

Tratamento sistémico do cancro do pulmão duas décadas de progresso – Um ponto de vista pessoal...

Venceslau Hespagnol

Faculdade de Medicina do Porto
Centro Hospitalar e Universitário S. João – Serviço de Pneumologia

INTRODUÇÃO

Quando analisamos a evolução e o notável progresso dos tratamentos do carcinoma de não pequenas células do pulmão, avançado, ao longo dos últimos vinte anos, poderemos estabelecer dois períodos. Nos primeiros dez anos, assistimos a vários desenvolvimentos relativamente à otimização quimioterapia, novos fármacos (pemetrexed e bevacizumab), recuperação de um antigo conceito, a manutenção, novas estratégias terapêuticas, a “individualização” da quimioterapia, os primeiros passos em direção à medicina de precisão. A segunda década foi marcada pela consolidação do conceito medicina de precisão na oncologia pulmonar, o papel central da biologia molecular no diagnóstico e no estabelecimento de um novo elemento de decisão terapêutica, o biomarcador. A última metade de segunda década é marcada por um tratamento há tanto tempo esperado e só agora concretizado, a Imunoterapia. Tudo isto, alterou definitivamente, a forma como sempre se olhou para o cancro do pulmão avançado, de doença rapidamente fatal, para uma realidade de doença crônica, com múltiplas opções terapêuticas, permitindo alterar definitivamente

vamente o prognóstico, para muitos doentes. Começamos pelo princípio...

A QUIMIOTERAPIA NO TRATAMENTO DO CANCRO DO PULMÃO AVANÇADO

A Quimioterapia foi, a base do tratamento do carcinoma não pequenas células do pulmão (CNPC). Quando Joan A Schiller¹ iniciou, em 1996, o recrutamento de um ensaio clínico, independente, em que comparava “head to head”, várias associações de quimioterapia, contendo platino, em doentes em estágio IIIB (derrame pleural ou pericárdico maligno) ou IV, com CNPC, o cancro do pulmão já era uma das principais causas de mortalidade por cancro, representando um terço dessa mortalidade². Embora, em 2002, quando este ensaio foi publicado, já fosse mais consensual, que o carcinoma de não pequenas células do pulmão avançado, beneficiava com tratamento sistémico antineoplásico, nem sempre foi assim. Durante décadas, questionou-se se faria sentido, tratar estes doentes^{3,4,5}, aconselhando-se a utilização de quimioterapia, unicamente, num contexto de ensaio clínico, em

face dos efeitos adversos e dos, muitas vezes decepcionantes, resultados da resposta e sobrevivência^{1,3,4,5}. Posteriormente, numa grande metanálise publicada em 1995⁶, foi possível, provar pela primeira vez, que quimioterapia associada a cuidados de suporte, era melhor que cuidados de suporte isoladamente, reduzindo o risco de morrer em 27% (HR-0,73). É, fundamentalmente, a partir desta⁶, que o tratamento do cancro do pulmão avançado, inicia um caminho atingindo hoje, objetivos impossíveis de imaginar nessa altura. Era então assumido que a melhor opção de quimioterapia envolvia um composto de platino, de preferência cisplatino, associado a um ou dois outros antineoplásicos^{1,7,8}, explorando a ideia sempre assumida em oncologia, no limite, maximizando a intensidade da dose, qualquer cancro pode ser destruído!⁹.

DUPLETO OU TRIPLETO, COM OU SEM PLATINO E, QUANTOS CICLOS?

As bases da quimioterapia, incluindo cisplatino, no cancro do pulmão, foram construídas com o conhecimento adquirido nos finais dos anos setenta, fundamentalmente, desenvolvido durante os anos oitenta e noventa do século passado^{1,2,3,7}. A intensidade de dose da quimioterapia esteve sempre associada ao benefício terapêutico⁹, embora a evidência clínica relativamente ao cancro do pulmão, seja escassa, pois os seus preceitos, não foram testados em ensaios randomizado. Frequentemente, as orientações terapêuticas resultavam de inferências a partir de estudos “in vitro” ou, de estudos prospetivos e séries retrospectivas^{10,11,12}. Além da intensidade de dose, o número de fármacos a utilizar, nos esquemas de quimioterapia para tratamento do CNPCP também foi também procurado, na expectativa de elevar

a taxa de resposta, quase sempre inferior aos 20%⁷. Esquemas de dois e três fármacos foram extensamente testados, tendo-se concluído que a associação ideal, deveria conter dois fármacos, sendo um deles, um composto de platino.^{13,14}. No final, os resultados foram concordantes, a adição de um terceiro fármaco não adicionava benefício aos doentes¹⁴.

O equilíbrio entre intensidade terapêutica e tolerância dos doentes é fundamental para o êxito em oncologia pulmonar, fundamentalmente quando se trata de doença avançada. Além da intensidade de dose, do número de fármacos envolvidos, o número de ciclos sempre foi questionado¹⁵. Várias investigações mostraram que, prolongar a quimioterapia, para além de 3 a quatro ciclos de quimioterapia^{15,16}, não determinava benefício na sobrevivência dos doentes.

PEMETREXED NO ADENOCARCINOMA DO PULMÃO, “CUSTOMISING CHEMOTHERAPY” INDIVIDUALIZAÇÃO DA TERAPÊUTICA, “AS DUAS FACES DE JANUS”

Quando, no 12th World Cancer Congress em 2007, foi apresentada uma análise¹⁷ não planeada de um ensaio clínico, previamente publicado, em que se comparava docetaxel versus pemetrexed, em 2.^a linha, no tratamento do CNPC¹⁸, verificou-se que não era possível tratar da mesma forma todos os CNPC. Apesar de se tratar de uma análise retrospectiva, ficou claro que os doentes com carcinoma não escamoso do pulmão, respondiam muito melhor, quando tratados com Pemetrexed; ao invés, os escamosos, tinham melhor comportamento, quando tratados com Docetaxel. Este tipo de avaliação foi também realizada, num ensaio clínico publicado em 2009 por Giorgio Sca-

gliotti, que comparava, em primeira linha, cisplatino/pemetrexed com cisplatino/gemcitabina, em doentes com CNPC IIIB/IV²⁰. O estudo atingiu o seu objetivo principal, mostrando, não inferioridade entre ambas as opções terapêuticas, no que respeita à sobrevivência mediana, tendo sido atingindo o valor de 10,3 meses para ambos os dupletos²⁰. Porém, verificou que a sobrevivência era significativamente superior nos doentes com adenocarcinoma do pulmão, se tivessem sido tratados com cisplatino/pemetrexed (12,6 meses) em vez de cisplatino/gemcitabina (10,6 meses). O mesmo foi verificado para os carcinomas de grandes células, cuja sobrevivência foi de 10,4 meses, se tivessem sido tratados com cisplatino/pemetrexed e de 6,7 meses, se a quimioterapia tivesse sido cisplatino/gemcitabina²⁰. Apesar do objetivo primário deste estudo, não ter sido este, o seu principal contributo foi demonstrar que a classificação dos tumores em carcinomas de pequenas células e CNPC, se tinha tornado insuficiente. Era necessário, caracterizar o tipo de CNPC e, se se tratasse de um adenocarcinoma, ou outro, não escamoso, muito provavelmente, beneficiaria mais, se fosse tratado com um duplete de platino e pemetrexed, que com qualquer outra associação²⁰. Foi também a primeira vez que a sobrevivência mediana de um doente com CNPC metastático ultrapassou 1 ano, utilizando um duplete com um platino, ganhando 5 meses aos 7,6 meses de sobrevivência mediana, dos doentes tratados com os dupletos testados por Schiller¹. Até aqui, a escolha da quimioterapia, utilizada no CNPC, dependia mais do perfil de tolerância do doente e da experiência do médico, a partir desta observação, as características morfológicas do tumor passaram a definir o tratamento. Estas observações deram início à individualização terapêutica, baseada no conceito de preditor de resposta, quando se utiliza um deter-

minado fármaco. Assim, o tipo celular da neoplasia, adenocarcinoma do pulmão, era preditor de melhor resposta e sobrevivência, se tratado com pemetrexed, o que não aconteceria, se tratasse de um carcinoma escamoso.

