoma. **Figura 12**

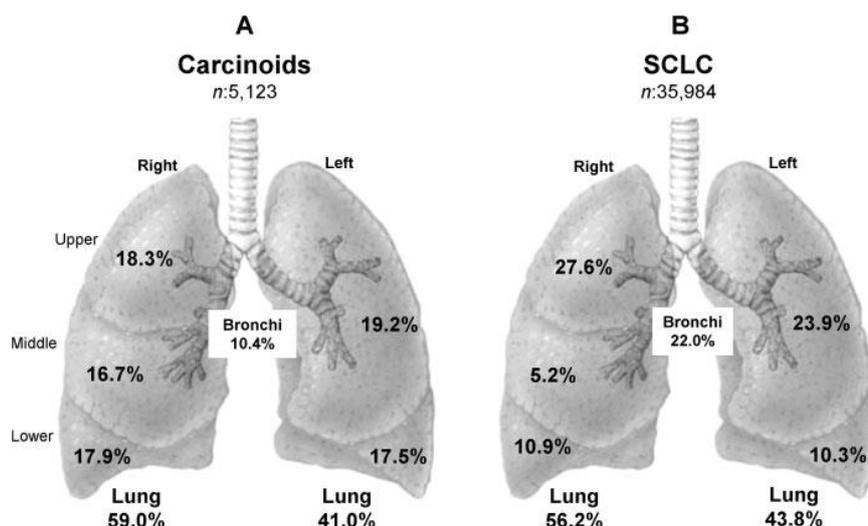


Figura 12: Distribution of (A) 5,123 lung carcinoids, and (B) 35,984 small cell lung cancer (SCLC) registered in the SEER registry.⁸ The anatomical locations

CAPITOLO 2

2.1.LA SOMATOSTATINA ED I SUOI ANALOGHI STRUTTURALI

La somatostatina (od ormone inibente la secrezione di somatotrofina) è un piccolo neuropeptide ciclico la cui biosintesi avviene principalmente a livello del sistema nervoso, sia centrale che periferico, ma anche in molti altri organi.

Fu identificata e purificata per la prima volta circa 30 anni fa nell'ipotalamo di pecora: l'aggiunta, anche in quantità minime, di lisati ipotalamici di pecora ad una sospensione di cellule di ghiandola pituitaria di ratto, ne riduceva significativamente la secrezione di ormone della crescita.

Fu quindi descritta come una molecola costituita da 14 aminoacidi (SS-14), con un peso molecolare di 1068 g/mol, ad attività inibitoria sulla secrezione dell'ormone della crescita da parte della porzione anteriore della ghiandola ipofisaria (adenoipofisi)²⁵.

Pochi anni dopo venne purificato dall'intestino di maiale un peptide di dimensioni maggiori, costituito da 28 aminoacidi, contenente la molecola della somatostatina-14, legata, nella sua porzione C-terminale, ad una catena di altri 14 aminoacidi. Chiamata prosomatostatina, venne considerata il precursore della somatostatina (SS-28).**(Figura 13)**.

Entrambe le molecole originano dalla demolizione proteolitica di un loro comune precursore, costituito da 92 aminoacidi: la pre-prosomatostatina²⁶.

A livello gastrointestinale, la somatostatina è principalmente immagazzinata in particolari cellule del sistema endocrino, chiamate cellule D.

La parte restante si trova all'interno di neuroni del plesso mienterico e submucosale e nel pancreas, a stretto contatto con le cellule secernenti insulina, glucagone e polipeptide pancreatico.

Le due forme sono sintetizzate in quantità variabile:

le cellule produttrici di SS-14 sono predominanti nel pancreas, nello stomaco, nei tessuti neuronali quali retina e nervi periferici, e nei neuroni enterici;

le cellule produttrici di SS-28 sono predominanti nella mucosa intestinale e nell'encefalo²⁷.

- apparato renale: inibizione del rilascio di renina e quindi di angiotensina II e aldosterone, con conseguenze sul riassorbimento di sali, e dell'ormone antidiuretico (ADH) che controlla il riassorbimento di acqua;
- blocco del rilascio di fattori di crescita IGF1, EGF (fattore di crescita dell'epidermide), PDGF (fattore di crescita derivato dalle piastrine);
- vasocostrizione;
- effetto inibitorio sulla secrezione di insulina e glucagone.

Le molteplici azioni biologiche della somatostatina sono mediate attraverso il legame con specifici recettori di membrana: sono stati individuati e caratterizzati cinque sottotipi recettoriali, denominati sst1, sst2, sst3, sst4, sst5, che legano con alta affinità sia la SS-14 che la SS-28.

Il recettore sst2 si presenta in due isoforme, sst2A e sst2B, che si differenziano per la lunghezza della sequenza aminoacidica della regione C-terminale. (**Figura 14**).

Questi recettori sono presenti in numerosi tessuti, quali: intestino, cervello, ghiandola pituitaria, pancreas endocrino ed esocrino, tiroide, reni e cellule del sistema immunitario.

I recettori per la somatostatina sono stati localizzati anche in una grande varietà di tumori umani che originano da cellule del sistema neuroendocrino, facendo supporre che esercitino un effetto diretto sulla regolazione della crescita del tumore stesso²⁸.

Ognuno dei cinque sottotipi recettoriali viene espresso da un gene differente e localizzato su un cromosoma diverso, suggerendo che ognuno di essi possiede funzioni diverse in organi diversi.

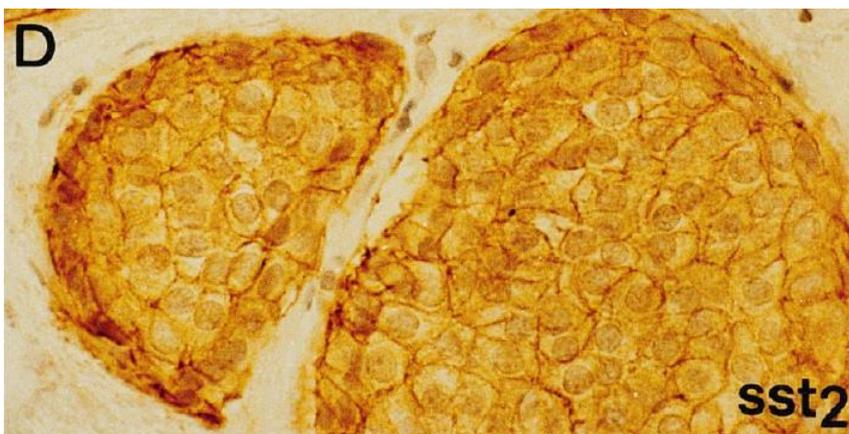


Figura 14: Recettori della somatostatina

Tutti i cinque recettori hanno come effetto diretto l'attivazione di una proteina G inibitoria dell'attività della adenilato ciclasi. I recettori sst1 e sst2 agiscono inoltre sui canali del calcio, bloccandone l'ingresso nella cellula, mentre i recettori sst2, sst3, sst4 e sst5, favoriscono l'uscita del

K⁺ dalla cellula e la conseguente iperpolarizzazione della membrana impedisce l'ingresso degli ioni calcio nella cellula.

La concomitante riduzione delle concentrazioni intracellulari degli ioni Ca²⁺ e dell'AMP ciclico comporta l'inibizione della secrezione dei più importanti fattori di crescita ed, in generale, di ormoni e neurotrasmettitori (**Figura 15**).

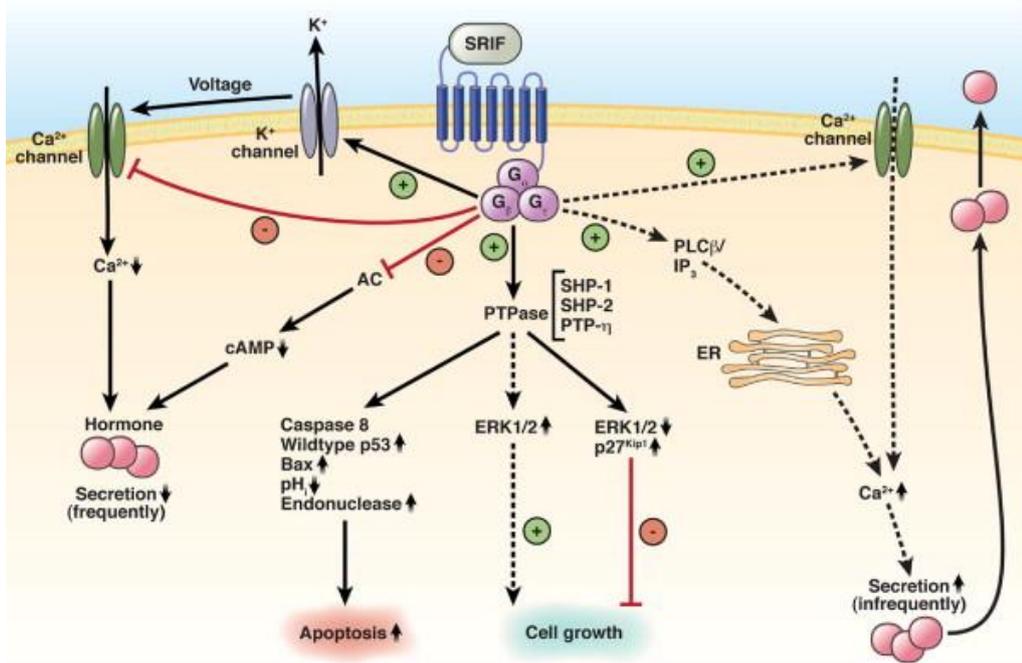


Figura 15: Effetti dei recettori della somatostatina nelle cellule neuroendocrine

Ad ognuno dei cinque sottotipi recettoriali, in relazione anche alla distribuzione tissutale, possono essere attribuite funzioni diverse:

- sst2 e sst5 sono coinvolti nel controllo del rilascio dell'ormone della crescita e sono largamente espressi a livello dell'encefalo e della ghiandola pituitaria;
- sst5 sembra essere principalmente coinvolto nella regolazione del rilascio di insulina e glucagone ed è espresso, oltre che a livello centrale, a livello gastrointestinale;
- sst3 e in misura minore sst2 inducono apoptosi cellulare;
- sst1, sst4 e sst5 hanno un effetto inibitorio sul ciclo cellulare.

Tutti i cinque sottotipi agiscono sull'attivazione della tirosina-fosfatasi che inibisce l'autofosforilazione del recettore per il fattore di crescita epidermico, effetto responsabile dell'attività antimitotica della somatostatina^{29,30}.

Con l'impiego di differenti tecniche di analisi, si è dimostrato che in molti tumori che originano in tessuti bersaglio della somatostatina, la densità dei recettori sst è aumentata; tuttavia vi è una

considerevole differenza nell'espressione dei diversi sottotipi recettoriali tra le diverse tipologie di tumori, ma anche in tumori dello stesso tipo.

Il recettore in assoluto più espresso risulta essere sst2; i recettori sst4 sono espressi in quantità maggiore nei tumori di cellule isolate e nei carcinomi, mentre vengono rilevati in quantità minima nell'adenoma della ghiandola pituitaria; i recettori sst1, sst3 e sst5 sono espressi in quantità variabile^{31,32}.

L'effetto inibitorio della somatostatina sulla secrezione ormonale di alcune ghiandole e nei confronti di molteplici funzioni di diversi organi ha suggerito l'idea che la somatostatina potesse sortire effetti benefici nel trattamento di patologie dovute all'iperfunzionalità di queste ghiandole (quali l'acromegalia e gli adenomi ipofisari TSH-secernenti) o alla sovrapproduzione di ormoni da parte di tumori neuroendocrini.

L'inibizione della proliferazione cellulare e l'induzione dell'apoptosi, la rendono un agente potenzialmente in grado di contrastare la crescita tumorale.

Il sistema vascolare peritumorale è un altro possibile sito d'azione della somatostatina: è stata, infatti, riscontrata un'elevata presenza di recettori sul sistema vascolare limitrofo a masse tumorali di alcuni tipi di neoplasie maligne (carcinoma del colon, del polmone e del rene, tumore del seno, linfomi maligni) e la loro presenza sembra inoltre essere indipendente dalla eventuale espressione sulle cellule tumorali³³.

La somatostatina esercita mediante questi recettori un'azione vasocostrittrice locale che può provocare una diminuzione dell'apporto sanguigno alle cellule tumorali e conseguente ipossia e necrosi del tumore o comunque esercitare un'azione prolungata diretta contro la diffusione metastatica del tumore³⁴.

La somatostatina somministrata esogenamente scompare rapidamente dal circolo sanguigno, con un'emivita di circa 1-3 minuti, per rapida inattivazione da parte delle peptidasi presenti nei tessuti e nel sangue, con conseguente breve durata di azione; il rene sembra svolgere un ruolo fondamentale nel suo metabolismo e nella sua secrezione. Per tale motivo, la somatostatina ha un' utilità terapeutica limitata, legata anche al fatto di avere molteplici effetti su molti sistemi secretori.

2.2.ANALOGHI DELLA SOMATOSTATINA: IMPIEGO CLINICO

In conseguenza del limitato impiego terapeutico della somatostatina, la ricerca si è rivolta allo studio e alla sintesi di peptidi analoghi della somatostatina, con paragonabile affinità recettoriale, sommata ad una maggiore stabilità biologica e conseguente emivita plasmatica superiore^{34,35}.

Numerosi peptidi sintetici ad elevata stabilità metabolica e selettività recettoriale addirittura superiore a quella della SS-14 sono stati realizzati partendo dall'analisi della catena aminoacidica della SS-14 che ha portato alla considerazione che il segmento centrale Phe7-Trp8-Lys9-Thr10 forma nella molecola una curva β , necessaria all'attività biologica.

