

Università degli Studi di Genova
Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche
Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia



**Tossicità endocrina e sopravvivenza in
pazienti in terapia con Nivolumab per
tumore polmonare non a piccole
cellule in stadio avanzato**

Relatore:

C.mo Professor Diego Ferone

Candidato:

Correlatrice:

Francesco Caruso

C.ma Professoressa Manuela Albertelli

Anno accademico 2020-2021

INDICE

1. Il Nivolumab e l'immunoterapia	1
1.1. L'immunoterapia.....	1
1.2. Nivolumab e il suo ruolo nella terapia di NSCLC	7
1.3. Eventi avversi correlati all'immunità (irAEs).....	11
2. Background e scopo dello studio.....	15
2.1. Tossicità endocrine.....	15
2.2. Overall survival	25
2.3. Obiettivo dello studio	27
3. Materiali e metodi	28
3.1. Criteri di Inclusione.....	28
3.2. Disegno di Studio	29
3.3. Analisi statistica	30
4. Risultati dello studio	32
4.1. Tossicità endocrine.....	32
4.2. <i>Overall survival</i> ed insorgenza di irAEs	37
5. Discussione	40
Conclusioni	47
INDICE DELLE FIGURE	49
INDICE DEI GRAFICI	51
INDICE DELLE TABELLE.....	52
BIBLIOGRAFIA	53

1. Il Nivolumab e l'immunoterapia

1.1. L'immunoterapia

È ormai noto come vi sia un'importante correlazione tra il sistema immunitario e le cellule tumorali: le cellule dell'immunità ricoprono un ruolo di prima linea nella difesa contro eventuali cellule mutate riconoscendone i relativi antigeni ed eliminandole il prima possibile, contrastando così la formazione di possibili nuovi tumori. Tale meccanismo tuttavia non ha sempre successo ed è in questi casi che le cellule neoplastiche trovano terreno fertile per proliferare indisturbate: negli anni diversi studi hanno negli anni dimostrato come non solo l'espressione di determinati fattori permetta al tumore di eludere le difese immunitarie, ma sarebbero anche in grado di reclutare determinate cellule e sfruttarne le attività a proprio vantaggio (1). Con il termine "Immunoterapia" ci si riferisce quindi a tutti quei trattamenti che vanno a sfruttare il sistema immunitario, potenziando la risposta diretta contro le cellule tumorali già intrinsecamente presente o innescandone una ex novo. Questo campo sta vedendo nel corso dell'ultima decade una rapida e consistente evoluzione, andata di pari passo con le nuove scoperte circa la biologia tumorale: scoprendo le basi molecolari dell'immunoescape sono stati individuati potenziali bersagli terapeutici, è chiaro che nei prossimi anni si assisterà a nuove importanti scoperte che, potenzialmente, permetterebbero ad un'ulteriore evoluzione di questo particolare approccio terapeutico.

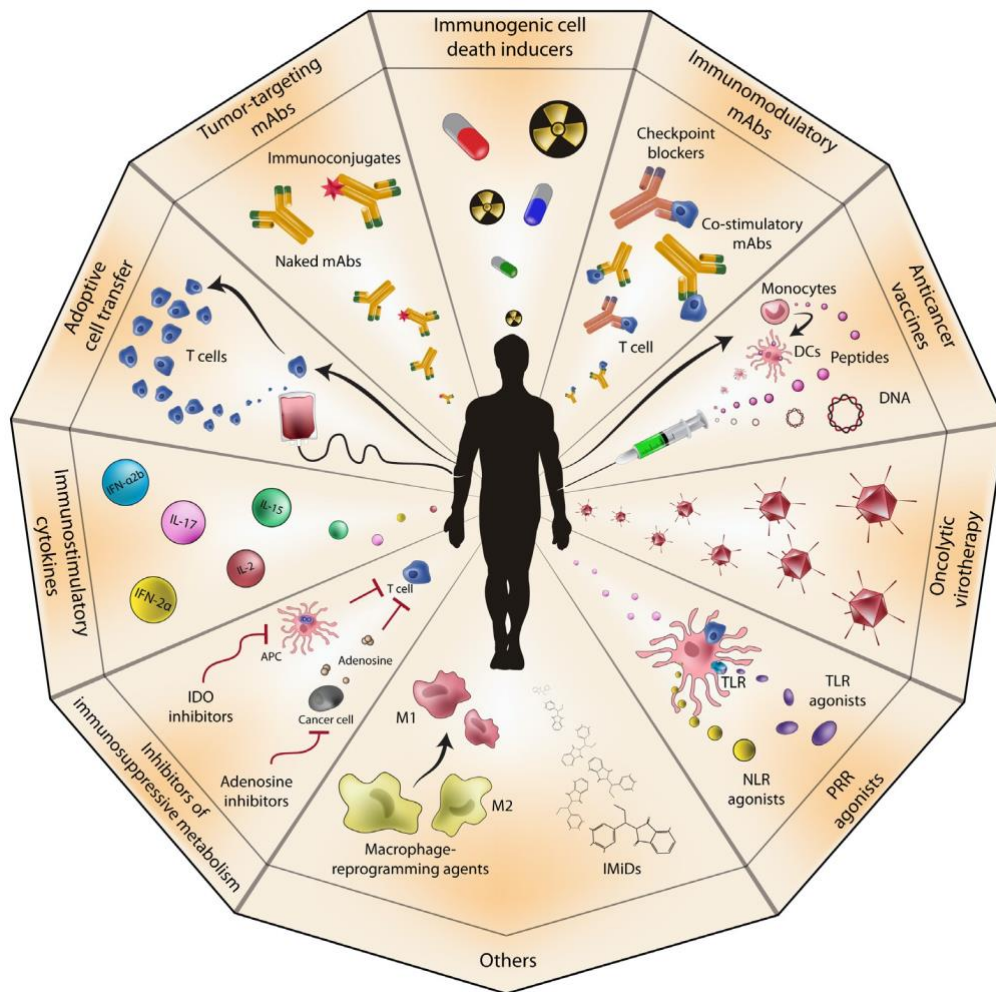


Figura 1. Le principali forme di immunoterapia (2)