A procura de mecanismos de identificação dos determinantes da resposta aos tratamentos com quimioterapia foi particularmente intensa nos primeiros anos do século 21^{21,22,23}. Os mecanismos mais estudados, são os relacionados com a reparação do ADN, crítico na manutenção da vida²³. Duas enzimas, a “excision repair cross-complementation group 1” (ERCC1) e a “ribonucleotídeo reductase M1” (RRM1), são especialmente importantes^{22,23}. Quando o ADN é lesado, existem múltiplos mecanismos que de uma forma complementar, tentam evitar que persistam erros estruturais, no início à síntese de nova cadeia de ADN^{21,23}. As proteínas enzimáticas envolvidas neste processo são muitas, destacam-se, porém, as ERCC1 e RRM1, a primeira pontificando, no processo de excisão do segmento de ADN lesado, e a segunda catalizando a síntese de ribonucleotídeos^{21,23} fundamentais para o processo de reparação e substituição do ADN lesado e removido no processo anterior. A expressão destas proteínas, determinada por polimorfismos genéticos, parece, de alguma forma, influenciar a sua maior ou menor atividade no processo de recuperação do ADN²¹. Em estudos realizados em doentes com cancro do pulmão, em estadio precoce, submetidos a cirurgia curativa²⁴, foi demonstrado que a sobre expressão da ERCC1, era um preditor favorável de uma maior sobrevivência^{21,24}. Por outro lado, a sobre expressão de ERCC1 e de RRM1, em doentes com cancro do pulmão avançado, era preditora de resistência respetivamente, aos platinos e à gemcitabina²⁵, pois, a maior capacidade de corrigir lesões no ADN, induzidas pela quimioterapia, dificultava, que fosse iniciado o processo

conducente à apoptose, inevitável, se essa capacidade regenerativa não existisse. Então, num contexto do cancro avançado, sob quimioterapia, a sobre-expressão ERCC1/RRM1 associa-se negativamente á sobrevivência²⁵. Daqui resulta a analogia a Janus²¹, Deus Romano protetor das “entradas e saídas” (o que dá o nome ao mês de janeiro), que sendo único, tem duas faces, representando diferentes realidades, de acordo com o contexto em que nos encontremos²³.

A análise retrospectiva do ensaio clínico de Hanna N & col., publicado em 2004, dirigido aos doentes com CNPC do pulmão em 2.ªLinha¹⁸, comparando o “stand of care” docetaxel a um novo quimioterápico, o pemetrexed, previamente utilizado com algum êxito no mesotelioma pleural²⁶, permitiu verificar que os doentes com carcinoma do pulmão não escamoso, em especial adenocarcinomas, beneficiavam significativamente, se fossem tratados com pemetrexed, ao invés, de docetaxel¹⁷. As razões prendem-se com o mesmo racional do ERCC1/RRM1. O pemetrexed é um antifolato, um sucedâneo do bem conhecido metotrexato. O seu alvo de ação são enzimas envolvidas na síntese dos folatos, em especial a timidilato sintetase (TS), a dihidrofolato redutase (DHFR) e glicinamida ribonucleotideo formiltransferase (GARFT)^{27,28}. Genericamente os tumores escamosos, têm uma sobre expressão da TS, daqui resultando muito menor atividade do pemetrexed^{27,29}. Pelo contrário, os doentes com adenocarcinoma do pulmão, em especial, os com sub-expressão da TS, quando se tratados com pemetrexed, mostram benefício, tanto no tempo livre de progressão, como na sobrevivência global^{27,28,29}. Ainda hoje, a escolha do tratamento de um doente com carcinoma não escamoso, em estadio IV, sem outra opção terapêutica que não quimioterapia, recai, grande parte das vezes, num duplete com platino e pemetrexed.

ANTI-ANGIOGÉNESE CANCRO, A REALIDADE AINDA INCOMPLETAMENTE COMPREENDIDA

Após longos anos de investigação, Judah Folkman³⁰, desenvolveu as bases científicas da neovascularização (angiogénese) tumoral e uma nova perspectiva surgiu, no tratamento dos tumores. As suas investigações publicadas, inicialmente nos “Seminars in Medicine Of The Beth Israel Hospital, Boston” e posteriormente, em 1971, publicadas no N Engl Journal Medicine, só, muito mais tarde, foram entendidas!³¹. A descoberta dos mecanismos da angiogénese tumoral e dos fatores que a estimulam ou a promovem, a identificação do “tumor angiogenic factor” (TAF), posteriormente designado, “vascular endotelial growing factor” (VEGF), criou enorme expectativa pela possibilidade de, comprometendo o acesso do tumor ao oxigénio e nutrientes, pudesse controlar o seu crescimento^{31,32}. Estes conhecimentos só foram publicados, mais de 20 anos depois?!^{32,33,34,35,36}. Um dos conhecimentos mais interessantes, dirigia-se à forma como se estabelecia a angiogénese tumoral, tendo sido observado, que até determinada altura do seu desenvolvimento, os tumores sobrevivem unicamente por “difusão”, criando, à medida que evoluem, um sistema de perfusão que permita o seu desenvolvimento³¹. Atualmente, a angiogénese tumoral, é uma das “Hallmarks of Cancer”, tendo, a sua inibição, sido amplamente reconhecida, como um tratamento de valor para vários cancros, incluindo o cancro do pulmão^{32,33,34,35}. Vários fármacos dos quais se destacam o Bevacizumab e o Nintedanib, inibindo o estímulo angiogénico do VEGF, têm em associação com quimioterapia sido utilizados^{32,33,34,35,36,37}. O Bevacizumab, anticorpo monoclonal humanizado que atua ligando-se e inativando todas as isoformas do VEGF, bloqueando a angiogénese.

Sandler e colaboradores³³, estudaram 850 doentes com cancro do pulmão avançado de histologia não escamosa tratados com carboplatino e paclitaxel e randomizados para receber ou não bevacizumab. O grupo tratado com adição de bevacizumab à quimioterapia obteve uma sobrevivência mediana, pela primeira vez no cancro do pulmão avançado, superior a um ano, 12,3 meses³³, muito distante dos 7,5 meses observados por Shiller e colaboradores (embora aqui tivessem sido incluídos todos os CNPC), utilizando carboplatino e paclitaxel¹. Foi como conseguir passar uma barreira psicológica!

Outros estudos, utilizando diferentes combinações, demonstraram que a adição de bevacizumab, numa primeira linha de tratamento, em doentes com cancro do pulmão de histologia não escamosa, beneficiavam, melhorando o tempo livre de progressão e a taxa de resposta³⁴, relativamente à quimioterapia isolada. Estes resultados não foram, contudo, universalmente aceites, não sendo possível, em Portugal, a utilização deste fármaco, para esta indicação.

Outro dos antiangiogénicos, o Nintedanib, foi testado em 2.^a linha associados ao docetaxel e posteriormente ao pemetrexed, tendo demonstrado prolongar a sobrevivência e melhorar a qualidade de vida, sendo hoje, para a sua indicação, um tratamento disponível em 2.^a Linha em associação com o decetaxel^{36,36}.