Tra i numerosi analoghi sintetizzati, l'octreotide si è dimostrato il più efficace ai fini terapeutici ed è stato il primo peptide introdotto in terapia.

L'emivita di eliminazione dal plasma dell'octreotide è di circa 80 minuti, cioè 30 volte maggiore rispetto all'emivita della somatostatina.

Ciò è dovuto a:

- uso di D-aminoacidi (D-fenilalanina e D-triptofano) che lo rendono meno sensibile alle peptidasi dell'organismo;
- uso prevalente di aminoacidi lipofili: i peptidi lipofili vengono sequestrati dal fegato ed eliminati per secrezione epatobiliare mentre i peptidi idrofili vengono rapidamente rimossi per escrezione renale;
- ciclizzazione del peptide, utile alla limitazione della sua mobilità ed all'accrescimento della sua attività biologica³⁶. (**Figura 16**)

L'octreotide presenta la stessa attività farmacologica della somatostatina: inibizione della produzione dell'ormone della crescita, inibizione della secrezione di insulina, glucagone, amilasi e lipasi dal pancreas, inibizione della produzione di numerosi peptidi ad attività endocrina a livello gastrointestinale, inibizione della secrezione acida gastrica, riduzione del flusso ematico del distretto splancnico.

Dopo somministrazione sottocutanea l'octreotide raggiunge la massima concentrazione plasmatica in 30 minuti con una biodisponibilità del 100%³⁷.

Da studi di binding effettuati su linee cellulari infettate con segmenti di DNA codificante per i geni dei 5 sottotipi recettoriali della somatostatina si è scoperto che l'octreotide:

- lega preferenzialmente sst2;

- non lega sst1 e sst4;
- ha affinità intermedia con sst3;
- ha affinità moderata con sst5.

Grazie a questa differenza nel legame con i diversi sottotipi recettoriali, l'octreotide, rispetto alla somatostatina, ha un effetto inibitorio sul rilascio dell'ormone della crescita molto più marcato e un'attività più blanda sul rilascio di insulina, proprio perché questi due effetti sono mediati da recettori differenti.

Ciò detto, l'espressione predominante del recettore sst2 nei tumori umani d'origine neuroendocrina pone le basi per l'applicazione clinica dell'octreotide nel controllo della sintomatologia di pazienti affetti da acromegalia, negli adenomi ipofisari TSH-secerenti e nei tumori neuroendocrini del tratto gastro-entero-pancreatico³⁷.

Uno studio multicentrico italiano sui tumori neuroendocrini ha dimostrato che l'uso del octreotide (0.5-1 mg s.c.) induce una risposta sintomatica e biochimica nel 73 e 77% dei pazienti rispettivamente, con una risposta obiettiva nei pazienti con carcinoidi del solo 3%.

L'uso di alte dosi di lanreotide (fino a 12 mg/die) fornisce una risposta biochimica e sintomatica del tutto analoga, così come la risposta obiettiva risulta la medesima (5%).

Nella maggior parte dei tumori solidi l'effetto antiproliferativo degli analoghi della somatostatina si è dimostrato trascurabile, mentre risulta frequente l'inibizione dei fattori di crescita.

Nel 2009 sono stati pubblicati i risultati di uno studio tedesco di fase IIIb, randomizzato in doppio cieco, controllato con placebo, denominato studio PROMID, sugli effetti dell'Octreotide LAR nel controllo della crescita tumorale nei pazienti con NET ben differenziato del midgut metastatico.

Lo scopo dello studio era quello di verificare se l'Octreotide LAR 30 mg somministrato mensilmente, prolungasse la PFS e la sopravvivenza.

Nel braccio attivo sono stati arruolati 42 pazienti, mentre nel braccio di controllo con placebo ne sono stati arruolati 43. La PFS nel gruppo attivo di 42 pazienti, trattati con analoghi della somatostatina è risultata essere di 14 mesi contro i 6 mesi nel gruppo placebo di 43 pazienti. Dopo 6 mesi, il 66,7% dei pazienti del gruppo attivo ha avuto una SD secondo i criteri WHO, rispetto al 37,2% nel gruppo placebo. Nessuno dei pazienti ha avuto una remissione completa. Una risposta parziale è stata riportata in un paziente per gruppo ma la durata della risposta non è stata riportata.

Tale studio ha riportato una bassa tossicità dell' Octreotide LAR rispetto ad altre terapie tra cui PRRT.

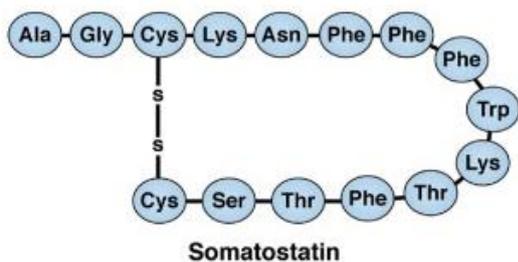
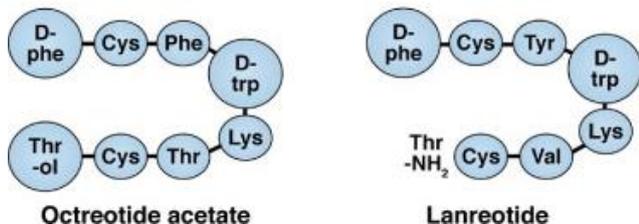


Figura 16: Analoghi della Somatostatina



2.3. ANALOGHI DELLA SOMATOSTATINA: IMPIEGO DIAGNOSTICO

Le tecniche funzionali di medicina nucleare sfruttano l'espressione di sstr, in particolare il sottotipo 2 (sst-2), da parte delle cellule neuroendocrine. Queste tecniche sono rappresentate essenzialmente dalla scintigrafia con ^{111}In -pentetretotide con Octreoscan® (SES, somatostatin receptor scintigraphy) e da metodiche PET (positron emission tomography) più innovative con peptidi analoghi della somatostatina marcati con ^{68}Ga ³⁸.

Scintigrafia recettoriale con ^{111}In -pentetretotide (OctreoScan®)

Il razionale della SRS consiste nell'internalizzazione recettore-mediata del complesso recettore-radioanalogo e la sua ritenzione nel citoplasma. ^{111}In -pentetretotide o OctreoScan® rappresenta il primo radiofarmaco approvato per l'imaging delle NEN ed è il radiofarmaco comunemente usato.

Per un esame accurato e riproducibile, è necessario attenersi ai protocolli riportati nelle più importanti linee guida riguardanti la preparazione e la somministrazione del radiofarmaco e la modalità di acquisizione delle immagini. È importante ricordare che i protocolli comunemente adottati (con immagini acquisite 4 e 24 ore e, se necessario, 48 ore dopo l'iniezione) devono comprendere immagini tomografiche SPECT (single photon emission computed tomography), preferibilmente dopo 24 ore, al fine di avere una sensibilità diagnostica idonea^{39,40}.

Nell'esame normale si nota la distribuzione fisiologica del radiofarmaco nella milza, nel fegato e nei reni, insieme ad una variabile visualizzazione di ipofisi, tiroide, vescica e intestino.

Le immagini devono essere interpretate alla luce delle informazioni cliniche, anche se, in generale, le aree che mostrano una captazione superiore alla normale distribuzione nel fegato sano sono

classificate come positive (**Figura 17**). Tuttavia nella valutazione di una scansione è importante considerare le possibili fonti di false positività. I reperti falsi positivi sono ascrivibili principalmente ad aree di flogosi (come gli esiti di radioterapia, le sequele di un recente intervento chirurgico o la presenza di focolaio infiammatorio in atto), all'accumulo fisiologico del radiofarmaco nella colecisti o alla contaminazione cutanea da parte delle urine del paziente. Esiste anche la possibilità di una mancata visualizzazione delle lesioni dovuta a false negatività. Questo può essere legato a una tecnica d'esame non appropriata (ad esempio per basse quantità di radio farmaco somministrate o per l'assenza di immagini SPECT), ma più spesso riflette il limite di risoluzione intrinseco della metodica scintigrafica se le lesioni sono dimensioni circa centimetriche o inferiori. Seppure argomento controverso, va ricordato che esiste anche la possibilità dell'inibizione competitiva della captazione tumorale da parte dell'analogo

“freddo” (l'analogo della somatostatina non marcato somministrato per via parenterale) se somministrato in prossimità dell'esame. Per tali motivi si consiglia sempre di interrompere la terapia con analoghi freddi short-acting per almeno 48 ore e le formulazioni long-acting per almeno 3-4 settimane dall'esame. Infine tra le altre cause di false negatività bisogna considerare la mancata sovra-espressione recettoriale, come ad esempio negli insulinomi benigni o nelle neoplasie differenziate (**Figura 18**).

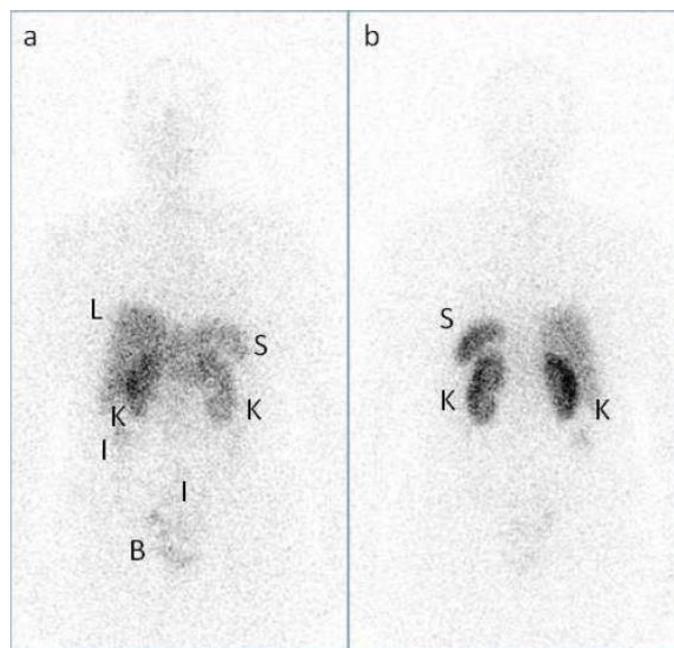


Figura 17: Normale distribuzione del $m\ 111\text{In}$ -pentetreotide anterior (a) and posteriore (b) whole-body images, 24 hrs p.i con fisiologica visualizzazione del fegato (L), kidneys (K), spleen (S), and of the activity eliminated in the intestine (I) and urinary bladder (B)

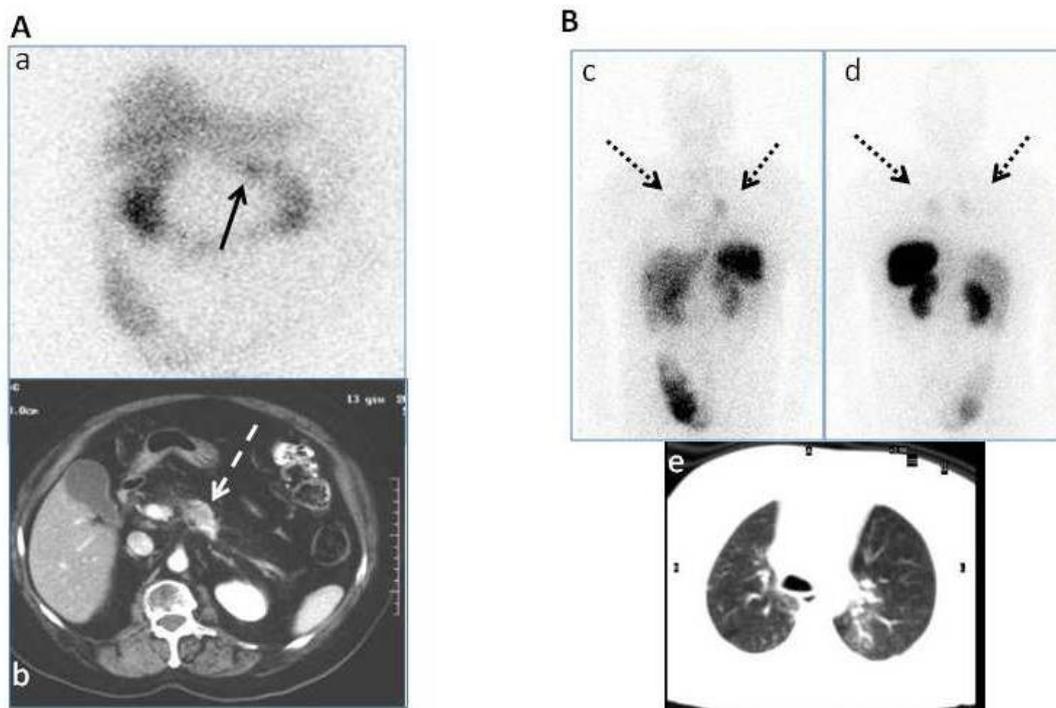


Figura 18: Panel A - Pancreatic NEN visualized by ^{111}In -pentetreotide scintigraphy. Planar abdominal imaging, 24 hrs p.i. (a) depicts the primary tumor in the pancreatic head (solid arrow), clearly visible in the corresponding CT slice (broken arrow). Panel B – Bronchial NEN that previously underwent radiotherapy. A typical non-specific, post-actinic bilateral symmetrical image (dotted arrows) is visible on the anterior (c) and posterior (d) images collected 24 hrs p.i. The corresponding CT scan (e) shows bilateral diffuse ground glass opacities related to the previous external irradiation

La sensibilità della SRS nelle GEP NEN varia dal 75 al 100% (92-97). Data la loro eterogeneità, le NEN in generale possono essere classificate in tumori ad alta sensibilità (sensibilità della scintigrafia recettoriale $> 75\%$), come ad esempio le forme ipofisarie, GEP, i paragangliomi, i carcinomi polmonari a piccole cellule, e tumori a sensibilità intermedie (sensibilità della scintigrafia recettoriale compresa tra 40 e 75%), come l'insulinoma, il carcinoma midollare della tiroide, e il feocromocitoma⁴¹.