Ad oggi sono state sviluppate svariate classi di farmaci immunoterapici, ciascuna caratterizzata da un peculiare meccanismo di azione, che vengono per convenzione classificate in “Active” e “Passive” (2,3). Si considera immunoterapia passiva tutto quell’insieme di approcci che prevedono l’infusione di agenti, che siano questi componenti del sistema immunitario o altro, che abbiano una funzione propria di attacco nei confronti delle cellule tumorali. I trattamenti considerati “attivi” dall’altra parte potenziano il sistema immunitario del paziente in questione (3). Questa distinzione rimane per lo più scolastica, dato che gli effetti di questi farmaci

in vivo sembrerebbero essere ben più complessi, mescolando in genere aspetti di immunizzazione attiva ad aspetti di immunizzazione passiva (2).

1.1.1 Immunoterapia Passiva

Gli Anticorpi monoclonali con Target tumorali sono sicuramente una delle classi più rappresentate, queste immunoglobuline ingegnerizzate antagonizzano le cellule tumorali sfruttando diverse strategie; si riconoscono di fatto 5 meccanismi di azione: in prima istanza ci sono anticorpi nudi che inibiscono vie di segnalazione necessarie per la sopravvivenza e progressione delle cellule tumorali, risparmiando invece le sane; un esempio è il Cetuximab diretto contro il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) (4). Secondo gruppo è quello di anticorpi che attivano recettori potenzialmente letali espressi sulla superficie delle cellule maligne, come ad esempio il Tigtuzumab (CS-1008) diretto contro il recettore della famiglia dei fattori di necrosi tumorali TNRSF108 (5). Il terzo gruppo corrisponde agli anticorpi monoclonali coniugati con molecole tossiche per la neoplasia o radionuclidi, come ad esempio Gemtuzumab ozigamicin, farmaco combinante un'azione diretta contro il CD33 e una tossina batterica, studiato per la terapia della leucemia mieloide acuta (6). Quarto raggruppamento è quello di anticorpi liberi con funzione di opsonizzare le cellule tumorali, innescando pertanto i processi di citotossicità e fagocitosi anticorpo-dipendente; importante rappresentante di tale meccanismo di azione è Rituximab, immunoglobulina ad azione specifica su CD20, oggi approvata per il trattamento di diverse neoplasie tra cui la leucemia cronica linfocitica e linfoma non Hodgkin (7). La quinta e ultima classe è rappresentata dai recentemente sviluppati anticorpi bispecifici, altresì chiamati BiTEs (Bi-specific T-cell engagers): molecole

che rivestono una duplice attività bersagliando due antigeni: il primo presente sulla cellula neoplastica, mentre il secondo specifico per il linfocita T; tra i primi farmaci approvati di questa classe si ricorda Blinatumomab, molecola diretta contro CD-19 e CD3, approvata per la terapia della leucemia linfoblastica acuta Philadelphia negativa negli adulti (8). Tra le tecniche di immunoterapia passiva rientra anche Adoptive cell transfer: questa prevede, in genere la raccolta, di linfociti in circolo o infiltranti il tumore, tali cellule saranno sottoposte ex vivo a processi di modifica, espansione, selezione o attivazione; si ottiene così un pool di cellule potenziate nella loro capacità di risposta immunitaria antitumorale, che sarà quindi somministrato al paziente, spesso dopo un ciclo di terapia di condizionamento che elimini in parte la preesistente popolazione cellulare (9). Particolarmente promettente in questo ambito è la branca dei CAR (Chimeric antigen receptors), recettori progettati per reagire a specifici antigeni espressi dalla neoplasia, inducendo una risposta citotossica o potenziando la risposta immunitaria (10). I linfociti T ingegnerizzati per esprimerli si stanno dimostrando essere efficaci nel trattamento di malignità ematologiche tra cui mieloma multiplo e linfoma a cellule B (11).

L'ultima classe di trattamenti generalmente classificata come immunoterapia passiva sono i virus oncolitici (2) : questo approccio, ancora in fase di studio, sfrutterebbe la capacità di tali microrganismi di replicare selettivamente all'interno della neoplasia avendo un'attività sia direttamente oncolitica e citotossica, che indiretta inducendo una forte risposta infiammatoria nel microambiente tumorale che colpisce la neoplasia sia per effetto *bystander* che compromettendone la vascolarizzazione (12,13).

1.1.2 Immunoterapia Attiva

Le citochine sono una famiglia di molecole che prese come insieme regolano virtualmente tutte le funzioni biologiche, per questo motivo sono stati studiati diversi protocolli di utilizzo che ne sfruttassero il potere immunostimolatore (1). Di fatto non sono stati raggiunti molti risultati incoraggianti: se da un lato è molto difficile prevedere il risultato del trattamento, data la complessa interazione tra le diverse citochine (1), dall'altro gli effetti ottenuti dalla somministrazione delle citochine si sono spesso rivelati insufficienti se non utilizzandole come adiuvante (2). Solo due citochine hanno ad oggi ricevuto l'approvazione dalla U.S Food and Drug Administration (FDA) come monoterapia in patologie tumorali: IFN- α (per leucemia a cellule capellute, linfoma non Hodgkin follicolare, melanoma e sarcoma di Kaposi correlato ad AIDS) e IL-2 (per carcinoma a cellule renali avanzato e melanoma metastatico) (14). A causa di diversi fattori, tra cui l'individualità di risposta e le tossicità associate alla somministrazione ad alte dosi, questi due farmaci sono oggi stati relegati ad un utilizzo molto più sporadico, favorendo, invece, altre classi di immunoterapici (14,15).