PEMETREXED, MANUTENÇÃO COM QUIMIOTERAPIA

A introdução dos dupletos de quimioterapia platino+pemetrexed²⁰ ou tripletos incluindo platino+paclitaxel ou Gemcitabina adicionados de bevacizumab (32, 33, 34) permitiram adicionar um pouco mais de 5 meses à sobrevivência me-

diana dos doentes com CNPC, não escamoso. O tratamento padrão utilizado envolvia um dupleto contendo platino, sendo previsível obter 20 a 40% de taxa de resposta e sobrevivência de cerca de um ano (7-12 meses)²⁰. No sentido de verificar se, nos doentes com CNPC do pulmão não escamoso, em que foi atingido o controlo da doença, seria possível aumentar o tempo livre de progressão e a sobrevivência global, foram realizados vários ensaios clínicos em que se pretendeu testar esta hipótese^{37,38,39}. Depois de se ter verificado aumento do tempo livre de progressão e da sobrevivência como resultado do tratamento com pemetrexed em regime de manutenção, até progressão da doença³⁷, novo ensaio o PARAMOUNT foi realizado, com o objetivo de definir de forma definitiva esta estratégia tratamento, em doentes com doença controlada^{38,39}. O resultado final, mostrou claro benefício desta estratégia, alcançando-se pela primeira vez uma sobrevivência mediana superior a 14 meses³⁹. Infelizmente, só os doentes com histologia não escamosa beneficiaram com esta estratégia³⁹, situação que se veio a pronunciar, de forma crescente, desde esta altura. Todos estes estudos permitiram provar que existe uma diferenciação clara entre os vários tipos celulares que integram a antiga denominação CNPC, em face das opções terapêuticas e resultado clínicos obtidos. Estes resultados, são ainda, uma das bases das decisões terapêuticas ainda hoje em utilização, para doentes, sem outras opções terapêuticas, que quimioterapia.

O FATOR DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO “EGF”

Desde a sua identificação no início dos anos 50 por Cohen e col.⁴², a partir das glândulas sub-maxilares do rato, que foram desde logo identifi-

casas algumas as suas características, o seu recetor (EGFR) recetor da tirosinaquinase e vários membros da sua família⁴². A sobre expressão deste recetor transmembranar foi durante anos considerada associada ao desenvolvimento de tumores⁴³, estando presente em mais de 62% dos CNPC, associando-se de forma significativa com o prognóstico da doença⁴³. O EGFR medeia o crescimento celular, proliferação, invasão, metastização e promove a inibição da apoptose^{44,45}. A inibição do recetor das tirosinaquinases foi testada em dois ensaios de fase 2 que mostraram^{44,45} tendo mostrado atividade significativa do gefitinib, em doentes com CNPC avançado, que levou à sua rápida aprovação^{46,47}. Foram realizados dois ensaios de fase III, onde foi adicionado Gefitinib à quimioterapia, num dos casos cisplatino/gemcitabina, outro carboplatino/paclitaxel e comparados com quimioterapia isolada. Os resultados foram desoladores, não havendo qualquer benefício da associação, contrariamente às expectativas^{48,49}. Outra molécula, com mecanismo de ação e atividade semelhante, o Erlotinib, foi também testado em associação com a quimioterapia, tendo os resultados sido semelhantes^{50,51}. Todos estes ensaios, envolvendo o Gefitinib e o Erlotinib, foram testados em doentes com CNPC e sem qualquer seleção significativa, pois associava-se a atividade dos fármacos com o número de cópias do gene do EGFR e por conseguinte à sua expressão^{42,43}. Neste mesmo ano, 2004, Thomas Lynch and col.⁵², estudando as características clínicas e moleculares de doentes que responderam ao gefitinib, doentes que não responderam e doentes que não foram tratados com gefitinib⁵². Verificaram que nos era possível identificar mutações somáticas nos exões 19 e 21 do EGFR⁵², tendo concluído que a resposta ao tratamento dependia da identificação destas mutações nos tumores⁵². Porém, apesar destes resultados, só vários anos depois,

a existência destas mutações seria reconhecida, a nível global como o primeiro biomarcador realmente relevante no cancro do pulmão.

ERLOTINIB EM DOENTES COM CNPC, PREVIAMENTE TRATADOS (BR.21)

Apesar de já ter sido demonstrada a relação entre a resposta ao gefitinib e a identificação de mutações nos exões 19 (Del746-A750) e 21 (mutação pontual L858R) do EGFR⁵², muitos investigadores continuaram a relacionar a resposta ao tratamento com número de cópias do gene do EGFR e desta forma a sua expressão (46-50). Em 2005, Frances Shepherd⁵³ onde provou que nos doentes já tratados com um duplete de platino em 1.^a Linha, ou mesmo, após uma segunda linha de quimioterapia, mantendo performance status (PS) 0-3, o tratamento utilizando Erlotinib, prolongava a sobrevivência⁵³. Foi a primeira vez que, de uma forma generalizada, em todo o mundo, se utilizou Erlotinib, com excelentes resultados, num pequeno número de doentes, ganhando a todas as alternativas, então possíveis, em relação à tolerância⁵³. Esta opção de tratamento com Erlotinib, manteve-se ao longo dos anos, até que a relação mutações resposta ao tratamento se tornou inquestionável e se transformou em tratamento padrão cinco anos depois, após publicação de um ensaio clínico que tudo clarificou⁵⁴.

A INDIVIDUALIZAÇÃO DA TERAPÉUTICA, NO CANCRO DO PULMÃO – O EGFR

Desde há várias décadas que era reconhecida a importância do EGFR no desenvolvimento dos tumores^{43,44}, nomeadamente na génese de um sinal proliferativo celular, facilitação da metasti-

zação, angiogénese, inibição da apoptose⁴²⁻⁴⁴. Fazia sentido que a inibição do processo gerador desse sinal pudesse ser utilizada no tratamento dos tumores, porém, mantinha-se a discussão sobre, em que doentes, mais beneficiassem dos potenciais fármacos inibidores do sinal proliferativo^{43,44,45}. Esta discussão manteve-se, durante vários anos, apesar de, em 2004, Lynch e col.⁵², na sua série clínica, tivessem demonstrado que, a resposta ao tratamento ao gefitinib, estava ligada à identificação nas células tumorais com mutações específicas no gene do EGFR⁵².

Em 2009, Tony Mok e col.⁵⁴. Publicaram um ensaio clínico, o Iressa Pan-Asia Study (IPASS)⁵⁴ que definitivamente, alterou toda a base de decisão terapêutica, relativamente aos inibidores das tirosinaquinases⁵⁴. Na altura em que o ensaio é desenhado, já existia uma clara convicção entre muitos investigadores, que grupos especiais de doentes⁵² beneficiavam mais que outros. Era claro que, adenocarcinomas, não fumadores, doentes do género feminino⁵², tinham mais tendência a responder ao tratamento, respondiam rapidamente e mantinham a resposta, muitas vezes, por períodos superiores a um ano⁵². Os critérios de seleção do IPASS, incluíam carcinomas não pequenas células do pulmão, com características de adenocarcinoma (incluindo carcinoma broncoalveolar), não fumadores, fumadores com menos de 10 unidades/maço/ano ou ex-fumadores, há pelo menos 15 anos, ainda não submetidos a tratamentos para o cancro do pulmão e não submetidos, por qualquer outra razão, a tratamentos biológicos e/ou imunológicos⁵⁴. Os doentes foram aleatorizados para receber o duplete de quimioterapia ou gefitinib. O objetivo primário era o tempo livre de progressão (PFS)⁵⁴. Após os primeiros 5 meses, em que o duplete de quimioterapia tem melhor comportamento. Ou seja, em que a probabilidade do evento de interesse ocor-

rer (progressão da doença) é menor nos doentes sob quimioterapia (hazard ratio), que nos doentes tratados com gefitinib, dando-se a inversão da tendência inicial⁵⁴. Esta tendência de melhor comportamento dos doentes sob gefitinib, mantém-se até ao final da avaliação e, avaliadas posteriormente as mutações do EGFR, verificou-se que havia uma associação clara entre doentes EGFR+ e o seu comportamento sob gefitinib⁴². Embora a conclusão geral tenha sido que gefitinib foi superior ao duplete de carboplatino mais paclitaxel neste grupo de doentes⁴², o que se transformou em “case-study”, foi definitivamente ficar provado que existia uma relação clara entre mutações do EGFR e tempo livre de progressão⁴². Isto foi possível por dois motivos: primeiro, grande parte dos doentes realizaram pesquisa das mutações do EGFR; segundo: elevada prevalência de EGFR+ na amostra avaliável para estudo molecular (59,7%), que permitiu, com facilidade, identificar a associação entre GFR+, resposta ao gefitinib e e tempo livre de progressão aumentado⁴².