PET con ^{68}Ga -peptidi

Per ovviare ai limiti di risoluzione spaziale della metodica scintigrafica, fin dall'inizio degli anni 2000 è stata introdotta la PET con analoghi della somatostatina, i DOTA-peptidi, marcati con l'emettitore di positroni Gallio-68. I tre analoghi più comunemente usati sono DOTA-Tyr3-octreotide (DOTA-TOC), DOTA-Tyr3-octreotate (DOTA-TATE) e DOTA-Nal3-octreotide (DOTA-NOC). Questi analoghi mantengono un profilo di affinità octreotide-simile e, in particolare, un'elevata affinità per sstr-2. DOTA-NOC possiede anche un'affinità rilevante per sstr-3⁴².

Nonostante queste differenze di affinità recettoriale, una netta superiorità di un composto rispetto agli altri non è stata mai dimostrata nella pratica clinica.

La PET/TC con ^{68}Ga -DOTA-peptidi offre diversi vantaggi rispetto alla tecnica scintigrafica convenzionale, soprattutto la maggior risoluzione spaziale, che consente un'eccellente qualità delle immagini con il rilevamento di lesioni inferiori ai 10 millimetri. Inoltre la rapidità dell'esame, che si espleta in un giorno solo e la possibilità di una quantificazione standardizzata delle aree di captazione mediante il parametro SUV (standardized uptake value), offrono ulteriori vantaggi per la miglior gestione del paziente. Queste caratteristiche hanno reso la PET/TC con ^{68}Ga -DOTA-peptidi un esame che è sempre più utilizzato nei centri specializzati^{43,44}.

Così come per la scintigrafia convenzionale, per ottenere un esame accurato e riproducibile, è necessario attenersi ai protocolli riportati nelle linee guida riguardanti la preparazione e la somministrazione del radiofarmaco e la tecnica di acquisizione delle immagini⁴⁵.

Come nel caso della scintigrafia convenzionale, un esame normale mostra la fisiologica visualizzazione di fegato, milza, ipofisi, tiroide, e reni, così come di surreni, ghiandole salivari, parete dello stomaco e intestino(**Figura 19**).

L'interpretazione clinica delle immagini è più facile rispetto alla scintigrafia recettoriale, grazie alla migliore risoluzione spaziale e alla co-registrazione di immagini TC. Anche in questo caso, le aree che mostrano un accumulo del radiopeptide superiore a quella del fegato sano sono considerate come positive, e quindi indicanti la presenza di una lesione tumorale neuroendocrina.

Nel caso della PET recettoriale è necessario precisare che l'interpretazione dei reperti a carico del pancreas richiede la massima prudenza, poiché questa ghiandola può presentare un grado variabile di accumulo fisiologico o para-fisiologico di ^{68}Ga -DOTA-peptide, sia a carattere diffuso che focale, fino al 70% dei casi. Questi reperti devono essere correttamente interpretati alla luce delle indagini morfologiche, giacché il pancreas e il duodeno sono sedi frequenti di NET. Vari studi hanno, infatti, dimostrato una captazione pancreatica localizzata preferenzialmente a livello della testa, in particolare nel processo uncinato, verosimilmente legata alla ricca presenza nel processo uncinato di cellule contenenti polipeptide pancreatico, che sovra-esprimono i sstr e che rappresenta quindi una fonte di false positività⁴⁶. Va inoltre ricordato che anche lesioni pancreatiche benigne, quali l'iperplasia, possono risultare positive all'imaging recettoriale (**Figura 20,21**)⁴⁷.

Altri possibili falsi positivi sono legati a fenomeni infiammatori con infiltrato linfoide (quali esiti attinici), alla presenza di piccole milze accessorie o a contaminazione urinaria.

Come per la scintigrafia convenzionale, la terapia con gli analoghi "freddi" della somatostatina può potenzialmente interferire con la captazione di ^{68}Ga -DOTA-peptidi e, anche se non c'è consenso su questo tema, si consiglia di mantenere un'opportuna distanza dalla somministrazione del farmaco "freddo" (vedisopra)⁴⁸.

È stato dimostrato in un gruppo di 84 pazienti, 62 dei quali con GEP NEN, che la PET recettoriale ha una maggiore sensibilità (97%) rispetto alla TC (61%) e alla scintigrafia convenzionale con ^{111}In -pentetreotide (52%) per la rilevazione di piccole lesioni linfonodali o scheletriche, o lesioni in sedi insolite, come mammella, utero e prostata^{49,50}.

Sebbene non tutti gli studi in letteratura abbiano rigorosamente confrontato la PET recettoriale con un protocollo scintigrafico tecnicamente adeguato, è verosimile che la PET con ^{68}Ga -DOTA-peptidi rimpiazzerà completamente la scintigrafia convenzionale nel prossimo futuro.

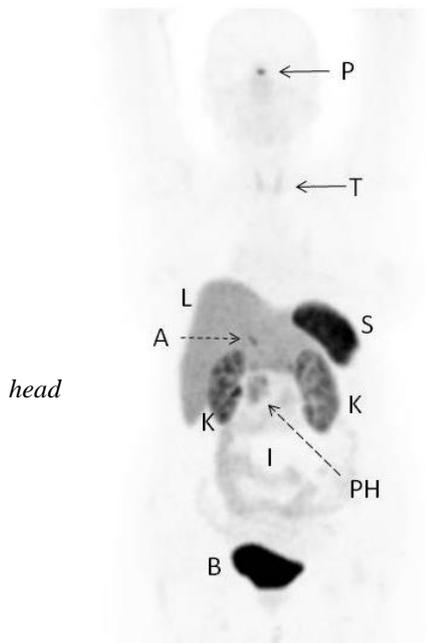


Figura 19: Normal distribution of ^{68}Ga -DOTATOC (MIP, maximum intensity projection image) with physiological visualization of 2 the pituitary (P), thyroid (T), liver (L), adrenals (A), kidneys (K), spleen (S), pancreatic (PH) and of the activity eliminated in the intestine (I) and urinary bladder (B).

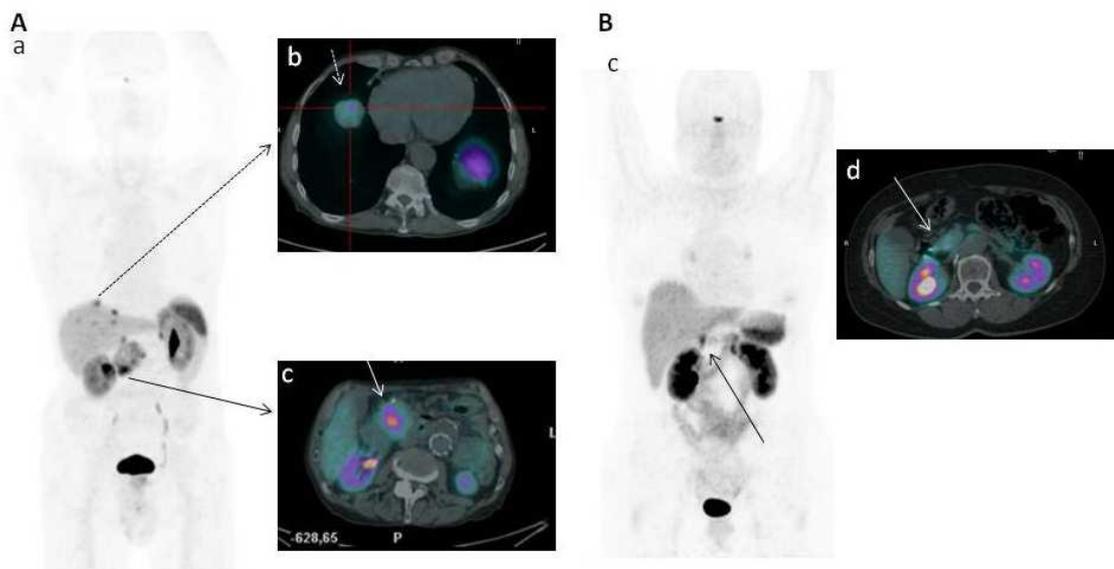


Figura 20: Panel A- ^{68}Ga -DOTATOC PET/CT in a patient with a pancreatic.

Parametri	⁶⁸ Ga PET (%)	¹¹¹ SPECT (%)	CT (%)
Sensibilità	97	52	61
Specificità	92	92	71
Accuratezza	96	58	63

Tabella 2: Tabella riassuntiva

2.4.IMPIEGO DEI PEPTIDI RADIOMARCATI NELLA TERAPIA MEDICO-NUCLEARE DEI NET.

Alla luce degli ottimi risultati ottenuti con l'uso di OctreoScan® nella localizzazione dei tumori neuroendocrini, il successivo passo logico è stato quello di utilizzare gli analoghi radiomarcanti della somatostatina per effettuare una terapia radio metabolica antitumorale.

Dal momento che viene sfruttata la presenza del recettore della somatostatina per veicolare la radioattività all'interno della cellula neoplastica, tale terapia è stata chiamata terapia radiorecettoriale (o secondo l'acronimo inglese PRRT).

Da un punto di vista generale, la PRRT con analoghi radiomarcanti della somatostatina consiste nella somministrazione sistemica del radiopeptide in cicli successivi fino al raggiungimento di un'attività totale in grado di irradiare efficacemente il tumore, ma senza superare la soglia di dose di ca. 25 Gy ai reni e di 2 Gy al midollo osseo, che sono gli organi dose-limitanti come dimostrato dagli studi di dosimetria. Subito prima, durante e successivamente alla somministrazione del radiofarmaco viene eseguita un'abbondante idratazione del paziente attraverso l'infusione di soluzione fisiologica contenete aminoacidi carichi positivamente al fine di proteggere il parenchima renale. I cicli sono intervallati da un periodo di almeno 6-9 settimane, necessarie a recuperare un'eventuale tossicità ematologica.

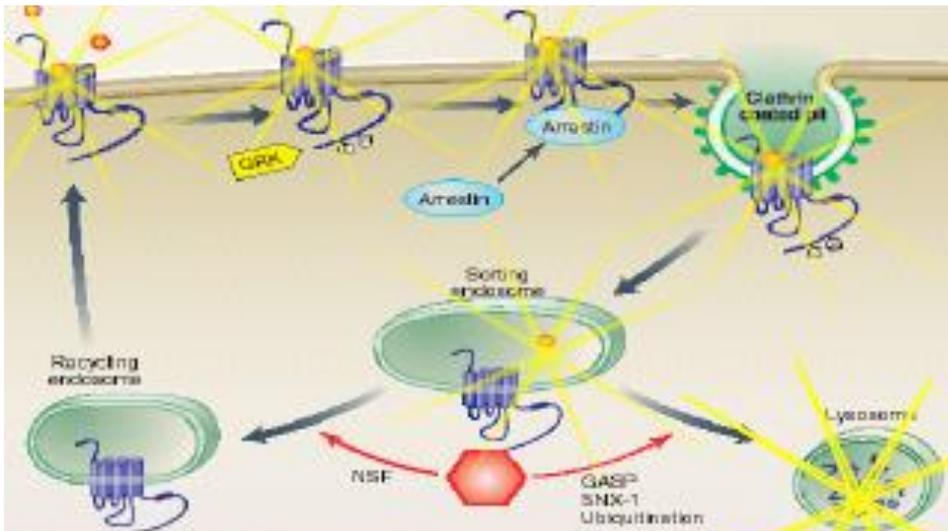


Figura 21: Schematic representation of intracellular routing of G protein-coupled receptors (GPCRs) after agonist activation. After agonist activation, GPCRs are phosphorylated (involving protein kinase A, protein kinase C, and GPCR kinases) and internalized, probably via the formation of clathrin-coated pits (involving β -arrestins). The internalized receptors are then directed to endosomes in which they are dephosphorylated. Subsequently, the receptors are recycled back to the plasma membrane as functional (resensitized) receptors. GPCR down-regulation results from lysosomal degradation of intracellular receptors, decreased mRNA and receptor protein synthesis, as well as increased degradation via mobilization of membrane receptors directly to the lysosomal compartment. L, Ligand; PP, phosphate group. [Adapted from Ref. 49.]

Dal momento che il radiofarmaco utilizzato per la PRRT è il risultato della radio marcatura tra un analogo della somatostatina legato ad un chelante ed un radionuclide, a partire dagli anni '90 ne sono stati sperimentati diversi che differivano in una o più di questi componenti.

In tab 2 e tab 3 sono elencate le caratteristiche dei principali radionuclidi e analoghi della somatostatina utilizzati in terapia radiometabolica.

Radio nuclid	T _{1/2} (gg)	E _{max} b (MeV)	R _{max} (mm)	E _γ (keV)
¹³¹ I	8.	0.8	3.	360 - 630 -
¹⁸⁶ Re	3.	1.0	4.	137 -
⁹⁰Y	2.	2.2	11.	-
¹¹¹ In	2.	0.0027	0.0025	173 - 87% 247 - 94%
¹⁷⁷Lu	6.	0.5	2.	113 - 208 -

Tabella 3: caratteristiche fisiche dei radionuclidi.

Tabella 4: profilo di affinità (IC50) per i recettori umani *ssr1- ssr5* di una serie di analoghi della somatostatina.