Il campo dell'immunoterapia basata sulle cellule dendritiche raggruppa diverse tecniche che spesso prevedono il prelievo ed isolamento di monociti da donatore o dal paziente stesso, questi saranno poi amplificati o ne sarà indotto il differenziamento ex vivo (16); le cellule così ottenute sono poi esposte ad agenti che ne promuovano la maturazione come GM-CSF (*Granulocyte macrophage colony-stimulating factor*), data l'azione prevalentemente immunosoppressiva delle controparti immature (16). Di fatto ad oggi sono stati sviluppati diversi approcci per l'utilizzo delle cellule dendritiche, che per lo più ne prevedono

l'esposizione a fonti di antigeni associati alla neoplasia quali derivati antigenici, mRNA o particolari vettori (17). Il razionale dietro a questa terapia si basa sull'evidenza che infondere cellule dendritiche abbia un effetto stimolante la risposta mediata da cellule T, seppur combinato a un'aspecifica azione sulla risposta immune (2,17). Una forma di immunoterapia attiva studiata è quella dei vaccini anticancro, basati sull'esposizione del paziente in questione a peptidi o sequenze di DNA tumorali: l'inoculazione di questi elementi, combinata a fattori immunostimolanti permetterebbe di sviluppare una buona sensibilizzazione (18). Per quanto concerne le tecniche basate su composti peptidici ottenere una risposta efficace non è stato semplice: diversi fattori, come, soprattutto, la lunghezza della catena peptidica, ne influenzano pesantemente l'efficacia terapeutica (2). Per migliorare quindi l'effetto di questa tecnica diversi studi si sono focalizzati sulle terapie adiuvanti e, soprattutto, sul sistema di trasporto dei peptidi (19) ottenendo buoni risultati attraverso le nanoparticelle. Discorso affine può essere fatto circa i vaccini antitumorali basati su DNA: nonostante risultati incoraggianti in vitro anche queste molecole hanno dimostrato insufficienti risultati in vivo se usati da soli; per questo motivo sono state studiate diverse associazioni con altre immunoterapie, con promettenti esiti (20). I recettori PRR (Pattern Recognition Receptors), grande gruppo di proteine transmembrana coinvolte nel riconoscimento di diverse sostanze tra cui i pattern molecolari associati a danni microbi (rispettivamente DAMPs e MAMPs), hanno dimostrato potenzialità nell'immunoterapia: sembrano avere un ruolo pro-infiammatorio, attivando tra gli altri la secrezione di NF- κ B, Interferoni, TNF α , nonché favoriscono la maturazione delle cellule dendritiche e l'attivazione dei macrofagi (1). In particolare FDA ha approvato diversi agonisti dei TLR (Toll-

like receptors) come il bacillo di Calmette-Guérin, variante attenuata di *Mycobacterium Bovis*, che è sfruttata per questa sua caratteristica nella terapia del carcinoma a cellule uroteliali della vescica se non invade la tonaca muscolare (21). Imiquimod è un altro farmaco agonista di TLR7 utilizzato nella terapia di diverse patologie, soprattutto dermatologiche, tra cui il carcinoma basocellulare (22). Infine ricordiamo tra gli approcci di immunoterapia attiva gli anticorpi monoclonali immunomodulatori; queste particolari immunoglobuline bersagliano componenti cellulari o solubili del sistema immune, ottenendo un effetto terapeutico attraverso 4 vie potenziali: inibendo i recettori immunosoppressivi sulla superficie dei linfociti T, CTLA4 e PD-1; inibendo i ligandi di questi stessi recettori, come il CD274, altresì conosciuto come PD-L1; attivando recettori costimolatori come CD137 o GITR; (23,24) infine neutralizzando fattori immunosoppressivi come TGF- β 1. (25) I risultati clinici principali si sono ad oggi ottenuti proprio sfruttando PD-1 e CTLA4, la classe di farmaci in questione è quella dei cosiddetti Immunocheckpoints inhibitors, oggetto dell'elaborato, che verrà analizzata più nel dettaglio.

1.2. Nivolumab e il suo ruolo nella terapia di *Non Small Cell Lung Cancer* (NSCLC)

Gli inibitori degli immunocheckpoints si sono dimostrati capaci di migliorare efficacemente la risposta antitumorale e ci si aspetta che le sempre maggiori conoscenze riguardo la peculiarità immunologiche delle neoplasie porteranno ad un ulteriore sviluppo di questa classe (2). Una delle prime vie studiate con successo è

stato il recettore “*Programmed cell death-1*” (PD-1 o altresì conosciuto come CD279): questo è fisiologicamente espresso da cellule B e T attivate, con la funzione di andare a mitigare la risposta immunitaria (1). L’espressione di questa proteina transmembrana sembra essere indotta da fattori di trascrizione tra i quali NFAT, NOTCH, FOX: ad esempio diverse evidenze dimostrano come ci sia iperespressione di questa proteina nel corso di infezioni virali croniche, proprio per influenza di FOX-O1 (26,27).