Após este estudo, vários foram publicados nos anos subsequentes desenhados unicamente para doentes com EGFR+ em que se comparava duplete de quimioterapia com um inibidor das tirosinaquinases, gefitinib, erlotinib e mais posteriormente, afatinib^{55,56,57}. Em todos estes estudos ficou provado, pela taxa de resposta e pela PFS, que os doentes com EGFR+, têm um enorme benefício se forem tratados com inibidores das tirosinaquinases, em primeira linha^{55,56,57}. Posteriormente, mesmo em relação à sobrevivência global, apesar das dificuldades de análise devido à possibilidade de aceder ao tratamento investigacional, uma vez tendo-se verificado progressão sob o tratamento padrão (“crossover”), foram atingidos valores impensáveis pouco tempo antes^{55,58,59}, ultrapassando os dois anos, quando pouco tempo antes, eram inferiores a um ano.

ALVOS MOLECULARES NO CANCRO DO PULMÃO – OS BIOMARCADORES

A metodologia subjacente ao desenvolvimento das mutações do EGFR como alvos terapêuticos, determinaram enorme interesse no que respeita à procura de outras mutações ativadoras da oncogénese dos cancros do pulmão. Formaram-se consórcios nacionais e internacionais para identificação de mutações oncogénicas, foi melhorada a tecnologia, permitindo analisar múltiplas mutações simultaneamente e a partir daí, desenvolverem inibidores mantendo a metodologia de desenvolvimento seguida em relação ao EGFR^{60,61}. Foram identificadas mutações condutoras do sinal proliferativo, sendo as mais frequentes as identificadas nos genes KRAS, NRAS, EGFR, BRAF, MET, HER2, PIK3CA, ALK, RAF1 e fusões nos genes RET, ALK, ROS1, NTRK. As mutações mais frequentes são as do KRAS/NRAS, que correspondem a 15 a 25% das mutações encontradas nos adenocarcinomas do pulmão⁶⁰, ainda atualmente sem que exista um inibidor aprovado, mas com múltiplos ensaios atualmente em curso, advinha-se que num futuro próximo será identificado inibidor^{60,62}. Os principais alvos moleculares que foram identificados e para os quais já existem inibidores conhecidos são o EML4-ALK, ROS1, BRAF, HER2, MET, NTRK. A prevalência destas mutações é desigual^{60,62}, porém, a sua inibição tem permitido alterar completamente a história natural da doença, aumentando a sobrevivência e melhorando de forma significativa a qualidade de vida destes doentes^{60,62}. A inibição do sinal oncogénico gerado pela fusão do EML4-ALK foi, o tratamento molecular que se seguiu ao do EGFR, tendo sido demonstrado que nos doentes com translocação do ALK, o Crizotinib foi superior ao tratamento com duplete de quimioterapia padrão⁶³, no tempo

livre de progressão, à taxa de resposta e à probabilidade de sobreviver um ano, respetivamente, 11 versus 7,0 meses, 75% versus 45% e 84% versus 79%⁶³. Quase simultaneamente este inibidor provou ser ativo para na translocação do ROS1, sendo obtidos excelentes resultados: 72% de respostas e 19,2 meses de tempo livre de progressão⁵³. Dada a sua atividade pan-inibidor das tirosinaquinases^{63,64} o Crizotinib é ativo nas translocações ALK e ROS1 e possui igualmente capacidade de bloquear o sinal induzido pela mutação no exão 14 do gene MET⁶⁵. Outra mutações, nos genes B-RAF, HER-2, RET, NTRK, com menor frequência, tendo inibidor específico e mostrando resultados aceitáveis⁶⁶, ainda que, nem sempre aprovadas e disponíveis⁶⁷.

O fator comum a todos estes tratamentos, é a necessidade de estar presente uma característica molecular do tumor, para que se verifique o benefício terapêutico. Daqui a noção de biomarcador está presente sempre que surge a necessidade de decisão terapêutica, desde a identificação da histologia, escamoso ou não escamoso, como relativamente à alteração molecular identificável, no tumor. Sem estas informações não é possível antecipar o benefício do doente impossibilitando a decisão terapêutica⁶⁸.

TRAÇOS CARACTERÍSTICOS DO CANCRO, HETEROGENEIDADE E RESISTÊNCIA TUMORAL AOS TRATAMENTOS

Ao longo desta “viagem” é clara uma clara evolução de conceitos no que se refere ao processo neoplásico. Inicialmente, a proliferação celular, a destruição do tumor era a única preocupação. Encontrar citotóxicos, definir intensidade de dose, tendo em conta a tolerância. Poste-

riormente, olhar também para as características do hospedeiro, com o conceito da personalização do tratamento inicialmente estudando polimorfismos e a sua influência na atividade dos citotóxicos. A estratégia da destruição direta das células tumorais, raramente foi coroada de êxito. No ano 2000, Hanahan e Weinberg, propuseram seis capacidades adquiridas pelas células tumorais durante o processo de desenvolvimento tumoral⁶⁹. Estas capacidades biológicas dos tumores, são elementos de um processo progressivo que se vai desenvolvendo até causar a disrupção anatômica e funcional do(s) órgão(s) onde se desenvolveu. Esta "pegada" biológica incluía as capacidades: sinal proliferativo permanente, insensibilidade aos fatores supressores do crescimento, resistência à apoptose, multiplicação celular permanente, indução da angiogênese, capacidade de invasão e metastização de outros órgãos. A instabilidade genômica (levando à heterogeneidade clonal) e a inflamação promovem todas as referidas capacidades⁶⁹. Em 2011, os mesmos investigadores⁷⁰ adicionavam a estas peculiaridades do cancro, outras ainda mais difíceis de controlar: reprogramação do metabolismo energético celular, libertar-se da destruição pela imunidade e recrutar células normais, contribuindo tudo em conjunto para a criação de uma área com características físicas, químicas e biológicas independentes, o microambiente tumoral⁷⁰. Todas estas características ligadas ao desenvolvimento tumoral, estão na gênese da heterogeneidade clonal tumoral⁷¹, estão na gênese da constatação, que na clínica diária todos reconhecemos: "independentemente da resposta ao tratamento, da duração do tempo livre de progressão, mais tarde ao mais cedo, o tumor irá progredir. Este desafio permanente tem vindo a impulsionar o desenvolvimento de novas opções terapêuticas com a finalidade de manter o tumor sob controlo e/ou,

encontrar novas opções de tratamento de 1.^a linha.

a. Inibidores do EGFR

Após o sucesso dos inibidores das tirosinaquinases de primeira geração^{55,56} e posteriormente, segunda geração⁵⁹ aumentado a resposta, o tempo livre de doença e a sobrevivência, surge a progressão da doença, entre 9-12 meses^{56,73}. Múltiplas estratégias, foram tentadas para manter a resposta e os benefícios do tratamento, mantendo-o, se estivesse clinicamente⁷⁴. Terapêuticas locais, nos casos de progressão oligometastática⁷⁵. Porém, a indução terapêutica e a instabilidade genética tumoral, originaram novas mutações, acabando por surgir clones resistentes ao tratamento em curso⁷⁶. Só uma nova inibição poderia controlar a doença e a qualidade de vida do doente⁷⁷. Era necessário identificar as mutações de resistência e criar inibidores, para bloquear o crescimento tumoral. A mutação T790m é a mutação de resistência que mais frequentemente causa progressão em doentes sob tratamento com inibidores das tirosinaquinases de 1.^a e 2.^a geração⁷⁶. Vários ensaios, inicialmente em segunda linha⁷⁸ após progressão da doença e identificada a mutação de resistência T790m, mostraram benefício adicionando mais 11 meses ao tempo livre de progressão. Posteriormente, em primeira linha⁷⁹, para tratamento dos doentes com mutações EGFR+, foram obtidos resultados nunca antes atingidos, um tempo livre de progressão de quase 19 meses e uma sobrevivência global de 38,6 meses⁷⁹. Tal como acontece após os inibidores de primeira linha, após tratamento com osimertinib, surge de novo progressão da doença⁸⁰, situação atualmente ainda não resolvida.