Peptide	sst ₁	sst ₂	sst ₃	sst ₄	sst ₅
Somatostatin-28	5.2 ± 0.3 (19)	2.7 ± 0.3 (19)	7.7 ± 0.9 (15)	5.6 ± 0.4 (19)	4.0 ± 0.3 (19)
Octreotide	>10,000 (5)	2.0 ± 0.7 (5)	187 ± 55 (3)	>1000 (4)	22 ± 6 (5)
DTPA-octreotide	>10,000 (6)	12 ± 2 (5)	376 ± 84 (5)	>1000 (5)	299 ± 50 (6)
In-DTPA-octreotide	>10,000 (5)	22 ± 3.6 (5)	182 ± 13 (5)	>1000 (5)	237 ± 52 (5)
DOTA-TOC	>10,000 (7)	14 ± 2.6 (6)	880 ± 324 (4)	>1000 (6)	393 ± 84 (6)
Y-DOTA-TOC	>10,000 (4)	11 ± 1.7 (6)	389 ± 135 (5)	>10,000 (5)	114 ± 29 (5)
DOTA-LAN	>10,000 (7)	26 ± 3.4 (6)	771 ± 229 (6)	>10,000 (4)	73 ± 12 (6)
Y-DOTA-LAN	>10,000 (3)	23 ± 5 (4)	290 ± 105 (4)	>10,000 (4)	16 ± 3.4 (4)
DOTA-OC	>10,000 (3)	14 ± 3 (4)	27 ± 9 (4)	>1000 (4)	103 ± 39 (3)
Y-DOTA-OC	>10,000 (5)	20 ± 2 (5)	27 ± 8 (5)	>10,000 (4)	57 ± 22 (4)
Ga-DOTA-TOC	>10,000 (6)	2.5 ± 0.5 (7)	613 ± 140 (7)	>1000 (6)	73 ± 21 (6)
Ga-DOTA-OC	>10,000 (3)	7.3 ± 1.9 (4)	120 ± 45 (4)	>1000 (3)	60 ± 14 (4)
DTPA-[Tyr ³]octreotate	>10,000 (4)	3.9 ± 1 (4)	>10,000 (4)	>1000 (4)	>1000 (4)
DOTA-[Tyr ³]octreotate	>10,000 (3)	1.5 ± 0.4 (3)	>1000 (3)	453 ± 176 (3)	547 ± 160 (3)
In-DTPA-[Tyr ³]octreotate	>10,000 (3)	1.3 ± 0.2 (3)	>10,000 (3)	433 ± 16 (3)	>1000 (3)
Y-DOTA-[Tyr ³]octreotate	>10,000 (3)	1.6 ± 0.4 (3)	>1000 (3)	523 ± 239 (3)	187 ± 50 (3)
Ga-DOTA-[Tyr ³]octreotate	>10,000 (3)	0.2 ± 0.04 (3)	>1000 (3)	300 ± 140 (3)	377 ± 18 (3)

All values are half maximal inhibitory concentration (IC50) ± SEM in nM. The numbers of experiments are in parentheses.

Le prime esperienze di terapia radiometabolica recettoriale risalgono agli inizi degli anni '90, quando si è pensato di sfruttare a scopo terapeutico le emissioni ad alta energia e a brevissimo raggio d'azione degli elettroni Auger e quelle di conversione del ¹¹¹Indio, l'isotopo che viene utilizzato abitualmente in diagnostica recettoriale.

Sono state condotte sperimentazioni terapeutiche, che prevedevano la somministrazione di elevate attività di ¹¹¹In-pentetreotide (6.7 GBq) in pazienti affetti da tumori neuroendocrini. Nonostante gli ottimi presupposti, sono state ottenute solo sporadiche risposte obiettive (2.5% di risposte parziali). Ciò è imputabile al fatto che l'efficienza della radiazione degli isotopi Auger-emettitori è subordinata alla strettissima vicinanza al DNA e la captazione di questo radio farmaco a livello nucleare è sicuramente poco significativa.⁵¹

In seguito è stato individuato un nuovo radiofarmaco, chiamato ⁹⁰Y-DOTATOC o per esteso [⁹⁰Y-DOTA0,Tyr3]-octreotide, composto da un analogo della somatostatina, il [Tyr3]octreotide, che ha una maggior affinità per il sottotipo 2 del recettore della somatostatina, unito al chelante DOTA (acido 1,4,7,10-tetraazaciclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacetico), al posto del DTPA, per assicurare un legame più stabile con l'isotopo Yttrio-90 (⁹⁰Y).

L'⁹⁰Y è un isotopo beta-emettitore puro ad alta energia, dotato di energia e raggio d'azione più idoneo alla terapia radiometabolica recettoriale (energia massima 2.27 MeV, penetrazione tissutale di 12 mm, emivita 64 ore) in quanto il tragitto di alcuni millimetri degli elettroni beta dà la

possibilità di irradiare non solo le cellule dotate di recettore, ma anche quelle vicine che eventualmente ne fossero sprovviste, con il meccanismo del cosiddetto “fuoco incrociato” (CROSS-FIRE). Per contro, la caratteristica di essere privo di un’emissione gamma, rende più complicata la realizzazione di calcoli dosimetrici.⁵²

I primi studi condotti da Waldherr C. et al. in pazienti con tumori neuroendocrini GEP, hanno evidenziato una risposta globale del 24% in pazienti trattati con un’attività cumulativa, rispettivamente, di 6 GBq (160 mCi)/m² e 7.4 GBq (200 mCi)/m², suddivisi in quattro somministrazioni. Uno studio successivo dello stesso gruppo ha dimostrato un tasso di risposta completa e parziale nel 33% di 36 pazienti trattati con un’attività di 7.4 GBq (200 mCi)/m² in due cicli.⁵²

Nello studio di Bodei L., Paganelli G. et al. (IEO –Milano) condotto su 40 pazienti affetti da tumore positivo per i recettori della somatostatina, di cui 21 con tumori GEP, il 29% di questi ultimi ha dimostrato una regressione di malattia dopo la somministrazione di un’attività cumulativa compresa tra 5.9-11.1 GBq (160-300 mCi) suddivisa in due cicli. La durata media della risposta è stata di 9 mesi.⁵³

Chinol, Paganelli et al. (IEO – Milano) in uno studio condotto su 87 pazienti, trattati con dosi scalari di [⁹⁰Y-DOTA⁰,Tyr³]-octreotide, hanno dimostrato una risposta parziale e completa nei 28% dei pazienti arruolati. Non si sono verificate reazioni avverse fino alla somministrazione di una dose cumulativa di 5.6 GBq (150 mCi) per ciclo; una tossicità ematologica reversibile di grado 3 è stata descritta nel 43% dei pazienti somministrati con una attività di 5.2 GBq (140 mCi), identificata quindi come attività massima tollerabile. Nessun paziente ha sviluppato invece una nefropatia acuta.

(Tabella 5)

Tumor Responses in Patients with GEP Tumors and Treated with Various Radiolabeled Somatostatin Analogs

Center (reference)	Ligand	No. of patients	Tumor response					
			CR*	PR*	MR*	SD*	PD*	CR + PR†
Rotterdam (2)	[¹¹¹ In-DTPA ⁰]octreotide	26	0	0	5 (19)	11 (42)	10 (38)	0
New Orleans (3)	[¹¹¹ In-DTPA ⁰]octreotide	26	0	2 (8)	NA	21 (81)	3 (12)	8
Milan (10)	[⁹⁰ Y-DOTA ⁰ , Tyr ³]octreotide	21	0	6 (29)	NA	11 (52)	4 (19)	29
Basel (5,6)	[⁹⁰ Y-DOTA ⁰ , Tyr ³]octreotide	74	3 (4)	15 (20)	NA	48 (65)	8 (11)	24
Basel (7)	[⁹⁰ Y-DOTA ⁰ , Tyr ³]octreotide	33	2 (6)	9 (27)	NA	19 (57)	3 (9)	33
Rotterdam (11)	[⁹⁰ Y-DOTA ⁰ , Tyr ³]octreotide	54	0	4 (7)	7 (13)	33 (61)	10 (19)	7
Rotterdam (18)	[¹⁷⁷ Lu-DOTA ⁰ , Tyr ³]octreotate	76	1 (1)	22 (29)	9 (12)	30 (39)	14 (18)	30

*Reported as number (percentage) of patients. SD = stable disease; NA = not available.
†Reported as percentage of patients.

Tabella 5: Forrer F et al. Neuroendocrine tumors. Peptide receptor radionuclide therapy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2007 Mar;21(1):111-29. Review.

Un altro trial multicentrico di fase I che ha visto coinvolti Olanda, Belgio e Florida, ha studiato 60 pazienti somministrati con attività scalari fino a 14.8 GBq in 4 cicli o fino a 9.3 GBq in un'unica somministrazione, senza mai raggiungere l'attività massima tollerabile. La dose cumulativa ai reni è stata limitata a 27 Gy. Tutti i pazienti hanno ricevuto la protezione renale con infusione di aminoacidi. Quattro su 54 pazienti (8%) che hanno ricevuto l'attività massima hanno ottenuto una risposta parziale, 7 (13%) una risposta minima (RM). La mediana di progressione nei 44 pazienti con malattia stabile, risposta minima o risposta parziale, è stata di 30 mesi. Tre pazienti hanno manifestato tossicità dose limitante: un paziente ha presentato tossicità epatica, uno tossicità piastrinica di grado 4 ($<25 \times 10^9/L$) e l'ultimo una sindrome mielodisplasica.

Continuando a "percorrere" la storia dello sviluppo della terapia radio recettoriale, vediamo come in seguito si è pensato di sfruttare le caratteristiche di un'altro radionuclide: il Lutezio-177 (^{177}Lu), un β -emettitore a media energia con una energia massima di 0,5 MeV, una penetrazione massima nel tessuto di 2 mm ed emivita di 6,7 giorni. Il ^{177}Lu emette anche raggi γ a bassa energia a 208 e 113 keV con il 10% e il 6% di abbondanza, rispettivamente, che consente pertanto di eseguire agevolmente immagini scintigrafiche post terapia ed eventualmente la successiva dosimetria.⁵⁴

Dato il contemporaneo sviluppo di nuovi analoghi della somatostatina con un'affinità sempre maggiore per SSR2 (tra cui i principali sono il [DOTA0, Tyr³] octreotide o DOTATOC, il [DOTA0, Tyr³] octreotate o DOTATATE e il [DOTA⁰-1-Nal³] octreotide o DOTANOC), si è cercato inizialmente di identificare quale fosse l'analogo della somatostatina più idoneo ad essere marcato con il ^{177}Lu . Tra questi, è risultato di maggior interesse il composto ^{177}Lu -DOTATATE in quanto considerato in grado di conferire una più elevata dose assorbita al tumore, rispetto agli altri analoghi della somatostatina marcati con ^{177}Lu , senza un corrispettivo significativo aumento della dose assorbita agli organi dose-limitanti (rene e midollo osseo, e in parte anche milza e fegato).

Il DOTATATE è un analogo della somatostatina che differisce dal DOTATOC per il residuo aminoacidico C-terminale, treoninolo, che viene rimpiazzato con un residuo di treonina naturale. Tale molecola è dotata di un'affinità 6-9 volte superiore per il recettore sst2, con perdita di affinità per gli altri sottotipi. Una volta marcata con il chelante DOTA, questa nuova molecola mantiene un'elevatissima affinità per il recettore sst2 (6 volte superiore al [DOTA0,Tyr3]-octreotide).

Gli studi sperimentali condotti sull'utilizzo del ^{177}Lu -DOTATATE hanno prodotto complessivamente risultati incoraggianti, tra questi, il primo studio di fase II pubblicato è stato quello del gruppo olandese di Kwekkemboom, condotto dal 2000 al 2006, eseguito su 310 pazienti affetti da tumori neuroendocrini prevalentemente a partenza pancreatica e di origine sconosciuta. I pazienti sono stati trattati con un'attività di 3.7, 5.6 o 7.4 GBq (100, 150 o 200 mCi) di ^{177}Lu -DOTA0,Tyr3]-octreotate, ad intervalli di 6-10 settimane, fino ad un'attività cumulativa di 27.8-29.6 GBq (750-800 mCi) con dose corrispondente al midollo osseo pari a 2 Gy. Nei casi in cui gli studi

dosimetrici hanno indicato una dose radiante a livello renale potenzialmente superiore ai 23 Gy, la dose cumulativa è stata ridotta da 700 a 500mCi.

La risposta obiettiva globale, intesa come somma delle percentuali di risposta completa (CR), risposta parziale (PR) e minore (MR) è stata pari a 46%. Una piccola percentuale di pazienti che, alla seconda valutazione dopo la terapia, mostravano stabilità di malattia (4%) o risposta minore (5%), ha ottenuto una ulteriore risposta nei 6 e 12 mesi successivi di follow-up.

La PFS (sopravvivenza libera da progressione) mediana nei 310 GEP-NET è stata di 33 mesi, mentre la sopravvivenza globale (OS) mediana è stata di 46 mesi (media di follow-up 19 mesi; 101 deceduti).

I tassi di risposta tumorale e la sopravvivenza libera da progressione sono apparsi favorevoli rispetto alla chemioterapia tradizionale. Infatti, rispetto ai controlli storici, vi è un vantaggio in OS dal momento della diagnosi di diversi anni⁵⁵.

Per quanto riguarda i tumori neuroendocrini del polmone ad oggi non esistono in letteratura studi specifici di terapia radiorecettoriale. I pochi dati relativi a NET polmonari sono riportati solo nel contesto di studi effettuati su popolazioni affette da tumori neuroendocrini derivanti da molteplici sedi anatomiche.⁵⁴

In considerazione di quanto detto precedentemente, appare sicuramente utile poter disporre di studi specifici di valutazione dell'efficacia di trattamento con PRRT in casistiche selezionate di NETs polmonari, date le particolari caratteristiche istopatologiche e biologiche eterogenee e la scarsa risposta ai trattamenti convenzionali.