L’azione si ottiene attraverso il legame tra PD1 e il suo ligando PD-L1, altra proteina transmembrana fisiologicamente espressa da varie cellule tra cui macrofagi, linfociti, cellule dendritiche ed alcuni epitelii, soprattutto se esposti a infiammazione (28). L’espressione di tale composto sembrerebbe, infatti, associata ad un microambiente ricco di linfociti CD8 e citochine proprie della risposta di tipo Th1. L’interazione tra i due componenti risulta in inibizione della proliferazione delle cellule PD-1 positive, della produzione di citochine e in generale si avrebbe un effetto proapoptotico sulle cellule T (28,29). (vedi Figura 2)

È oramai risaputo come le cellule tumorali traggano vantaggio da questa via di segnalazione esprimendo i ligandi PD-L1 e PD-L2 in modo da eludere la risposta immunitaria (30): tali recettori sono stati ritrovati nei linfociti infiltranti (TIL) di svariati tumori ed è chiaro come l’espressione di PD-L1 sia associata a prognosi peggiore in tumori quali il Carcinoma a cellule renali o il Carcinoma Polmonare non a piccole cellule, mentre sembrerebbe un fattore prognostico positivo nel Melanoma (28).

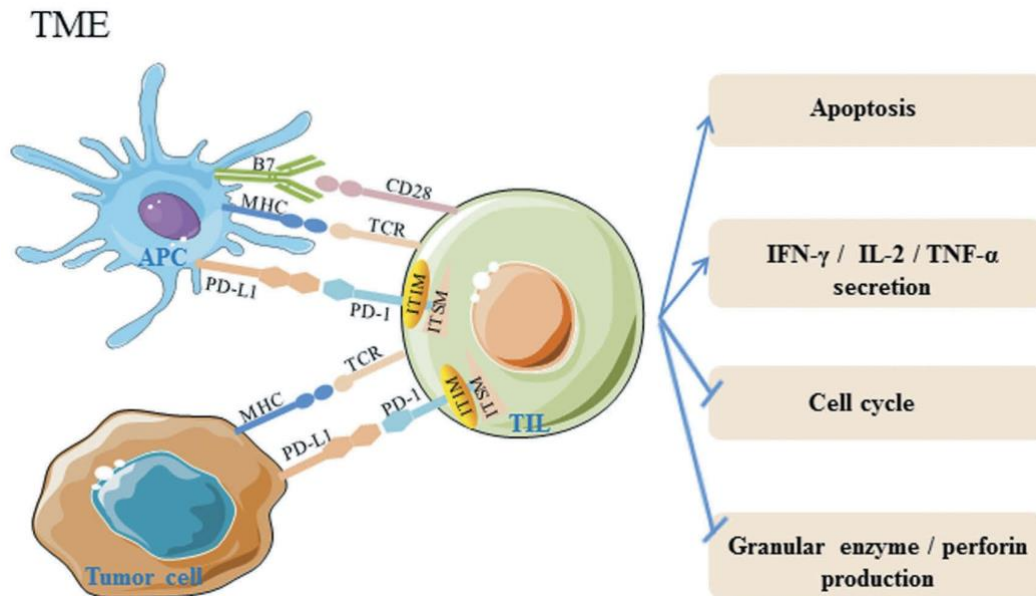


Figura 2. Effetti dell'interazione PD-1/PD-L1 su linfociti T e microambiente tumorale (29)

Oltre alla via PD-1/PD-L1, anche CTLA-4 ha suscitato notevole interesse per l'immunoterapia oncologica; il meccanismo di azione si basa sull'alta affinità che questo esercita su CD80 e CD86 sulla superficie delle cellule presentanti l'antigene. Avvenuto il legame ne consegue un'interruzione del segnale dei due recettori e quindi si perde così il loro ruolo costimolatorio sul CD28 espresso invece dalle T effettrici (31).

Bloccare pertanto l'attività dei checkpoint immunitari è, quindi, diventata una prominente strategia nell'immunoterapia oncologica. Il farmaco che ha dato il via all'utilizzo clinico di questa classe è stato un anticorpo monoclonale diretto contro CTLA-4, Ipilimumab, che per primo ha si è dimostrato dare importanti benefici sulla sopravvivenza di pazienti con melanoma, studi che hanno portato poi alla sua approvazione nel 2011 dalla FDA (32–34). A partire da Ipilimumab sono stati

sviluppati ed approvati diversi anticorpi monoclonali, caratterizzati da diversi target di azione (28): si ricordano tra gli altri Nivolumab, Pembrolizumab e Cemiplimab, anticorpi diretti contro PD-1, nonché Atezolizumab ed Avelumab, diretti invece contro PD-L1.

Nivolumab, oggetto di questo elaborato, agisce proprio legandosi ad altissima affinità a PD-1 e impedendone l'interazione con i ligandi PD-L1 e PD-L2: viene così ostacolata l'inibizione della risposta immunitaria cellulare. Tale anticorpo monoclonale è stato inizialmente approvato da FDA nel 2014 per il trattamento del melanoma e negli anni successivi si sono aggiunte altre indicazioni tra cui RCC e NSCLC.

Focalizzandoci sulla terapia del NSCLC, Nivolumab ha ottenuto la sua prima indicazione come monoterapia in pazienti con malattia avanzata o metastatica non responsiva a chemioterapia: il trattamento gold standard come seconda linea era stato fino ad allora il Docetaxel, chemioterapico ad azione antimetabolica (35). Diversi trials clinici hanno quindi messo a confronto i risultati ottenuti con Nivolumab e lo standard di trattamento e l'anticorpo monoclonale si è dimostrato superiore alla chemioterapia per quanto riguarda sopravvivenza e risposta, mantenendo, inoltre, un profilo di sicurezza favorevole (36,37). In particolare la sopravvivenza mediana complessiva si è dimostrata di 9,2 mesi (95% CI) contro i 6 mesi (95% CI) del tassano e con un rischio di morte del 41% più basso; ancora l'*overall survival* a 1 anno risulta del 42% (95%CI) contro il 24% del controllo (36). Dati questi notevoli risultati Nivolumab è stato approvato il 4 marzo 2015 dalla FDA con tale indicazione.