b. Inibidores do ALK

Após os resultados extraordinários surgidos na sequência do tratamento com Crizotinib, muito se avançou no tratamento dos doentes ALK⁺⁺^{82,83}. Cerca de 3 a 5% dos CNPCP têm fusão do ALK⁶³. Depois da progressão sob crizotinib, devido ao desenvolvimento de mutações, má penetração no sistema nervoso central ou intolerância, outras opções terapêuticas utilizando, o ceratinib⁸⁴, alectinib^{85,86} e brigatinib^{87,88}, demonstraram valor no prolongamento do tempo livre de progressão e globalmente da sobrevivência destes doentes. Posteriormente, testados em primeira linha versus crizotinib, o ceratinib, alectinib e o brigatinib mostraram acentuado benefício^{84,85,86,87,88}, tanto no que concerne ao tempo livre de progressão, controlo da doença envolvendo o sistema nervoso central, sendo que o alectinib é, e provavelmente, proximamente, o brigatinib também, tratamentos padrão, na primeira linha terapêutica dos doentes ALK⁺. Os inibidores de segunda geração aumentaram, em muito, o tempo livre de doença, tanto em após falência do crizotinib, mas fundamentalmente quando utilizados em 1.^a linha^{83,84, 85,86,87,88}, onde os valores medianos do tempo livre de progressão, são muito superiores a dois anos. Contudo, acaba por surgir progressão⁸⁹ em grande parte pelo aparecimento de novas mutações que determinam o surgimento de novos clones celulares resistentes a estas terapêuticas. O perfil mutacional dos clones celulares resistentes é diferente conforme o inibidor utilizado, conforme de primeira geração, ou segunda geração⁸⁹, sendo que nesta situação o perfil mutacional é mais complexo e difícil de tratar. A mutação ALK G1202R é a mais frequente⁸⁹ e a sua importância advém do facto dos clones celulares que possuem só poderem ser tratados com um novo inibidor do ALK o Lorlatinib⁹⁰. Nos estudos reali-

zados, utilizando biopsias seriadas de doentes submetidos a inibidores do ALK, verifica-se que a complexidade mutacional pós tratamento vai depender da variante⁹¹ e do inibidor utilizado⁸⁹. Nalguns casos, outros mecanismos de resistência, amplificação de genes e processos de transição epitélio mesenquimatoso, determinam, até ao momento qualquer opção válida de tratamento destes doentes^{89,91}.

c. Imunoterapia

Um dos “traços característicos” das células tumorais é a sua capacidade de fugir ao controlo imunitário. James Allison⁹², após ao longo dos anos 80-90 terem sido conhecidos mecanismos associados à função dos linfócitos T, propôs a hipótese destas células imunitárias poderem destruir as células tumorais se fossem bloqueados os reguladores negativos que controlam a resposta imune (Immune Check Points) e que impedem o aparecimento de fenómenos de auto-imunidade⁹². O melhor conhecimento dos mecanismos envolvidos^{93,94} no funcionamento imunitário, permitiu identificar dois tempos na resposta imunitária adaptativa⁹³. Por um lado, o processo de ativação linfocitária, que usualmente acontece ao nível dos gânglios linfáticos^{94,94} cujo regulador melhor estudado, foi o antigénio 4 do linfócito T (CTLA4), por outro, as proteínas bloqueadoras da resposta imune adaptativa ao nível tecidual, a proteína de morte celular programada 1 e o seu ligando (PD1/PDL1), permitiram concluir que, se essas proteínas pudessem ser bloqueadas, seria possível aumentar a eficiência imunológica anti-tumoral, ainda que, com risco acrescido de auto-imunidade⁹⁴. O conhecimento dos mecanismos funcionais associados à atuação da imunidade adaptativa, bem como, a cons-

tatação que existia alguma entre o teor da proteína PDL1 nos tecidos e células imunes e a resposta a eficiência dos bloqueadores do PD1/PDL1⁹⁴. É esta a base de todo um desenvolvimento meteórico de inibidores do “imuno-checkpoint” (ICP) e da sua aplicação clínica. Inicialmente, em segunda linha terapêutica^{95,96,97} em comparação com o docetaxel. Posteriormente, em primeira linha, quando a marcação da PDL1 \geq 50%⁹⁸. O conhecimento foi rapidamente evoluindo, a tentativa de identificar marcadores de resposta aos inibidores do ICP foi amplamente estudada. A associação entre a marcação por imuno-histoquímica de PDL1 no tumor e células linfóides e a resposta aos ICP foi muito procurada^{95,96,97,98}. Por outro lado, a proporção de mutações no tecido tumoral (TMB), como marcador de maior estímulo à resposta imune, foi também investigada como marcador⁹⁹. A possibilidade real, de um tumor com um elevado teor de mutações, ter uma maior proporção de mutações não sinónimas, tornando-se, o tecido tumoral, menos semelhante ao tecido normal, o que elevaria a probabilidade ser reconhecido, pela imunidade como “não self” e mais facilmente destruído, especialmente se os controlos de resposta imunitária fossem reduzidos com os ICP⁹⁹. Por outro lado, a carga tumoral, também foi investigada^{100,101}, sendo que, cada vez ficou mais claro, que o êxito com os ICP, também depende deste parâmetro. Daqui resulta o racional para as associações de ICP com quimioterapia¹⁰², com imunoterapia¹⁰³ e com quimioterapia e antiangiogénicos¹⁰⁴ que foram testadas, globalmente com êxito. De tudo isto resultou que uma destas opções terapêuticas, a associação ICP mais quimioterapia, esteja atualmente aprovada em muitos países, como tratamento padrão dos doentes com CNPC estadio IV, com bom estado geral e sem mutações ativadoras identificadas.

NOTAS FINAIS

Ao longo desta “viagem” de vinte anos (Figuras 1, 2, 3), pela evolução do tratamento e do prognóstico dos doentes com CNPC do pulmão, ressalta, para além da enorme melhoria nos tratamentos e seus resultados na quantidade e qualidade de vida, a enorme diversidade biológica dos tumores e como isso influencia o resultado final, dos tratamentos disponíveis para os doentes. Os tumores avançados, por definição, são, por definição, clonalmente heterogéneos, como resultado das soluções moleculares que encontram para sobreviver. À medida que um tumor evolui, mesmo sem tratamento, vai-se modificando biologicamente por este motivo. As intervenções terapêuticas disponíveis, aceleram essas modificações, resultando, no final, no aparecimento de clones celulares que resistem às opções terapêuticas disponíveis. Apesar disto, cada vez que tratamos um doente com cancro do pulmão avançado, o facto de reduzirmos a carga tumoral, bloquearmos o seu desenvolvimento, mesmo de forma provisória, permite aumentar a sobrevivência e fundamentalmente a qualidade de vida, que a progressão da doença maligna, usualmente compromete. Contudo, os bons resultados obtidos, aqui descritos, não são iguais para todos, utilizando um aforismo, muito conhecido em medicina, não há doenças, há doentes!... cada vez percebemos melhor, porque há doentes?! A identificação dos processos biológicos, a sua dinâmica, a interação molecular que constitui a vida em todas as suas formas, permite-nos perceber, que também na doença existe um caminho muito pessoal, muito dinâmico e em mutação permanente, cujos contornos não conseguimos muitas vezes compreender em toda a sua amplitude.