CAPITOLO 3

PARTE SPERIMENTALE: TERAPIA RADIORECCETTORIALE CON ¹⁷⁷Lu-DOTATATE IN PAZIENTI CON TUMORE NEUROENDOCRINO POLMONARE

3.1 MATERIALI E METODI

I pazienti sono stati reclutati in base ai seguenti criteri di inclusione:

- (a) età superiore a 18 anni;
- (b) conferma istologica di tumore neuroendocrino polmonare;
- (c) captazione a livello tumorale nelle immagini diagnostiche con OctreoScan® o PET con ⁶⁸ Ga-DOTA-peptidi, con intensità di captazione pari o superiore a quella del parenchima epatico sano, secondo la nota scala di Rotterdam⁵⁶;
- (d) parametri ematologici, epatici e renali conservati (GB >2500/μl, emoglobina >10 g/dl, PTL >100.000/μl, Bilirubina <2.5 mg/dl, Creatinina <2 mg/dl);
- (e) malattia valutabile mediante l'imaging convenzionale (TC, RM);
- (f) documentazione radiologica di progressione di malattia (aumento inequivocabile della dimensione delle lesioni) nei 12 mesi precedenti l'arruolamento, in accordo con i criteri SWOG⁵⁷;
- (g) assenza di trattamenti (chemioterapia, radioterapia, ecc.) per almeno un mese prima e due mesi dopo la somministrazione terapeutica di ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. Adeguata sospensione della terapia con Octreotide / lanreotide (≥4 settimane dalla preparazione lunga durata d'azione o >72 ore da quelli a breve durata d'azione);

Non erano ammessi allo studio pazienti con:

- (a) gravidanza / allattamento,
- (b) accertata invasione midollare in ogni grado;
- (c) scintigrafia negativa per recettori della somatostatina sstr2;
- (d) presenza di altra patologia neoplastica concomitante (escluso basaliomi "in situ" e tumori della cervice uterina trattati in modo radicale);
- (e) coefficiente di ECOG superiore a 2;
- (f) aspettativa di vita <6 mesi.

Tutti i pazienti hanno manifestato la volontà di sottoporsi al trattamento radiorecettoriale firmando il consenso informato scritto. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico dell'Area Vasta Romagna e dalle autorità regolatorie Italiane competenti. Lo studio è stato condotto in accordo con la Dichiarazione di Helsinki e le linee guida di buona pratica clinica (GCP).

Anche se l'esecuzione di una [¹⁸F]FDG PET non era un prerequisito per lo studio, quando questo esame era disponibile, è stato preso in considerazione come fattore prognostico.

Nel periodo, da Aprile 2008 a Giugno 2013, 46 pazienti consecutivi affetti da tumore neuroendocrino polmonare avanzato, sono stati arruolati per un trattamento radio recettoriale con [¹⁷⁷Lu-DOTA⁰, Tyr³]-octreotate (Lu-PRRT), presso l'IRCCS IRST di Meldola.

Scopo dello Studio

L'obiettivo principale di questo studio è stato quello di valutare il tasso di controllo della malattia (DCR) al trattamento radio recettoriale con Lu-PRRT in pazienti affetti da NET polmonare avanzato.

Gli obiettivi secondari prefissati sono stati la valutazione dell'intervallo libero da progressione, la sopravvivenza globale e l'eventuale correlazione tra TTF-1/[¹⁸F]FDG PET e risposta alla terapia.

Schema terapeutico

Per tutti i pazienti sono stati programmati 5 cicli di Lu-PRRT, distanziati tra loro circa ogni 6-8 settimane. L'attività somministrata di radiofarmaco prevista per ciclo è stata di 100 o 125 mCi di [¹⁷⁷Lu-DOTA⁰, Tyr³-octreotate, scelta sulla base della presenza o meno di fattori di rischio per lo sviluppo di tossicità renale e a carico del midollo osseo.

Le risposte sono state valutate secondo i criteri SWOG⁵² come segue:

- Risposta Completa (RC): regressione completa in ogni lesione nota, per un periodo minimo di 2 mesi.
- Risposta Parziale (RP): regressione del 50%, o più, di ogni lesione neoplastica, per un periodo minimo di 2 mesi.
- Malattia Stabile (MS): nessuna variazione in tutte le lesioni neoplastiche, per un periodo minimo di 2 mesi, o riduzione di alcune lesioni al di sotto del 50%.
- Malattia in Progressione (MP): aumento del 25% o più in ogni lesione neoplastica, per un periodo minimo di 2 mesi.

Preparazione del radiopeptide

Il DOTATATE è stato acquistato presso la ditta PICHEM (Graz, Austria). Mentre il radioisotopo ^{177}Lu è stato acquistato dalla ditta PerkinElmer (Waltham, MA, USA). Per la preparazione del prodotto finale è stata seguita la procedura pubblicata⁵⁸.

Somministrazione

Il radiofarmaco è stato somministrato per via endovenosa, lentamente nell'arco di 30 minuti. Allo scopo di proteggere il parenchima renale il paziente è stato pretrattato con una infusione di amminoacidi costituita da Lisina e soluzione fisiologica (70 MEq di Lys in 500 ml). Sono stati infusi 250 mL 30 minuti prima, 250 mL contemporaneamente all'infusione della terapia e altri 500 mL a partire da tre ore dalla fine della terapia.

Imaging

Grazie all'emissione γ del radionuclide ^{177}Lu (113 e 208 keV, con abbondanza molto limitata, rispettivamente pari a 6% e 11%) è stato possibile monitorare la biodistribuzione del radiofarmaco nei pazienti durante la fase terapeutica. Pertanto 24 ore dopo la somministrazione di ^{177}Lu -DOTATATE sono state acquisite immagini whole-body antero-posteriori, mediante una γ camera a testata doppia (Infinia Hawkeye, GE Healthcare – Wisconsin, USA) con collimatore per bassa energia ed alta risoluzione (LEHR), finestra energetica impostata in corrispondenza dei picchi di emissione γ di ^{177}Lu e matrice 256x1024. In pazienti selezionati, per meglio documentare la captazione tumorale, sono state acquisite immagini tomoscintigrafiche SPECT (64 projections, 360°) ricostruite nelle sezioni transassiali, sagittali e coronali.

I risultati sono stati correlati con la storia clinica (istologia, esami convenzionali precedenti). La stadiazione tumorale (imaging anatomico del torace, addome, pelvi ed eventuali ulteriori siti noti di malattia sia con multifasica TC e / o RMN) è stata eseguita a 3, 6, 12, 18 e 24 mesi dopo la fine del trattamento e ogni 6-12 mesi successivamente. A sei mesi è stata inoltre ripetuta l'indagine scintigrafica di stadiazione (Octreoscan o ^{68}Ga -DOTATOC PET) al fine di rivalutare funzionalmente lo stato dei recettori SSTR2.

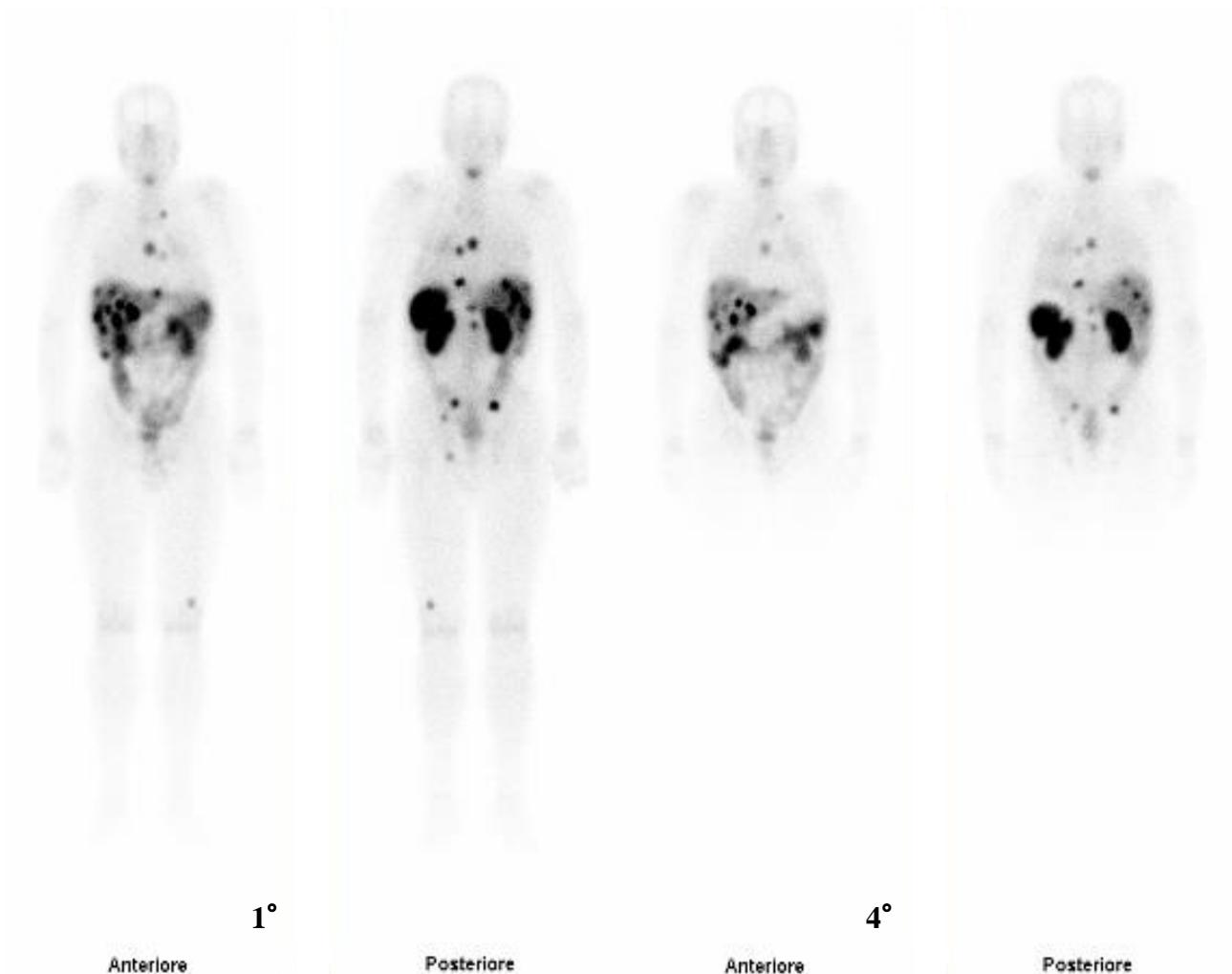


Figura 22:immagine scintigrafica whole-body antero-posteriore eseguita 24 ore dopo l'iniezione del radiofarmaco.

Analisi statistica

Il DCR, obiettivo principale dello studio, è definito come la percentuale di pazienti che hanno raggiunto risposta completa (CR), risposta parziale (PR) e malattia stabile (SD) rispetto al totale dei pazienti trattati, secondo i criteri SWOG.

La PFS è stata definita come il tempo intercorso dall'inizio della Lu-PRRT alla data della prima osservazione di progressione di malattia documentata radiologicamente o fino al decesso avvenuto per qualsiasi causa. I pazienti che non hanno manifestato progressione al momento della analisi dei dati, sono stati "censorizzati" alla loro ultima data di valutazione strumentale del tumore.

L'OS è stata definita come il tempo intercorso dall'inizio del trattamento fino alla morte avvenuta per qualsiasi causa. Per soggetti che non erano più in vita al momento della valutazione definitiva o che erano stati persi al follow-up, l'OS è stata calcolata fino all'ultimo dato disponibile che ne dimostrava la sopravvivenza.

La tossicità è stata valutata secondo i criteri NCI CTC AE, versione 3.0. I pazienti che hanno interrotto la terapia prima del 3 ° ciclo, per qualsiasi motivo diverso dalla PD sono stati considerati non valutabili per l'efficacia del trattamento, ma sono stati comunque inclusi nell'analisi di sicurezza.

Media, mediana, deviazione standard, valore minimo e massimo sono stati riportati per variabili continue, mentre calcoli e proporzioni sono state riportate per variabili non continue. Il DCR è stato calcolato con un intervallo di confidenza esatto al 95% usando metodi standard basati su una distribuzione binomiale. Ai fini del calcolo ogni paziente è stato assegnato a una delle seguenti categorie: risposta completa; risposta parziale; malattia stabile; malattia in progressione; morte precoce per malattia maligna; morte precoce per tossicità; morte precoce per fallimento di risposta al trattamento; dati non pervenuti.

La PFS e l'OS ed i loro 95% CI sono state descritte usando il metodo delle curve di Kaplan-Meier e comparate con il logrank test.

I valori di P sono stati basati su test binomiali e le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software statistico SAS (versione 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA).

Analisi delle caratteristiche della popolazione dei pazienti:

Complessivamente 46 pazienti (26 uomini e 20 donne) hanno completato il trattamento e sono stati considerati nell'analisi per la valutazione dell'efficacia e seguiti con un follow-up mediano di 33 mesi. L'età mediana è stata di 64 anni (range 40-79 aa).

Dal punto di vista istopatologico, la popolazione era così costituita: 15 pazienti erano affetti da carcinoide tipico (33%), 19 da carcinoide atipico (41%), 10 da carcinoma neuroendocrino a grandi cellule (22%), mentre per 2 pazienti non è stato determinato il tipo istologico (4%).