Diversi studi sono andati a valutare anche l'impatto di Nivolumab sulla clinica di questi pazienti, attraverso diverse scale quali la LCSS (*Lung cancer Symptom Scale*) (38) e EQ-5D (39); i risultati hanno dimostrato un impatto globalmente positivo: mediamente si è visto come la terapia sia in grado di alleviare il tumor burden, quindi migliorare la qualità di vita del paziente e stato di salute; addirittura se messo a confronto con Docetaxel attraverso questionari somministrati ai pazienti si sono evidenziati significativi miglioramenti (40). Oltre che in monoterapia Nivolumab è indicato anche in associazione con Ipilumab (un altro farmaco della classe degli inibitori degli immunocheckpoint, in particolare inibitore di CTLA-4) e chemioterapia come prima linea in quei tumori privi di mutazione EGFR o traslocazione del gene ALK (41).

1.3. Eventi avversi correlati all'immunità (irAEs)

Dato il loro particolare meccanismo di azione gli inibitori dei checkpoint immunitari dimostrano tossicità particolari per frequenza, tipologia e severità, ben differenti da ciò che si riscontrerebbe durante una classica chemioterapia: in particolare sono molto rare le più classiche ripercussioni sulla sfera ematologica, nausea, faticabilità ed astenia (31). Durante questi trattamenti si riconosce, invece, un peculiare spettro di eventi avversi che si potrebbero verosimilmente attribuire al meccanismo di azione proprio di questi farmaci, che andrebbe a disturbare l'equilibrio della tolleranza generando quindi i cosiddetti "Eventi avversi correlati all'immunità" (irAEs) (31).

Considerando come questi farmaci agiscano su tutto l'organismo, è chiaro come questi eventi avversi, possano, almeno in teoria colpire ogni organo o sistema (31,42,43). Tra le diverse tossicità che si sono dimostrate nella terapia con inibitori di PD-1/PD-L1, la più comunemente riscontrata in letteratura è sicuramente stata quella dermatologica: per lo più si sono visti rash maculopapulari, gestibile con una somministrazione di corticosteroidi topici o orali nei casi più severi (44); sono state però descritte altre forme di tossicità cutanea, tra cui dermatite lichenoidale, pemfigoide bolloso e sindrome di Steven Johnson, particolarmente rilevanti data la severità e le conseguenze anche potenzialmente letali (42,44).

Eventi avversi gastroenterologici si possono riscontrare in tutte le terapie di blocco degli immunocheckpoints; rispetto ai farmaci contro CTLA4, che presentano una colite dose-dipendente accompagnata da caratteristiche lesioni istologiche, Nivolumab, così come gli altri agenti su PD-1/ PD-L1, può portare a sviluppare diarrea o colite non dose-dipendenti ed a biopsia negativa (44,45). Gli eventi gastrointestinali riportati sono comunque per lo più di scarsa gravità e trattabili con un cambio di dieta, se però si protraessero oltre i 3 giorni andrebbe indagata la possibilità di una sottostante eziologia infettiva (44). A livello epatico si possono riscontrare di rado alcuni segni di danno, dimostrati per lo più da innalzamenti asintomatici degli indici specifici, ossia ALT e AST (44). Analogamente anche a livello pancreatico si può riscontrare un rialzamento completamente privo di manifestazioni cliniche dei marcatori laboratoristici, per quanto molto raramente è stata documentata pancreatite sia durante il trattamento con anti- CTLA-4 che PD-1/PD-L1 (42,44).

Da ricordare è la possibilità che queste terapie determinino sofferenza a livello polmonare, in particolar modo un'inflammatione del parenchima, pericolosa dato che durante le prime fasi di studio di Nivolumab queste tossicità sono state associate a tre decessi (46). Questa evenienza è difficile da individuare rapidamente: sembrerebbero particolarmente esposti i pazienti affetti da neoplasia del polmone, che già solo per la neoplasia in questione presentano frequentemente i sintomi tipici di dispnea, tosse e dolore toracico. La polmonite è stata riscontrata, inoltre, prevalentemente nel corso della terapia con farmaci agenti sul complesso PD-1/PD-L1, in contrasto con gli anti-CTLA-4 che esporrebbero piuttosto a reazioni di tipo granulomatoso o polmoniti ostruttive. Per quanto concerne la clinica tali tossicità possono manifestarsi in modo eterogeneo andando da dispnea e polmonite fino alla riattivazione di infezioni latenti, sarcoidosi e sindrome da distress respiratorio acuto (47).

La tossicità endocrina è sicuramente un unicum tra le irAEs, dimostrandosi spesso irreversibile, sembrerebbe inoltre manifestarsi in modo differente tra i singoli anticorpi monoclonali: se in letteratura si riscontrano molte evidenze di una correlazione tra ipofisiti e terapia con Ipilumab (che si presenterebbe in un 11% dei pazienti trattati), la tossicità del Nivolumab sul sistema endocrino sembrerebbe invece manifestarsi piuttosto con una disfunzione tiroidea (44). Lo studio di questi eventi avversi e del loro impatto sulla sopravvivenza è oggetto di questo elaborato e sarà pertanto affrontato nel dettaglio nel prossimo capitolo.