Figura 1. Evolução da Taxa de Resposta 2000-2020

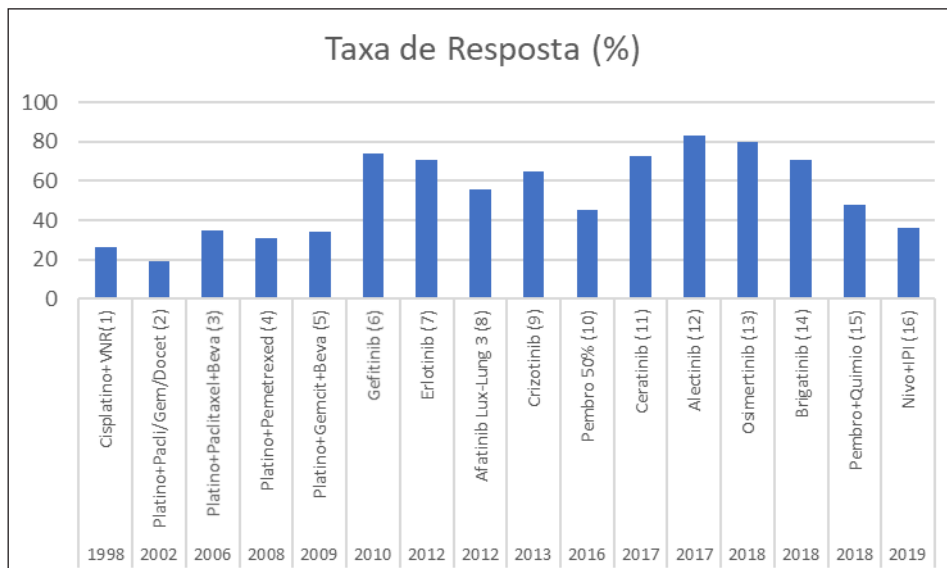


Figura 2. Evolução do Tempo Livre de Progressão 2000-2020

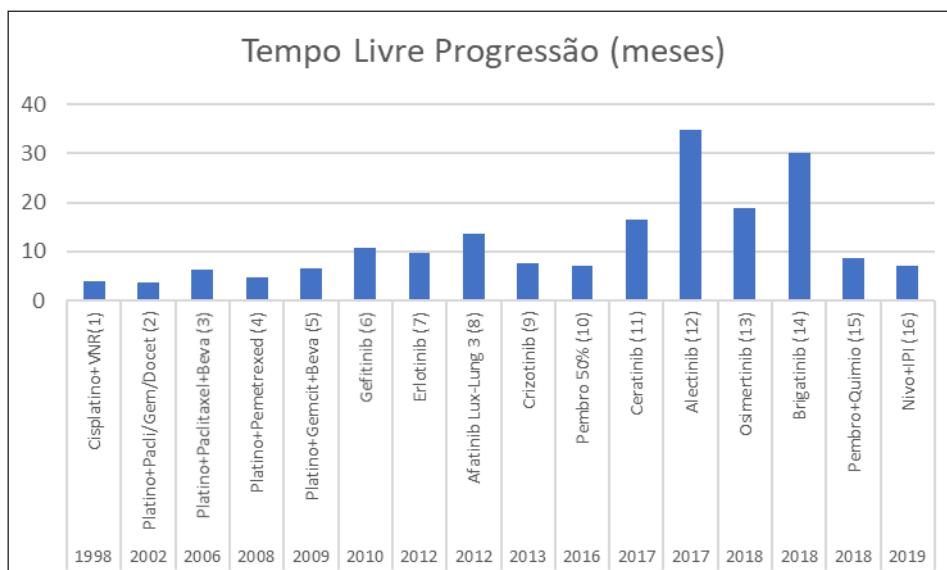
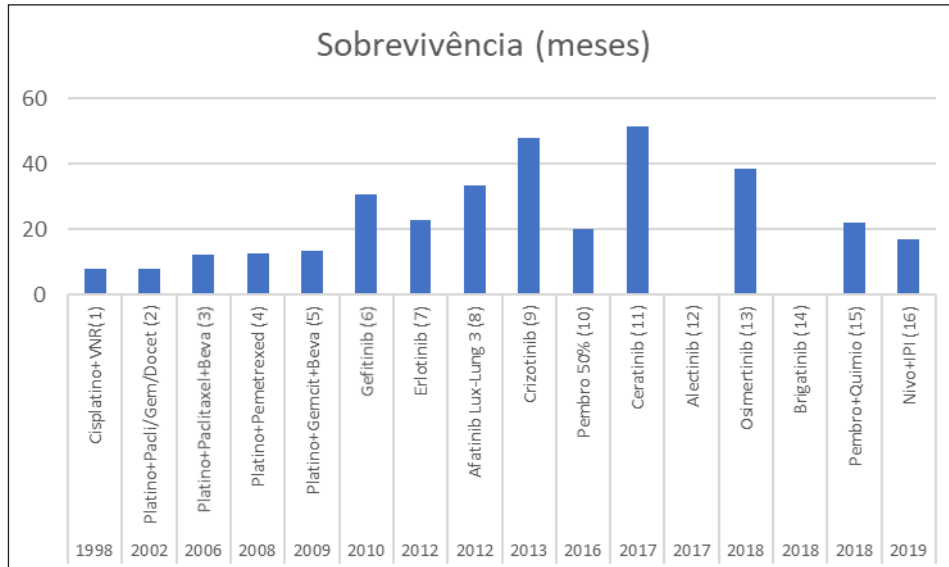


Figura 3. Evolução da Sobrevivência 2000-2020



Referências: (1) Wozniak AJ, JCO 1998, (2) Schiller JA N Engl J 2002; (3) Sandler N Engl J 2006; (4) Scagliotti JCO 2008; (5) Martin Reck JCO 2009; (6) Maemondo N Engl J 2010; (7) Rosell Lancet 2012; (8) Yang JCO 2012; (9) Alice Shaw N Engl J 2013; (10) M Reck N Engl J 2016; (11) Soria N Lancet 2017; (12) Solange P N Engl J 2017; (13) Soria N Engl J 2017; (14) Camidge N Engl J 2018; (15) Gandhi N Engl J 2018; (16) Hellman N Engl J 2019

BIBLIOGRAFIA

- Schiller JH, Harrington D, Belani CP, et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. *New Engl J Med.* 2002; 346:92-8
- Rapp E, Pater JL, Willan A, et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced, non-small-cell lung cancer – report of a Canadian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol.* 1988; 6:633-41
- Marino P, Pampallona S, Pretoni A, et al. Chemotherapy versus supportive care in advanced non-small-cell lung cancer: results of meta-analysis of the literature. *Chest* 1994; 106:861-5
- Grilli R, Oxman AD, Julian JA. Chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer: how much benefit is enough? *J Clin Oncol* 1993;11: 1866-72.
- Hespanhol V, Queiroga H, Magalhães A, et al. Survival Predictors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer* 13 (1995); 253-267
- Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using up-dated data on individual patients from 52 randomized clinical trials. *BMJ* 1995; 311:899-909
- Bunn P.A. (1991) The Role of Systemic Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer. In: Bunn P.A. (eds) *Current Topics in Lung Cancer. ESO Monographs (European School of Oncology)*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76784-5_5
- Wozniak AJ, Crowley JJ, Balcerzak SP, et al. Randomized Trial Comparing Cisplatin With Cisplatin Plus Vinorelbine in the Treatment of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Southwest Oncologic Group Study. *J Clin Oncol.* 1998. 16:2459-2465.