Ventinueve pazienti (63%) erano stati sottoposti a intervento chirurgico prima della Lu-PRRT, 38 (83%) avevano ricevuto analoghi della somatostatina a lunga durata d'azione e 24 (52%) erano stati sottoposti precedentemente a chemioterapia. Nove (19%) pazienti erano stati precedentemente trattati con terapia radiorecettoriale con ⁹⁰Y-DOTATOC (Y-PRRT) prima dell'arruolamento per la Lu-PRRT. Sette (15%) pazienti avevano ricevuto altri trattamenti come l'interferone (1 paziente), la terapia locoregionale delle metastasi epatiche (3 pazienti) e radioterapia palliativa (3 pazienti). Due pazienti (4%) non erano stati sottoposti ad alcun trattamento precedente.

La PET con FDG era disponibile in 41/46 pazienti (89%), di cui 27 (65%) erano risultati [¹⁸F]FDG PET positivi e 14 (35%) erano [¹⁸F]FDG PET negativi.

In **appendice I** sono illustrate le caratteristiche dei pazienti arruolati nello studio.

CARATTERISTICHE	POPOLAZIONE TOTALE (N=46)	TIPICO (N=15)	ATIPICO (N=19)	CARCINOMA A GRADI CELLULE (N=10)
<u>Attività somministrata mCi (range)</u>	564	573	564	574
<u>Genere</u>				
Uomini	26	8	9	7
Donne	20	7	10	3
<u>[¹⁸F]FDG PET PET</u>				
Disponibili	41	14	15	10
Positiva	27	4	12	9
Negativa	14	10	3	1
<u>TTF-1</u>				
Positivo	30	3	15	10
negativo	16	12	4	0
TTF-1 pos/[¹⁸F]FDG PET pos	24	2	11	9
TTF-1 neg/[¹⁸F]FDG PET neg	13	10	3	0
TTF-1 pos/[¹⁸F]FDG PET neg	1	0	0	1
TTF-1 neg/[¹⁸F]FDG PET pos	3	2	1	0
<u>Baseline tumor status</u>				
PD	46	15	19	10
<u>Indice captazione WB- primo trattamento</u>				
Grado 2	9	0	1	8
Grado 3	14	3	10	0
Grado 4	23	12	8	2
<u>Estensione di malattia</u>				
Localizzazione singola	16	5	5	6
Localizzazione multiple sincrone	28	10	14	4
<u>Sindrome da Carcinoide</u>				
Si	8	4	4	1
No	38	11	15	9
<u>Trattamenti precedenti</u>				
Nessuno	2	2	0	0
Chirurgia	29	10	12	6
SSA	38	12	17	7
Chemioterapia	24	3	10	9
PRRT	9	3	6	0
TACE	3	0	3	0
RT	3	0	2	1
INF	1	0	1	0

3.2 RISULTATI

Dall'analisi dei dati si è osservato: CR in 1 caso, PR in 5 casi, SD in 17 casi e PD in 23 pazienti.

La durata mediana della risposta obiettiva è stata di 15 mesi (95% CI 3-60) e la PFS è stata di 14,2 mesi (95% CI 11,8-20,2) ed OS di 32,7 mesi (95% CI 21,1-68,9).

Per quanto riguarda i 15 pazienti affetti da carcinoma tipico si è stato osservato una sola CR, 4 PR, 7 SD e 3 PD; la durata mediana della risposta obiettiva è stata di 13 mesi (95% CI 3-44), mentre la PFS mediana è stata di 20 mesi (95% CI 11,8-26,8); l'OS è di 48,6 mesi (95% CI 26,0-n.r.).

Tra i 19 pazienti con carcinoma atipico, 9 pazienti hanno mostrato SD mentre 10 PD; la durata mediana della risposta obiettiva è stata di 18 mesi (95% CI 4-60), mentre la PFS mediana è stata di 15,7 mesi (95% CI 10,6-25,9) e l'OS è di 37 mesi (95% CI 18,7-68,9).

Nei 10 pazienti con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule sono state osservate 1 PR e 9 PD; la durata mediana della risposta è stata di 12 mesi (95% CI 0-12), mentre la PFS 8,1 mesi (95% CI 4,3-11,8) e l'OS è di 8,8 mesi (95% CI 5,0-21,1).

	POPOLAZIONE TOTALE (N=46)	TIPICO (N=15)	ATIPICO (N=19)	CARCINOMA A GRADI CELLULE (N=10)
CR	1	1	0	0
PR	5	4	0	1
SD	17	7	9	0
PD	23	3	10	9
Durata della risposta obiettiva (mediana)	15 mesi (95% CI 3-60)	13 mesi (95% CI 3-44)	18 mesi (95% CI 4-60)	12 mesi (95% CI 0-12)
PFS	14,2 mesi (95% CI 11,8-26,8)	20 mesi (95% CI 11,8-26,8)	15,7 mesi (95% CI 10,6-25,9)	8,1 mesi (95% CI 4,3-11,8)

Tabella 6: risposta obiettiva, DCR, mediana della durata della risposta. I dati si riferiscono alla popolazione globale ed ai tre gruppi istologici.

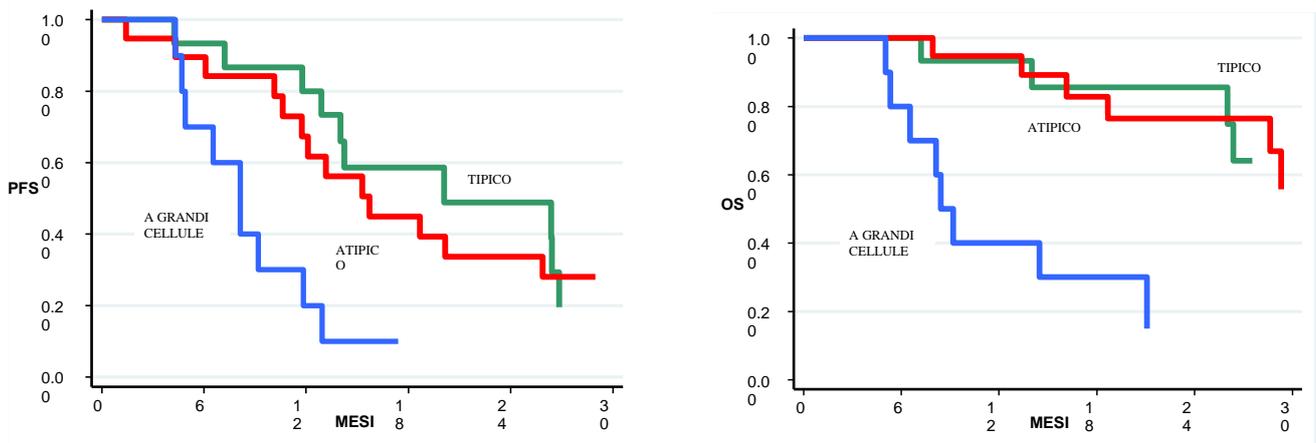


Figura 23: PFS e OS mediana nei tre gruppi istologici

La PET con [¹⁸F]FDG era disponibile in 41/46 pazienti. Di questi, 27 sono risultati positivi mentre 14 negativi. La PFS osservata nei pazienti [¹⁸F]FDG PET positivi è stata di 12,1 mesi (95% CI 8,1-15,3) e di 26,4 mesi (95% CI 14,2-45,2) nei pazienti [¹⁸F]FDG PET negativi.

Il dato fondamentale che emerge è che i pazienti [¹⁸F]FDG PET negativi hanno presentato una PFS significativamente maggiore rispetto ai pazienti con [¹⁸F]FDG PET positiva (p 0,024).

Per quanto riguarda l'OS nei pazienti [¹⁸F]FDG PET positivi è stata di 32,7 mesi (95% CI 14,0- 68,9) e nei pazienti [¹⁸F]FDG PET negativi è stata di 48,6 mesi (95% CI 18,7- n.r.).

	n. pts	PFS (95% CI)	p
PETcon FDG -	14/41	26,4(18,7-48,9)	
PETcon FDG +	27/41	12,1(8,1-15,3)	0,024

Tabella 7: DCR e PFS secondo i risultati della [¹⁸F]FDG PET

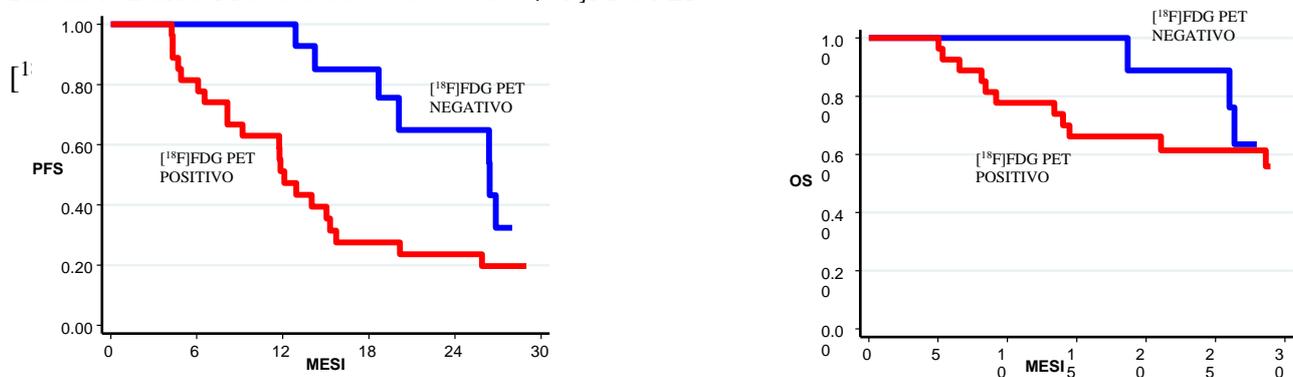


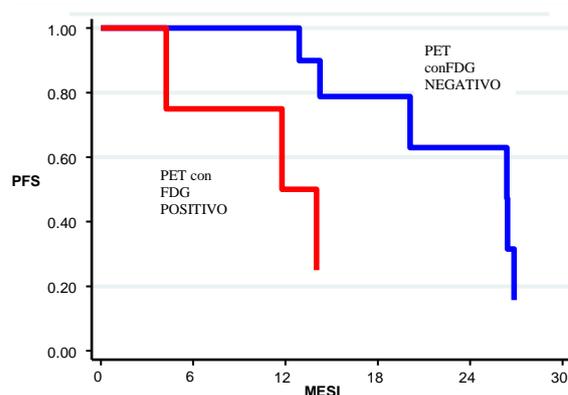
Figura 24: A:PFS mediano secondo i risultati della [¹⁸F]FDG PET : i pazienti PET con FDG negativi mostrano un PFS mediano significativamente più lungo, rispetto al gruppo di pazienti PET con FDG positivi (P =0.024).B: OS mediano nei pazienti [¹⁸F]FDG PET negativi e positivi.

Considerando poi la correlazione tra tipo istologico e [¹⁸F]FDG PET, sono risultati:

- 4 pazienti con carcinoide tipico e [¹⁸F]FDG PET positivo, con durata mediana della risposta di 1,5 mesi (95% CI 0-34), PFS di 12,9 mesi (95% CI 4,2-45), OS non ancora raggiunta;
- 10 pazienti con carcinoide tipico e [¹⁸F]FDG PET negativo con durata mediana della risposta di 13 mesi (95% CI 6-44), PFS di 26,4 mesi (95% CI 12,9-26,8) ed OS 48,6 mesi (95% CI 26-48,6);
- 12 pazienti con carcinoide atipico e [¹⁸F]FDG PET positivo con durata mediana della risposta di 21 mesi (95% CI 10-45), PFS di 15,7 mesi (95% CI 6,1-31,1) ed OS di 68,9 mesi (95% CI 28,7-68,7);
- 3 pazienti con carcinoide atipico e [¹⁸F]FDG PET negativo con durata mediana della risposta di 0 mesi (95% CI 0-60), PFS di 48,9 mesi (95% CI 18,7-48,9) ed OS non ancora raggiunta;
- 9 pazienti con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule e [¹⁸F]FDG PET positivo con durata mediana della risposta di 0 mesi (95% CI 0-0), PFS di 8,1 mesi (95% CI 4,3-11,8) ed OS di 8,4 mesi (95% CI 4,3-11,8);
- 1 paziente con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule e [¹⁸F]FDG PET negativo con durata mediana della risposta di 12 mesi, PFS ed OS non ancora raggiunta.