Per quanto riguarda le restanti tossicità, ben più di rado sono state segnalate ripercussioni a livello neurologico, oftalmico e renale: sul sistema nervoso sono stati riportati casi isolati di miastenia gravis, associata in genere a trattamenti di

combinazione tra anti- PD-1/PD-L1 e anti-CTLA-4, mentre in monoterapia, soprattutto se utilizzando Ipilimumab, si sono riscontrate diverse sindromi neurologiche tra cui meningite asettica, mielite trasversa fino anche a sindrome di Guillain-Barré (43,44). Sull'occhio sono state documentate uveiti, insorte sia durante trattamenti con un unico farmaco, che in associazione (44). Estremamente rara è invece la tossicità renale: sono stati descritti sporadici casi di nefrite interstiziale in corrispondenza della terapia con Ipilimumab, farmaci agenti contro il complesso PD-1/ PD-L1 e anche quando questi venivano combinati tra loro (42,44).

2. Background e scopo dello studio

2.1. Tossicità endocrine

Tra gli eventi avversi correlati all'immunoterapia le patologie endocrine rivestono sicuramente un ruolo di spicco data la relativa frequenza, nonché la tendenza di queste patologie a persistere anche dopo il termine della terapia immunologica. È inoltre da far notare come all'interno della classe degli inibitori degli immunocheckpoints farmaci diversi diano effetti collaterali su organi diversi: in particolare agire sul CTLA-4 con un farmaco come Ipilimumab espone per lo più a eventi avversi a livello ipofisario, mentre farmaci diretti contro PD-1/PD-L1 sono più frequentemente associati con alterazioni della funzionalità tiroidea. Focalizzandoci sul Nivolumab, farmaco oggetto di questo elaborato, un recente studio riporta una frequenza di ipotiroidismo del 4-7%, ipertiroidismo al di sotto del 1,4%: tutti questi eventi avversi sono stati classificati come tossicità di grado 1 o 2, con insorgenza in genere a 12,1 settimane dalla prima dose (con un range che spazia tra 1,9 e 51,4) (48,49); in particolare la tabella 1 riassume gli eventi avversi di interesse endocrinologico riscontrati in terapia con Nivolumab.

Evento Avverso	Incidenza (%) (49)	Tempo mediano di esordio (Mesi) (49)
Ipofisite	0,6	4,9 (tra 1,4 e 11)
Insufficienza surrenalica	1	4,3 (tra 15 giorni e 21 mesi)
Diabete mellito di tipo 1	0,9	4,4 (tra 15 giorni e 22 mesi)
Ipotiroidismo/ Tiroidite	9	2,9 (tra 1 giorno e 16,6 mesi)
Ipertiroidismo	2,7	1,5 (tra 1 giorno e 14,2 mesi)

Tabella 1 Principali irAEs a carico del sistema endocrino (49)

Disturbi ipofisari

L'Ipofisite, associata a infiltrazione della ghiandola pituitaria da parte di cellule immunitarie è sicuramente più frequente in pazienti trattati con Ipilimumab (ove si stima un'incidenza del 1,8-17%), rispetto a chi riceve una terapia diretta contro PD-1 o PD-L1 (su Nivolumab, per esempio, si stima un massimo di 0,6%). Se comparata però a chemioterapia con everolimus o cetuximab, tutta la categoria degli inibitori degli immunocheckpoints ha dimostrato un aumentato rischio di disturbi ipofisari (50). Sembrerebbe inoltre esserci un maggiore rischio di danno ipofisario in uomini di età avanzata, peculiarità se si considera che nella popolazione generale la categoria più esposta a questo genere di patologia sono le donne in età fertile (48).

Da un punto di vista patogenetico si ipotizza che ipilimumab stimoli cellule T autoreattive, nonché favorisca la produzione di anticorpi diretti contro antigeni ipofisari; si ipotizza inoltre che CTLA-4 sia espresso da cellule presenti nella ghiandola, in particolare lattotrope e tireotrope, che quindi diventerebbero bersaglio diretto dell'anticorpo monoclonale (51). Ad oggi invece i meccanismi che spiegherebbero l'insorgenza di questa tossicità nelle persone trattate con anti PD-1/PD-L1 non sono ancora chiari e rimangono oggetto di studio. Per lo più queste tossicità si manifestano clinicamente in modo subdolo, molto difficilmente acuto. I segni e sintomi con cui si presentano sono conseguenza dell'effetto massa esercitato dall'ingrandirsi della ghiandola nel corso di infiammazione: si riscontrano tipicamente cefalea e disturbi visivi, soprattutto la diplopia; al contempo si possono manifestare segni e sintomi dovuti al deficit di

ormoni tropici normalmente secreti dalla ghiandola in questione, che porta in genere ad insufficienza di tiroide, surrene e gonadi (52).

Questa condizione si riconosce in genere alla risonanza magnetica con un ingrandimento da lieve a moderato della ghiandola, che risulta omogeneamente iperintensa all'esame con mezzo di contrasto, anche può mostrarsi un'atrofia dell'ipofisi o il tipico quadro della "sella vuota". Agli esami di laboratorio è tipico il riscontro di deficit di adrenocorticotropina (ACTH) o tireotropina (TSH). Sono stati descritti sia casi in cui i segni radiologici hanno preceduto quelli laboratoristici, che viceversa (48).