9. Murray N. The importance of dose and dose intensity in lung cancer. *Seminars in Oncology* 1987, 14 (4, Suppl): 20-28
10. Foote M. The Importance of Planned dose of chemotherapy on Time: Do we need to Change Our clinical Practice? *The Oncologist* 1998; 3:365-368
11. Lyman GH. Impact of Chemotherapy Dose Intensity on Cancer Patients. *JNCCN* 2009. 7: 99-108
12. Sheehan GR, Balaban EP, Frenkel EP. The impact of Dose Intensity of Standard Chemotherapy Regimens in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer. *Am J Clin Oncol* 1993; 3: 250-255
13. Camps VC, Provencio M Isla M, et al. Cisplatin plus Gencitabine versus cisplatin based triplet versus non platin sequential doublets in advanced non-small-cell lung cancer: a Spanish Lung Cancer Group Phase III randomized trial *J Clin Oncol* 2003; 21:3207-3213
14. Boni C, Tiseo M, Boni M. et al. Triplets versus doublets, with or without cisplatin, in the first line treatment of stage IIIB-IV non-small cell lung cancer (NSCLC) patients: a multicenter randomized factorial trial (FAST). *British Journal of Cancer* 2011; 106:658-665
15. Rossi A, Chiodini P, Barata F, et al. Six Versus Fewer Planned Cycles of First-Line Platinum-Based Chemotherapy for Non-Small-Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Patient Data. *Lancet Oncology* 2014; 11:1254-1262
16. Barata FJ, Parente B, Teixeira E, et al. Optimal duration of chemotherapy in non-small-cell lung cancer: multicenter, randomized, prospective clinical trial comparing 4 vs 6 cycles of carboplatin and gemcitabine. *J Thorac Oncol* 2007; 2 (suppl 4): S666 (abstr P2-235).
17. Peterson P, Park K, Fossella FV, et al. Is pemetrexed more effective in adenocarcinoma and large cell lung cancer than in squamous cell carcinoma? A retrospective analysis of a phase III trial of pemetrexed vs docetaxel in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). 12th World Conference on Lung Cancer (Abstracts). *J Thorac Oncol* 2007;2: S851.
18. Hanna N, Shephard F, Fossella FV, et al. Randomized Phase III Trial of Pemetrexed Versus Docetaxel in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy. *J Clin Oncol* 2004. 22:1589-1597
19. Chena CY,b, Changc Y, Shiha JY, et al. Thymidylate synthase and dihydrofolate reductase expression in non-small cell lung carcinoma: The association with treatment efficacy of pemetrexed. *Lung Cancer* 74 (2011) 132– 138
20. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel, J, et al. Phase III Study Comparing Cisplatin Plus Gemcitabine With Cisplatin Plus Pemetrexed in Chemotherapy-Naive Patients With Advanced-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clin Oncol* 2008. 26:3543-3551
21. Friedberg EC. How nucleotide excision repair protects against cancer. *Nat rev Cancer* 2001; 1:22-33
22. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 2006; 355:983-91
23. Gadzar AF. DNA Repair and survival in Lung Cancer – The Two faces of Janus. *N Engl J Med* 2007; 356:8
24. Zheng Z, Chen T, Xueli L, et al. DNA Synthesis and repair Genes RRM1 and ERCC1 in Lung Cancer. *N Engl J Med* 2007; 356:800-8
25. Ceppi P, Volante M, Novello S, et al. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355:570-80
26. Shin DM Scagliotti G Kindler, et al. A phase III trial of pemetrexed in malignant (MPM) patients: clinical outcome, role of vitamin supplementation, respiratory symptoms and lung function (abstract 1175). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22:294a, 2002
27. Chen IC, Chang LY, Shih YJ, et al. Thymidylate synthase and dihydrofolate reductase expression in non-small-cell lung carcinoma: the association with treatment efficacy of pemetrexed. *Lung Cancer* 2011; 74:132-139
28. Ceppi P, Volante M, Saviozzi S, et al. Squamous cell carcinoma of the lung compared with other histotypes shows higher messenger RNA and protein levels for thymidylate synthase. *Cancer* 2006; 107: 1589-96
29. Shin DM Scagliotti G Kindler, et al. A phase III trial of pemetrexed in malignant (MPM) patients: clinical outcome, role of vitamin supplementation, respiratory symptoms and lung function (abstract 1175). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22:294a, 2002

- nical outcome, role of vitamin supplementation, respiratory symptoms and lung function (abstract 1175). Proc Am Soc Clin Oncol 22:294a, 2002
30. Chabner BA, Koop E, Niederhuber JE, et al. Homeage to Judah Folkman. The Oncologist 2008; 13: 205-211
 31. Folkman N. Clinical applications of research on angiogenesis. N Engl J Med 1995;333: 1757-63.
 32. Herbst RS, Onn A, Sandler Alan. Angiogenesis and Lung Cancer: Prognostic and Therapeutic implications. J Clin Oncol 2005. 23: 3243-3256
 33. Sandler A, Gray R, Perry MC, et al. Paclitaxel-Carboplatin Alone or with Bevacizumab for Non-Small-Cell Lung Cancer. N engl J Med 2006. 355:2542-50
 34. Reck M, von Pawel J, Zatloukal P, et al. Phase III Trial of Cisplatin Plus Gemcitabine With Either Placebo or Bevacizumab As First Line therapy for Nonsquamous Non-Small-Cell Cancer: AVAIL. J Clin Oncol 2009. 27:1227-1234
 35. Reck M, Kaiser R, Mellemegaard A, et al. Docetaxel plus nintedanib versus docetaxel plus placebo in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (LUME-Lung 1): a phase 3, double-blind, randomised controlled trial Lancet Oncol 2014. 15:143-145
 36. Hanna NH, Kaiser R, Sullivan R, et al. Nintedanib plus pemetrexed versus placebo plus pemetrexed in patients with relapse or refractory, advanced non small cell lung cancer (LUME-LUNG2): A randomized, double-blind, Phase III trial. Lung Cancer 2016. 102:65-73
 37. Ciulleanu T, Brodowicz T, Zielinski C, et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care, versus placebo plus best supportive care for non-small-cell: a randomized double blind, phase 3 study. Lancet 2009; 14: 253-63
 38. Paz-Ares L, Marinis F, Dediu M, et al. Maintenance therapy with pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care after induction therapy with pemetrexed plus cisplatin for advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (PARAMOUNT): a double blind, phase 3, randomized controlled trial. Lancet Oncol 2012; 12: 247-55
 39. Paz-Ares L, Marinis F, Dediu M, et al. PARAMOUNT: Final Overall Survival Results of the Phase III Study of Maintenance Pemetrexed Versus Placebo Immediately After Induction treatment With Pemetrexed Plus Cisplatin for Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. J Clin Oncol 2013; 31: 2895-2902
 40. Azzoli CG, Baker S Jr, Temin S, et al. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline update on chemotherapy for stage IV non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2009; 27: 6251-66
 41. Sandler A. Bevacizumab in non-small-cell lung cancer. Clin Cancer Res 2007; 13: s4613-16
 42. Edwin F. et al. A Histological Perspective of EGF Receptor and related Systems. In: Patel T.B., Bertics PJ (eds) Epidermal Growth Factor. Methods in Molecular Biology, 2006; Vol 327. Humana Press
 43. Hirsh FR, Varella GM, Bunn PD Jr, et al. Epidermal grow factor receptor non-Small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. J Clin Oncol 2003. 20: 3798-3807
 44. Mendelshon J. Blockage og receptors for growth factors: an anticancer therapy-the fourth annual Joseph H Burchenal American Association for Cancer Research Clinical Research Award Lecture. Clin Cancer Research 2000; 6: 747-753
 45. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of specific inhibitor of BCL-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. New England J Med 2001; 344: 1031-37
 46. Kris MG, Natale NB, Herbs RS, et al. Efficacy of gefitinib an inhibitor of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase, in Symptomatic Patients of Non-Small-Cell Lung Cancer. JAMA 2003; 16: 2149-2158
 47. Fukuoka M, Yano S, Giaccone J, et al. Multi-Institutional Randomized Phase II Trial of Gefitinib for Previously Treated Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer 2003; 12:2237-42
 48. Giaccone G, Herbst R, Manegold C, et al. Gefitinib in Combination With Gemcitabine and Cisplatin in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase III Trial – INTACT 1. J Clin Oncol 2004; 22: 777-784
 49. Herbst R, Giaccone G, Shiller JH, et al. Gefitinib in Combination With Paclitaxel and Carboplatin