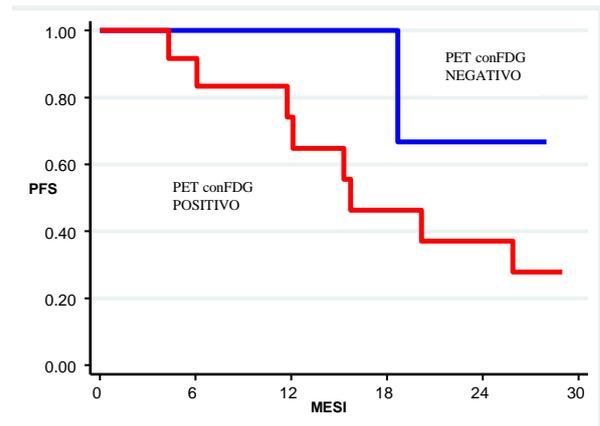
CARCINOIDE TIPICO

	n. pts	PFS (95% CI)	p
PET con FDG-	10/14	26,4(12,9- 26,8)	
PET con FDG+	4/14	12,9(4,2- 45,2)	0,387



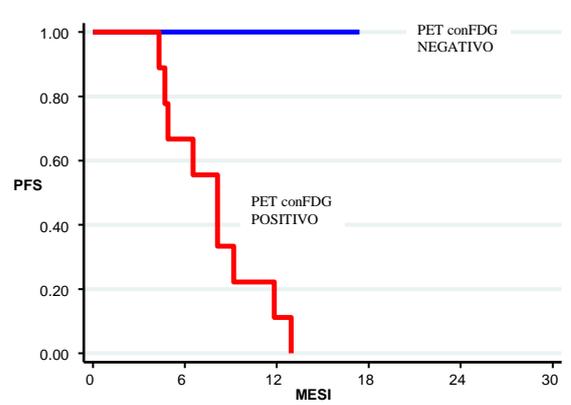
CARCINOIDE ATIPICO

	n. pts	PFS (95% CI)	p
PET con FDG-	3/15	48,9(18,7- 48,9)	
PET con FDG+	12/15	15,7(8,1- 15,3)	0,354



CARCINOMA NEUROENDOCRINO A GRANDI CELLULE

	n. pts	PFS (95% CI)	p
PET con FDG-	1/10	nr	
PET con FDG+	9/10	8,1(4,3- 11,8)	0,097



L'esame istologico con la determinazione del TTF-1 era presente in tutti i 46 pazienti. Di questi, 30 erano risultati positivi mentre 16 erano risultati negativi. La PFS è stata di 11,7 mesi (95% CI 8,1-15) nei pazienti TTF-1 positivo e di 26,4 mesi (95% CI 14,2- 45,2) nei pazienti TTF-1 negativi. Il dato fondamentale che emerge è che i pazienti TTF-1 negativi hanno presentato una PFS significativamente maggiore rispetto ai pazienti con TTF-1 positivo (P = 0,022).

	n. pts	PFS (95% CI)	p
TTF-1 -	16/46	26,4 (14,2-45,2)	
TTF-1 +	30/46	11,7 (8,1-15)	0,022

Tabella 8: DCR e PFS secondo i risultati della TTF-1

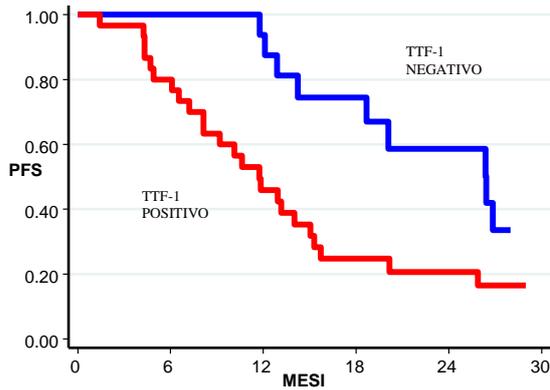


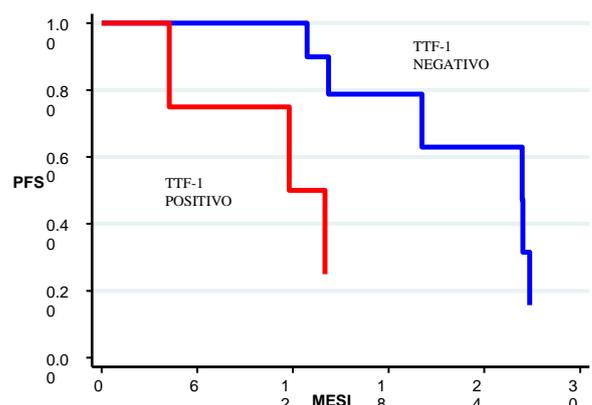
Figura 25: A PFS mediano secondo i risultati della TTF-1: i pazienti TTF-1 negativi mostrano un PFS mediano significativamente più lungo, rispetto al gruppo di pazienti TTF-1 positivi ($P = 0.022$). B

Considerando poi la correlazione tra tipo istologico e TTF-1, sono risultati:

- 12 pazienti con carcinoide tipico e TTF-1 positivo, con durata mediana della risposta di 0 mesi (95% CI 0-3), PFS di 7,2 mesi (95% CI 4,2- 14) e OS di 14 mesi (95% CI 7,2- nr) ;
- 3 pazienti con carcinoide tipico e TTF-1 negativo con durata mediana della risposta di 13 mesi (95% CI 0-44), PFS di 26,3 mesi (95% CI 12,9- 45,2) ed OS 48,6 mesi (95% CI 26-nr);
- 15 pazienti con carcinoide atipico e TTF-1 positivo con durata mediana della risposta di 0 mesi (95% CI 0- 60), PFS di 15,3 mesi (95% CI 6,1-25,9) ed OS di 37 mesi (95% CI 16,3-68,9);
- 4 pazienti con carcinoide atipico e TTF-1 negativo con durata mediana della risposta di 15,5 mesi (95% CI 0-45), PFS di 33,8 mesi (95% CI 18,7-48,9) ed OS di 28,7 mesi (95% CI 18,3-nr);
- 10 pazienti con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule e TTF-1 positivo con durata mediana della risposta di 0 mesi (95% CI 0-12), PFS di 8,1 mesi (95% CI 4,3- 11,8) ed OS di 8,8 mesi (95% CI 5-21,1).

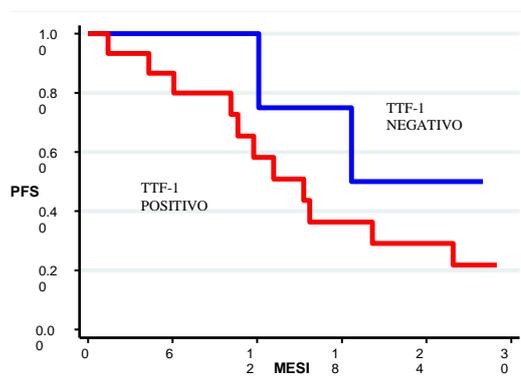
CARCINOIDE TIPICO

	n. pts	PFS (95% CI)	p
TTF-1 -	12/15	26,3(12,9-45.2)	
TTF-1 +	3/15	7,3(4,2-14)	0,0009



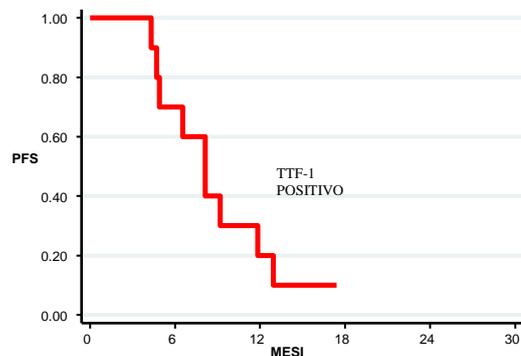
CARCINOIDE ATIPICO

	n. pts	PFS (95% CI)	p
TTF-1 -	4/19	33,8(12,1-48,9)	
TTF-1 +	15/19	15,7(6,1-31,1)	0,366



CARCINOMA NEUROENDOCRINO A GRANDI CELLULE

	n. pts	PFS (95% CI)	p
TTF-1 +	10/10	8,1(4,3-11,8)	



Prendendo in considerazione sia TTF-1 che $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ PET abbiamo suddiviso in due gruppi: TTF-1 negativo e $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ PET negativo, TTF-1 positivo e $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ PET positivo. Tredici erano risultati TTF-1 negativi e contemporaneamente $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ PET negativi PFS è stata di 26,4 mesi (95% CI 14,2-48,9) mentre 24 pazienti sono risultati TTF-1 positivi e contemporaneamente $[^{18}\text{F}]\text{FDG}$ PET positivi. PFS è stata di 11,8 mesi (95% CI 6,5-15,7).

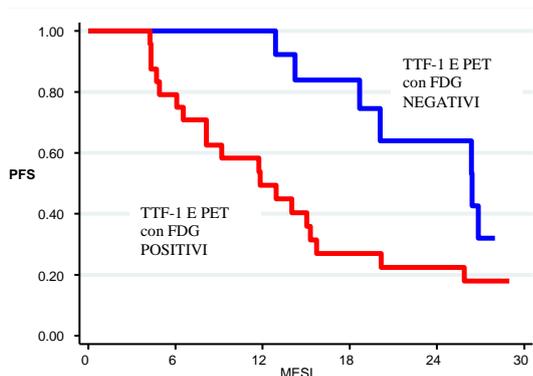


Figura 26: PFS mediano

Tossicità

Non ci sono stati casi di grave tossicità tali da richiedere la sospensione del trattamento o da tale da determinare gravi eventi avversi. Gli effetti collaterali secondari più comuni sono stati nausea (max grado 2), astenia e lieve alopecia.

3.3 DISCUSSIONE

I pazienti con tumore neuroendocrino spesso si presentano con malattia avanzata e non resecabile chirurgicamente e, quindi, vengono spesso trattati con una sola terapia palliativa con probabilità limitate di successo.

L'uso della terapia radiorecettoriale con analogo della somatostatina marcata con un β -emittente nella cura di queste neoplasie è ormai consolidato da oltre 20 anni, pur non essendo ancora ampiamente riconosciuto.

Infatti le linee guida ENETS, infatti, prevedono l'utilizzo di tale terapia nell'ambito delle neoplasie neuroendocrine polmonari come trattamento di terza linea che deve necessariamente essere preceduta dalla chemioterapia.

In base a quanto emerso dall'analisi dei dati di questo studio, la Lu-PRRT invece sembra avere un importante ruolo, non secondario ad altri trattamenti, nella terapia delle neoplasie neuroendocrine bronco-polmonari avanzate.

Fra i 46 pazienti trattati con ¹⁷⁷ Lu-Dotatate hanno avuto una risposta obiettiva 23 pazienti (50%) con una PFS di 14,2 mesi e OS di 32,7 mesi.

In letteratura esistono diversi studi effettuati su popolazioni analoghe che hanno analizzato la risposta a trattamenti con chemioterapici, come la Doxorubicina, il 5-fluorouracile, il cisplatino in associazione a carboplatino o cisplatino, riportando una risposta obiettiva che in generale si aggira tra il 20-30% con OS di 24,3 mesi⁵⁹.

Grandberg et al., invece, hanno trattato 31 pazienti con carcinoma neuroendocrino polmonare metastatica associando chemioterapia ed interferone, ottenendo SD solo in 4 pazienti su 27 valutabili con OS di 25 mesi⁶⁰

In accordo con i dati della letteratura, anche nella nostra casistica i pazienti affetti da carcinoide tipico hanno presentato risposte migliori rispetto a quelli con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule.

Nei pazienti con carcinoide tipico abbiamo ottenuto una risposta obiettiva in 12 pazienti su 15 (80%) con PFS di 20,1 mesi e OS di 48,6 mesi; mentre nei pazienti con carcinoma neuroendocrino a grandi cellule abbiamo avuto una sola risposta obiettiva su 10 pazienti (10%) con una PFS di 8,1 mesi e OS di 8,8 mesi. Questi dati sono comparabili o addirittura migliori se confrontati con i dati riportati da diversi studi. In uno studio retrospettivo vengono osservati 20 pazienti affetti da

carcinoma neuroendocrini a grandi cellule e trattati con cisplatino si è osservato una PFS di 3,4 mesi e OS di 12 mesi⁶¹.

Nell'analisi dei risultati di questo studio, tre sono gli aspetti che meritano più attenzione:

1. La [¹⁸F]FDG PET sembra essere un importante fattore prognostico in questi pazienti. La differenza in termini di PFS e OS tra i pazienti [¹⁸F]FDG PET positivi e [¹⁸F]FDG PET negativi sono in accordo con la letteratura^{62,63}. Bisogna quindi sottolineare che per la buona gestione in pazienti con carcinoma neuroendocrino polmonare l'esecuzione della [¹⁸F]FDG PET è importante quanto l'imaging recettoriale; in particolare il paziente con [¹⁸F]FDG PET positivo deve essere considerato a rischio più elevato rispetto ad un altro con istologia simile ma con [¹⁸F]FDG PET negativo. Tale differenza si evince maggiormente se consideriamo i pazienti con carcinoide atipico. Abbiamo osservato, infatti, che i pazienti [¹⁸F]FDG PET negativo hanno una PFS e OS migliore rispetto ai pazienti con [¹⁸F]FDG PET positivo.
2. Il TTF-1 come la PET con FDG sembra essere un fattore prognostico nei pazienti con carcinoma neuroendocrino bronco-polmonare. In particolare abbiamo valutato e focalizzato il ruolo del TTF-1 nella predittività della risposta alla terapia nell'ambito dei carcinoidi atipici, che notoriamente sono associati prognosi peggiore. Nel nostro studio, infatti, che i CA TTF-1 negativi hanno una PFS e OS migliore rispetto al TTF-1 positivi. Una possibile spiegazione è rappresentata dal fatto che la positività del TTF-1 è correlata ad un indice mitotico maggiore, quindi una minore differenziazione cellulare e a un quadro più avanzato.
3. Correlando TTF-1 e [¹⁸F]FDG PET si è osservato che i pazienti negativi per entrambi i fattori hanno una PFS e OS migliore rispetto ai pazienti TTF-1 e FDG positivi oppure uno dei due positivo (TTF1 o [¹⁸F]FDG PET positivo). La presenza di una [¹⁸F]FDG PET positiva e TTF-1 positivo suggerisce, quindi, la possibilità di introdurre nuovi trattamenti più aggressivi, eventualmente (associazione di PRRT e chemioterapia) per aumentare il grado di risposte e migliorare nettamente la sopravvivenza⁶⁴.

Ringraziamenti

Rivolgo i miei più sentiti e sinceri ringraziamenti al Prof. Giuliano Mariani che mi ha dato la possibilità di terminare quello che avevo iniziato in questo mio percorso di studi.

Un ringraziamento particolare a tutte le persone che hanno lavorato con me: i medici strutturati, i medici specializzandi, i tecnici, gli infermieri e gli OSS.

Inoltre devo ringraziare anche le mie altre due famiglie lavorative; il Dott. Giovanni Paganelli e tutto il Dipartimento di Terapia Radiometabolica IRST di Meldola e il Dott. Paolo Marzullo e tutto il Dipartimento di Medicina Nucleare CNR Pisa per avermi fatto sentire sempre come a casa.