Questa tossicità viene generalmente trattata mantenendo il paziente monitorato ed iniziando quando necessario una terapia sostitutiva, dapprima con corticosteroidi e successivamente con levotiroxina: in genere la guarigione si ottiene tra 1 e 8 settimane dall'introduzione dei glucocorticoidi. Se però col tempo si ha in genere un ritorno alla normalità per l'asse tiroideo, sono stati descritti diversi casi in cui i deficit dell'asse gonadico e surrenalico sono perdurati, rendendo necessarie terapie sostitutive a lungo termine. Si dovrebbe sospendere temporaneamente la terapia e insorgessero eventi avversi di grado 2 o 3, interrompendola definitivamente nei casi gravi classificabili come grado 4 (48).

Disturbi surrenalici

Parlando di eventi avversi sulla ghiandola surrenalica bisogna tenere conto sia della possibilità di un deficit primitivo, che di un deficit secondario a ipofisite o metastasi ipofisarie. L'incidenza di questa tossicità da immunoterapia sembrerebbe abbastanza variabile: negli studi di registrazione si è registrata un'incidenza dell'1%, una successiva metanalisi condotta da Abdel-Rahman ha riportato un

rischio relativo del 3,87 (CI 95%) (53), mentre nello studio Barroso-Sousa si è riscontrata un'incidenza complessiva dello 0,7% per insufficienza primaria, che saliva al 4,2% se si andavano a considerare i pazienti trattati con una combinazione di ipilimumab e anti PD-1/PD-L1 (54).

La diagnosi di questi eventi avversi non è semplice: i casi ad insorgenza subacuta sono caratterizzati da una clinica poco specifica caratterizzata da ipotensione, faticabilità e perdita di peso, sintomi comuni nei malati oncologici; sono stati riportati anche casi di insorgenza acuta con crisi surrenalica e collasso vascolare periferico (48).

La conferma laboratoristica si può ottenere misurando i livelli di cortisolo sierici o urinari, nonché valutando l'ACTH, che sarà elevato in un deficit primario e ridotto in uno secondario. Parlando invece di studi di imaging le ghiandole surrenaliche risultano in genere ingrandite, è anche da ricordare come pazienti sottoposti a PET-TC per ragioni oncologiche abbiano dimostrato un aumentato uptake di glucosio marcato in caso di adrenalite autoimmune: in questi casi, nonostante magari una clinica poco suggestiva sarebbe indicato estendere lo studio del caso con indagini laboratoristiche (55).

Il trattamento previsto in caso di tossicità surrenaliche prevede un monitoraggio periodico del paziente e dei suoi livelli ormonali, somministrando qualora necessario una terapia sostitutiva con cortisonici. Il trattamento con Nivolumab deve essere interrotto in caso di eventi avversi di grado 3 o 4 (49).

Diabete

Il diabete di tipo 1 è un evento avverso poco frequente della terapia con anti PD-1, stando alla metanalisi di Barosso-Sousa avrebbe un'incidenza del 0,2%, e solo nel

0,1% dei casi si parlerebbe di un evento avverso di grado 3 o più alto; considerando lo studio simile condotto da Kotwal et al. in pazienti trattati con inibitori degli immunocheckpoints (sia PD-1/PD-L1 che CTLA-4) il diabete si è evidenziato in uno 0,8%, tenendo conto che il 0,6% corrispondeva ad aggravamenti di un diabete preesistente (56).

Clinicamente questi casi presentano poliuria, polidipsia, perdita di peso e chetonuria; mediamente l'esordio è a 4,4 settimane dalla prima dose di immunofarmaco (48,49). Per quanto la patogenesi di questa tossicità non sia ancora del tutto chiara, alcuni pazienti hanno dimostrato prima dell'inizio dell'immunoterapia una positività per anticorpi anti-insulina, anti-carbossilasi dell'acido glutammico e anti-insulina, caratteristici del diabete tipo 1, pur rimanendo completamente in range di normalità per insulina, peptide-C e glicemia: questo suggerirebbe uno stato di latenza della patologia (57). La diagnosi dovrebbe rispettare i criteri universali di diagnosi del diabete, in particolare i pazienti trattati con inibitori degli immunocheckpoints dovrebbero monitorare periodicamente i livelli di glucosio ematici e l'emoglobina glicata e, in caso di evidenza di patologia, si dovrebbero ricercare gli anticorpi per distinguere tra tipo 1 e tipo 2 (48,49,57). Tale evento avverso dovrebbe essere trattato appena diagnosticato fino al normalizzarsi dei livelli glicemici (49). Non ci sono ad oggi dati che dimostrino una remissione di patologia dopo aver terminato l'immunoterapia (57).

Disturbi tiroidei

La disfunzione tiroidea è la tossicità endocrinologica più frequentemente riscontrata, dimostrando un'incidenza dell'11,7% dei pazienti in terapia con Nivolumab (49). È tuttavia da far notare come molti studi escludano da queste

statistiche pazienti con pregressa storia di autoimmunità o patologie tiroidee: dato che nella pratica clinica queste non sono controindicazioni al trattamento, è quindi lecito aspettarsi un'incidenza reale più elevata (48) come dimostrato in diversi altri studi che dimostrano un'incidenza variabile in un range da 3 a 23,3% con una tempo mediano di insorgenza di 81 giorni (spaziando da 13 giorni a 6 mesi) (54,58,59). Recenti studi suggeriscono che un importante fattore di rischio per sviluppare distiroidismi sia il pregresso utilizzo di inibitori della tirosin-chinasi (60).

Sono in corso diversi studi volti a comprendere il meccanismo patogenetico alla base di questa tossicità, sicuramente importante è stato il contributo dato dal lavoro di Yamouchi et al. che ha dimostrato come di fatto il tessuto tiroideo esprima fisiologicamente PD-L1 e PD-L2; l'azione svolta da Nivolumab e gli altri farmaci con il medesimo meccanismo di azione altererebbe quindi i normali meccanismi di immunotolleranza, favorendo quindi l'infiammazione anche in un tessuto normale (61).