- in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: A Phase III Trial – INTACT 2. *J Clin Oncol* 2004; 22: 785-794
50. Gatzmeier U, Pluzanska A, Szczesna A, et al. Results of phase III trial of Erlotinib combined with cisplatin and gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2004; 23 (Abstract #7010):617
 51. Herbst RS, Prager D, Herman R, et al. Tribute: a phase III trial of Erlotinib HCl (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel (CP) in advanced non-small cell lung cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2004; 23 (Abstract #2000):127
 52. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, et al. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350: 2129-39
 53. Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleani T, et al. Erlotinib in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2005; 353; 123-132
 54. Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361: 947-957
 55. Maemondo M, Inoue A, Kobayashi K. et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small cell lung cancer with mutated EGFR. *N Engl J Med* 2010. 25:2380-8
 56. Rosell R, Carcereny E, Gervais R., et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicenter, open-label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012. 3:239-46
 57. Sequist LV, Yang JC, Park K, et al. Phase III study of Afatinib or Cisplatin plus Pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGR mutations. *J Clin Oncol* 2013. 31:3327-34
 58. Leon F, Golsorkhi A, Drozdowskyj A, et al. Overall Survival Analysis of First Line Erlotinib Versus Chemotherapy in the EURTAC Study Population Controlling for the Use of Post-Study Therapy. *Annals of Oncology* 2014; Suppl. 4:page iv447
 59. Yang JCH, Wu YL, Schuler M, et al. Afatinib versus cisplatin -based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (Lux-Lung 3 and Lux-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomized, phase 3 trials. *Lancet Oncol* 2015. 16; 2: P141-151
 60. Sholl ML, Aisner DL, Varella-Garcia M, et al. Multi-institutional Oncogenic Driver Mutation Analysis in Lung Adenocarcinoma The Lung Cancer Mutation Consortium Experience. *J Thorac Oncol*. 2015;10: 768–777
 61. Reis D, Marques C, Dias M, et al. Mutational profile of non-small-cell lung cancer patients: Use of next generation sequencing *Pulmonology* 2019. *Pulmonology* 50-52
 62. Pakkala S, Ramalingam SS Personalized therapy for lung cancer:striking a moving target. *JCI Insight*. 2018. 3;15: 120858
 63. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-Line Crizotinib versus Chemotherapy in ALK-Positive Lung Cancer. *N engl J Med* 2014; 371: 2167-2177
 64. Shaw AT, I.Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2014. 371: 1963-1971
 65. Waqar NS, Morgensztern D, Sehn J, et al. Met Mutation Associated with Responsiveness to Crizotinib. *J Thoracic Oncol* 2015; 5: e29-e31
 66. Carper MB, Claudio PP. Clinical potential of gene mutations in lung cancer. *Clin Transl Med* 2015. 4: 33
 67. Marino FZ, Bianco R, Accardo M, et al. 200Molecular heterogeneity in lung cancer: from mechanisms of origin to clinical implications. *Int J Med Sci* 2019. 16;; 7:981-989
 68. Villalobos P, Wistuba II. Lung Cancer Biomarkers. *Hematol Oncol clin North Am*. 2017. 31; 1: 13-29
 69. Hanahan D and Weinberg RA. Hallmarks of Cancer *Cell* 2000. 100; 7: 57-70
 70. Hanahan D and Weinberg RA. Hallmarks of Cancer *Cell* 2011. 144; 4: 646-674
 71. Aparicio S, Caldas C. The implications of clonal Genome Evolution for Cancer Medicine. *N Engl J Med* 2013; 368: 842-51
 72. Jia Q, Wu W, Wang Y. et al. Local mutational diversity drives intratumoral immune heterogeneity in non-small cell lung cancer. *Nature Communications* 2018. 9:5361
 73. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations

- of epidermal grow factor receptor: an open label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 118; 2:121-128
74. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of epidermal grow factor receptor: an open label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 118; 2:121-128
 75. Mitsudomi T, Morita S, Yatabe Y, et al. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of epidermal grow factor receptor: an open label, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010; 118; 2:121-128
 76. Van Assche K, Ferdinande L, Lievens Y et al. EGFR mutation positive stage IV non-small cell lung cancer: treatment beyond progression. *Front Oncol* 2014; 4:350
 77. Weickhardt AJ, Scheier B, Burke JM, et al. Local ablative therapy of oligoprogressive disease prolongs disease control by tyrosine kinase inhibitors in oncogene-addicted non-small-cell- lung cancer. *J Thorac Oncol* 2012. 7; 12: 1807-18014
 78. Yu HA, Arcila ME, Rekhtman N et al. Analysis of tumor specimens at the time of acquired resistance to EGFR-TKI therapy in 155 patients with EGFR-mutant lung cancers. *Clin Cancer Res* 2013. 19; 8: 2240-2247
 79. Jann PA, Yang JC-H, Kim D-W et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015. 372; 18:1689-1699
 80. Gross G, Tsai CM, Sheferd FA, et al. Osimertinib for pretreated EGFR Thr790MET-positive advanced non-small-cell lung cancer (AURA2): a multicentre, open label, single arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016; doi: 10.1016/S1470-2045; 16: 30508-3
 81. Soria JC, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in Untreated EGFR-Mutated advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Eng J Med* 2018. 378: 113-125
 82. Ramalingam SS, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with Osimertinib in untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *N Engl J Med* 2020. 382: 41-50
 83. Ricordel C, Friboulet L, Facchinetti F et al. Molecular mechanisms of acquired resistance to third-generation EGFR-TKIs in EGFR T790m-mutant lung cancer. *Annals of Oncology* 2018; 29 (Supplement 1) i28-i37
 84. Camidge R, Po W, Sequist LV. Acquired Resistance to TKIs in solid tumours: learning from lung cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11: 473-481
 85. Making the first move in EGFR-driven or ALK-driven NSCLC: first generation or next generation TKIs? *Nat Rev Clin Oncol* 2018;
 86. Schaw AT, Kim TM, Crinó L, et al. Ceratinib versus chemotherapy in patients with alk-rearranged non-small-cell- lung cancer previously given chemotherapy and crizotinib (ASCEND-5): a randomized, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* 2017. 18; 7: 874-886
 87. Peters S, Camidge R, Shaw AT, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017. 377: 829-38
 88. Hida T, Nokihara H, Kondo M, et al. Alectinib versus crizotinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer (J-ALEX): an open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet* 2017. 390; 10089: 29-39
 89. Huber RM, Hansen KH, Paz-Ares L, et al. Brigatinib in Crizotinib-Refractory ALK+ NSCLC: 2-Year Follow-up on Systemic and Intracranial Outcomes in Phase 2 ALTA Trial. *J Thorac Oncol* 2020. 15; 3: 405-415
 90. Camidge DR, Kim HR, Ahn MJ, et al. Brigatinib versus Crizotinib in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *New Engl J Med* 2018. 379: 2027-39
 91. Gaynor JF, Dardaei L, Yoda S, et al. Molecular Mechanisms of Resistance of First and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discovery* 2026. 6; 10: 1118-1133
 92. Solomon BJ, Besse B, Bauer TM, et al. Lorlatinib in patients with ALK-positive non-small-cell lung cancer: results from a global phase 2 study. *Lancet Oncol* 2018. 19; 12: 1654-1667
 93. Lin JJ, Zhu VW, Yoda S. Impact of EML4-ALK Variant on Resistance Mechanisms and Clinical Outcomes in ALK-Positive Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2018. 36: 1199-1206
 94. Ribas A Releasing the Brakes on Cancer Immunotherapy. *N Engl J Med* 2015; 373;16: 1490-92

95. Pardoll D. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature* 2012. 12:252-264
96. Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumor microenvironment. *Nature Rev. Immunol.* 2008. 8; 467-477
97. Rizvi NA, Mazieres J, Planchard D, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single arm trial. *Lancet Oncol*, 2015; 16:257-265
98. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 373:1627-1639
99. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl Med.* 2015; 372:2018-2028.
100. Reck M, Abreu DR, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD L1 Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016; 375:1823-1833
- 101.
102. Reck M, Abreu DR, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD L1 Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016; 375:1823-1833
103. Rizvi AN, Hellmann HD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015 April 3; 348(6230): 124-128
104. Katsurada M, Nagano T, Tachihara M, et al. *Anticancer Research* 2019. 39: 815-825 (2019)
105. Warth A, Cortis J, Soltermann A, et al. Tumour cell proliferation (Ki-67) in non-small cell lung cancer: a critical reappraisal of its prognostic role. *British Journal of Cancer* 2014. 111: 1222-1229
106. Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2018; 378:2078-92
107. M.D. Hellmann, T.-E. Ciuleanu, A. Pluzanski, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med* 2019; 381:2020-2031
108. Socinski MA, Jotte RM, Cappuzzo F, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Nonsquamous NSCLC. *N Engl J Med* 2018;378: 2288-301