Ringrazio un “collega” ma soprattutto un amico che in questi cinque anni mi è sempre stato vicino sostenendomi.

Ringrazio mio marito che nonostante il mio continuo nervosismo, le mie urlate e le cene saltate mie è sempre stato vicino con infinito amore.

Ultimi ma non nel mio cuore voglio ringraziare tutta la mia grande famiglia i miei genitori, mia sorella, i miei cognati, i miei zii, miei cugini e miei quattro suoceri che mi ha insegnato a rispettare gli altri e a combattere per le cose in cui si crede. Vi voglio Bene!!!

BIBLIOGRAFIA

- ¹ De Angelis C, Tesio L, Rizzetto M, et al. Tumori neuroendocrini non pancreatici (parte 1) Banca Dati sulle Malattie Endocrine Gastroenteropancretiche (Progetto GEP). Milano: Excerpta Medica, 2002.
- ² De Angelis C, Tesio L, Rizzetto M, et al. Tumori neuroendocrini pancreatici (parte 2) Banca Dati sulle Malattie Endocrine Gastroenteropancretiche (Progetto GEP). Milano: Excerpta Medica, 2002.
- ³ Solcia E, Capella C, Fiocca R, Cornaggia M, Bosi F. : The gastroenteropancreatic endocrine system and related tumors. *Gastroenterol Clin North Am* 1989; 18: 671-693.
- ⁴ Fujita T., Kobayashi S.: The cells and hormones of the GEP endocrine system: the current of studies. In: Fujita T (ed.). *Gastroenteropancreatic Endocrine System: A Cell Biological Approach*. Tokyo: Igaku-Shoin; 1-16, 1973.
- ⁵ Montagnani S., Sciorio S.: Morphology, structure and function of the neuroendocrine cell populations of the gastroenteropancreatic system in Percopo V., Kaplan EL (Eds) *GEP and multiple neuroendocrine tumors* Piccin 1996.
- ⁶ L. K. K. M. Modlin IM, «A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors.» *Cancer*, n. 97, pp. 934-959, 2003.
- ⁷ Teunissen JJ, Kwekkeboom DJ, Valkema R, et al. Nuclear medicine techniques for the imaging and treatment of neuroendocrine tumors. *Endocr Relate Cancer* 2011; 18(suppl 1): S27-51. Print 2011 Oct.
- ⁸ X. Hemminki K, «Incidence trends and risk factors of carcinoid tumors: a nationwide epidemiologic study from Sweden.» *Cancer*, n. 92, pp. 2204-2210, 2001.
- ⁹ Modlin M, Oberg K, Chung DC et al. Gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Lancet Oncol* 2008; 9(1): 61-72. Epub 01/2008 .
- ¹⁰ Travis WD, Rush W, Flieder DB, et al. Survival analysis of 200 pulmonary neuroendocrine tumors with clarification of criteria for atypical carcinoid and its separation from typical carcinoid. *Am J Surg Pathol* 1998;22:934-944.
- ¹¹ Yesner R. Small cell tumors of the lung. *Am J Surg Pathol* 1983;7:775-785.

-
- ¹² Fink G, Krelbaum T, Yellin A, et al. Pulmonary carcinoid: presentation, diagnosis, and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from the literature. *Chest*. 2001;119:1647-1651.
- ¹³ Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. Lyon, France: IARC Press; 2004. World Health Organization Classification of Tumours; vol 10.
- ¹⁴ The US National Cancer Institute. Surveillance Epidemiology and End Results (SEER) data base, 1973–2004, [http:// seer.cancer.gov/2007](http://seer.cancer.gov/2007)
- ¹⁵ Civitareale D, Lonigro R, Sinclair AJ, et al: A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J* 8:2537-2543, 1989
- ¹⁶ Kikkawa F, Gonzalez FJ, Kimura S: Characterization of a thyroid-specific enhancer located 5.5 kilo base pairs upstream of the human thyroperoxidase gene. *Mol Cell Biol* 10:6216-6224, 1990
- ¹⁷ Katoh R, Miyagi E, Nakamura N, et al: Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in human C cells and medullary carcinomas. *HUM PATHOL* 31:386-393, 2000
- ¹⁸ Agoff SN, Lamps LW, Philip AT, et al: Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extra
- ¹⁹ Oliveira AM, Tazelaar HD, Myers FL, et al: Thyroid transcription factor-1 distinguishes metastatic pulmonary from well-differentiated neuroendocrine tumors of other sites. *Am J Surg Pathol* 25:815- 819, 2001
- ²⁰ Zamecnik J, Kodet R: Value of thyroid transcription factor-1 and surfactant apoprotein A in the differential diagnosis of pulmonary carcinomas: A study of 109 cases. *Virchows Arch* 440:353-361, 2002
- ²¹ Folpe AL, Gown AM, Lamps LW, et al: Thyroid transcription factor-1: Immunohistochemical evaluation in pulmonary neuroendocrine tumors. *Mod Pathol* 12:5-8, 1999
- ²² Modlin IM, Lye KD, Kidd M. A 5-decade analysis of 13,715 carcinoid tumors. *Cancer*. 2003;97:934–959.
- ²³ Fink G, Krelbaum T, Yellin A, et al. Pulmonary carcinoid: presentation, diagnosis, and outcome in 142 cases in Israel and review of 640 cases from the literature. *Chest*. 2001;119:1647–1651.
- ²⁴ Takei H, Asamura H, Maeshima A, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of eighty-7 cases. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2002;124: 285–292.
- ²⁵ Brazeau P, Vale WW, Burnus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, et al. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 1973; 179:77-79.
- ²⁶ Pradayrol L, Jornvall H, Mutt V, Ribet A. N-terminally extended somatostatin: the primary structure of somatostatin-28. *FEBS Lett* 1980; 1:55-58.

-
- ²⁷ Corleto VD, Delle Fave G. Role of somatostatin in the human gastrointestinal tract. *Curr Opin Endocrinol Diab* 2003; 10:72-77.
- ²⁸ Csaba Z, Dournaud P. Cellular biology of somatostatin receptors. *Neuropeptides* 2001; 35(1):1-23.
- ²⁹ Corleto VD, Nasoni S, Panzuto F, Cassetta S, Delle Fave G. Somatostatin receptor subtypes: basic pharmacology and tissue distribution. *Dig Liv Dis* 2004; 36:8-16.
- ³⁰ England RJA, Atkin SL. Somatostatins and their role in thyroid cancer. *Clin Otolaryngol* 2002; 27:120-123.
- ³¹ Patel YC. Somatostatin and its receptor family. *Front in Neuroendocrinol* 1999; 20:157-198.
- ³² Hofland LJ, Lamberts SWJ. Somatostatin receptor subtype expression in human tumors. *Ann Oncol* 2001; 12:31-36.
- ³³ Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissie JA. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med*. 2001 Jul; 28(7):836-46. Erratum in: *Eur J Nucl Med* 2001 Sep;28(9):1433.
- ³⁴ Schally AV. Oncological applications of somatostatin analogues. *Cancer Research* 1988; 48:6977-6985.
- ³⁵ Heppeler A, Froidevaux S, Eberle AN, Maecke HR. Receptor targeting for tumor localisation and therapy with radiopeptides. *Curr Med Chem* 2000; 7:971-994.
- ³⁶ Lewin MJ, The somatostatin receptor in the GI tract. *Annu Rev Physiol* 1992; 54:455-68.
- ³⁷ Lewin MJ, The somatostatin receptor in the GI tract. *Annu Rev Physiol* 1992; 54:455-68.
- ³⁸ Garin E, Le Jeune F, Devillers A, et al. Predictive value of 18F-FDG PET and somatostatin receptor scintigraphy in patients with metastatic endocrine tumors. *J Nucl Med* 2009; 50(6): 858-64. Epub 2009 May 14.
- ³⁹ Bombardieri E, Ambrosini V, Aktolun C, et al. 111In-pentetreotide scintigraphy: 11 procedure guidelines for tumour imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37(7): 1441-8.
- ⁴⁰ Krausz Y, Keidar Z, Kogan I, et al. SPECT/CT hybrid imaging with 111In-pentetreotide 5 in assessment of neuroendocrine tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 59(5): 565-73.
- ⁴¹ Kwekkeboom DJ, Kam BL, van Essen M, et al. Somatostatin-receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer* 2010; 17(1):R53-73. Print 2010 Mar.
- ⁴² Reubi JC, Waser B, Schaer JC, et al. Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med* 2001; 28(7): 836-46.

-
- ⁴³ Ambrosini V, Campana D, Tomassetti P, et al. (6)(8)Ga-labelled peptides for diagnosis of gastroenteropancreatic NET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39(Suppl 1): S52-60.
- ⁴⁴ Decristoforo C, Pickett RD, Verbruggen A. Feasibility and availability of (6)(8)Ga38labelled peptides. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39(Suppl 1): S31-40.
- ⁴⁵ A AL-N, Fanti S. Radiolabelled peptides in diagnosis and therapy: an introduction. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2012; 39(Suppl 1): S1-3.
- ⁴⁶ Castellucci P, Pou Ucha J, Fuccio C, et al. Incidence of increased 68Ga-DOTANOC uptake in the pancreatic head in a large series of extrapancreatic NET patients studied with sequential PET/CT. *J Nucl Med* 2011; 52(6): 886-90. Epub 2011 May 13.
- ⁴⁷ Al-Ibraheem A, Bundschuh RA, Notni J, et al. Focal uptake 1 of 68Ga-DOTATOC in the pancreas: pathological or physiological correlate in patients with neuroendocrine tumours? *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38(11): 2005-13. Epub 11 Jul 27.
- ⁴⁸ Haug AR, Rominger A, Mustafa M, et al. Treatment with octreotide does not reduce tumor uptake of (68)Ga-DOTATATE as measured by PET/CT in patients with neuroendocrine tumors. *J Nucl Med* 2011; 52(11): 1679-83. Epub 2011 Oct 5.
- ⁴⁹ Fanti S, Ambrosini V, Tomassetti P, et al. Evaluation of unusual neuroendocrine tumours by means of 68Ga-DOTA-NOC PET. *Biomed Pharmacother* 2008; 62(10): 667-71. Epub 2008 Mar 3.
- ⁵⁰ Gabriel M, Decristoforo C, Kendler D, et al. 68Ga-DOTA-Tyr3-octreotide PET in neuroendocrine tumors: comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT. *J Nucl Med* 2007; 48(4): 508-18.
- ⁵¹ Anthony LB, Woltering EA, Espanan GD, Cronin MD, Maloney TJ, McCarthy KE. Indium-111-pentetreotide prolongs survival in gastroenteropancreatic malignancies. *Semin Nucl Med*. 2002;32:123–132
- ⁵² Waldherr C, Pless M, Maecke HR, Haldemann A, Mueller-Brand J. The clinical value of [90Y-DOTA]-D-Phe1-Tyr3- octreotide (90Y-DOTATOC) in the treatment of neuroendocrine tumours: a clinical phase II study. *Ann Oncol*. 2001;12:941-945.
- ⁵³ Bodei L, Cremonesi M, Zoboli S, et al. Receptor-mediated radionuclide therapy with ⁹⁰Y-DOTATOC in association with amino acid infusion: a phase I study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2003;30:207–216.
- ⁵⁴ Jong M, Breeman WA, Valkema R, Bernard BF, Krenning EP. Combination radionuclide therapy using ¹⁷⁷Lu- and ⁹⁰Y-labeled somatostatin analogs. *J Nucl Med*. 2005;46(Suppl 1):13S–17S.

-
- ⁵⁵ Kwekkeboom DJ, Herder WW, Kam BL, Eijck CH, Essen M, Kooij PP, et al. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [177 Lu-DOTA 0,Tyr3]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J Clin Oncol.* 2008;26(13):2124–2130. doi: 10.1200/JCO.2007.15.2553
- ⁵⁶ Kwekkeboom DJ, de Herder WW, Kam BL, et al. Treatment with radiolabeled somatostatin analog [177Lu-DOTA0,Tyr3]Ocreatate: toxicity, efficacy and survival. *J Clin Oncol.* 2008;26:2124-2130.
- ⁵⁷ Green S, Weiss GR: Southwest oncology group standard response criteria, endpoint definitions and toxicity criteria. *Invest New Drugs* 10:239-253, 1999
- ⁵⁸ Breeman WAP, de Blois E, Bakker WH: Radiolabeling DOTA-peptides with 90Y and 177 Lu to a high specific activity; In Chinol M, Paganelli G (eds): *Radionuclide peptide cancer therapy*. New York, NY, Taylor & Francis Group, 2006, pp 119-126.
- ⁵⁹ Granberg D, Eriksson B, Wilander E, et al. Experience in treatment of metastatic pulmonary carcinoid tumors. *Ann Oncol* 2001;12:1383–91.
- ⁶⁰ Ahlman H, Wangberg B, Nilsson O, et al. Aspects on diagnosis and treatment of the foregut carcinoid syndrome. *Scand J Gastroenterol* 1992;27:459–71.
- ⁶¹ Yamazaki S, Sekine I, Matsuno Y, et al. Clinical responses of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung to cisplatin based chemotherapy. *Lung Cancer* 2005;49:217–23.
- ⁶² Binderup T, Knigge U, Loft A, et al: 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography predicts survival of patients with neuroendocrine tumors. *Clin Cancer Res* 16:978-985, 2010
- ⁶³ Severi S, Nanni O, Bodei L, et al: Role of (18)FDG PET/CT in patients treated with (177)Lu-DOTATATE for advanced differentiated neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 40(6):881-8, 2013
- ⁶⁴ Claringbold PG, Brayshaw PA, [Price RA](#), et al: Phase II study of radiopeptide 177Lu-octreotate and capecitabine therapy of progressive disseminated neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 38:302-311, 2011