Molto dibattuto è il ruolo della risposta umorale nel corso di questa tossicità: studi su modello murino hanno evidenziato come bloccare PD-1 comporti un'attivazione della risposta mediata da linfociti B, combinato a un'attivazione dei monociti, al contempo però i numeri di leucociti circolanti non sembrano alterati (62). Se si vanno a valutare invece esperienze in vivo i dati al riguardo si sono rivelati estremamente eterogenei: alcuni studi hanno evidenziato una preponderante quota di positivi agli anticorpi tiroidei tra i pazienti che hanno sviluppato il suddetto evento avverso, come ad esempio l'esperienza del gruppo di Osorio et al. (58); dall'altra parte in alcune esperienze la positività alle immunoglobuline è sicuramente risultata più rara (62,63), l'analisi svolta da Peiró, ad esempio,

evidenziava segni di autoimmunità solo in un terzo dei pazienti con alterata funzione tiroidea (59).

Alla luce di tutte queste evidenze si può sospettare che i meccanismi alla base di questa tossicità siano il risultato di una complessa interazione tra diversi fattori, inclusi una risposta immunitaria indipendente dagli anticorpi, e probabilmente immunoglobuline oggi non ancora studiate (48). Rimane, però, ancora da dimostrare se gli anticorpi diretti contro le cellule tiroidee siano la causa dell'infiammazione della ghiandola o piuttosto solo un epifenomeno, risultato dell'esposizione di antigeni durante la tiroidite destruyente (62). Dato che questi anticorpi sono reperibili già poco dopo la somministrazione del farmaco, è probabile che la terapia esacerbi un'infiammazione preesistente seppur in forma latente (58); l'analisi è anche complicata dal fatto che un 4% della popolazione generale sia affetta da tiroidite di Hashimoto, nonché in un 11% dei pazienti sani si possano ritrovare questi anticorpi (58).

I disturbi a carico di questa ghiandola che possono insorgere durante la terapia con inibitori degli immunocheckpoints spaziano da ipertiroidismo ed ipotiroidismo, sia conclamati che subclinici, fino anche a tiroiditi; analogamente la clinica è molto variabile, con casi completamente asintomatici e altri con il caratteristico quadro di tireotossicosi. Gli eventi avversi possono essere classificati sulla base della gravità delle manifestazioni cliniche, come esplicito nella tabella 2.

	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4	Grado 5
Ipertiroidismo	Asintomatico, non indicato il trattamento	Sintomatico; indicata terapia di soppressione	Sintomi severi, impatto su vita quotidiana; indicato ospedalizzare	Rischio di vita; indicato ospedalizzare	Morte
Ipotiroidismo	Asintomatico, non indicato il trattamento	Sintomatico, indicata terapia sostitutiva	Sintomi severi, impatto su vita quotidiana; indicato ospedalizzare	Rischio di vita; indicato ospedalizzare	Morte

Tabella 2 National Cancer Institute, **Common terminology criteria for adverse events** version 4.0

Si sono riscontrati spesso quadri di tiroidite distruttiva: questa si manifesta in un primo momento con ipertiroidismo transitorio, peculiare per l'inalterato flusso ematico alla ghiandola al controllo ecografico, la negatività degli anticorpi stimolanti il recettore TSH e il ridotto uptake di iodio alla scintigrafia. La tiroidite evolve nella maggior parte dei pazienti in ipotiroidismo: l'andamento è rappresentato graficamente nella figura 3 (64).

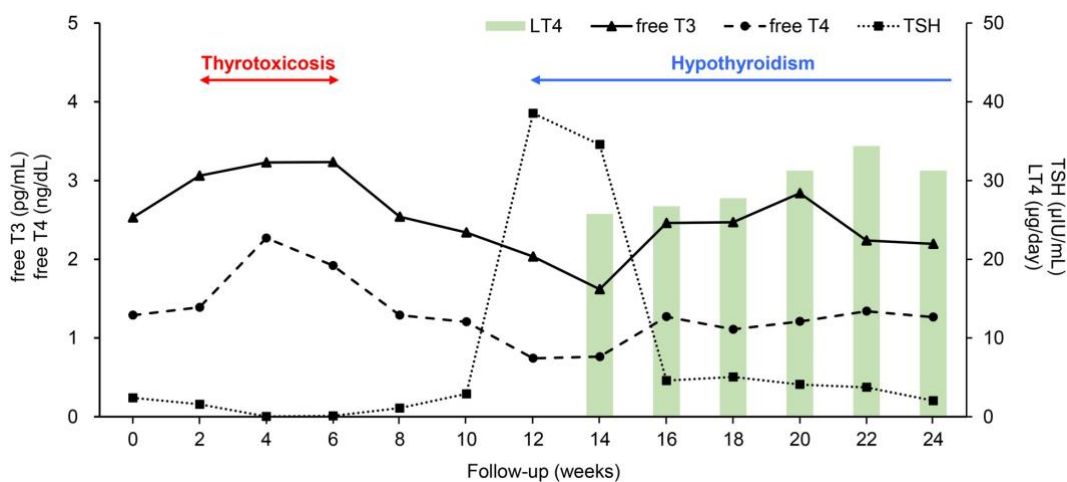


Figura 3 Rappresentazione grafica del decorso clinico della tiroidite distruttiva. (64)

Bisogna sempre ricordare la possibilità di un ipotiroidismo secondario ad infiammazione ipofisaria, soprattutto durante una terapia combinata che coinvolga un farmaco diretto contro CTLA-4: segni suggestivi sono due test consecutivi con TSH sotto la norma e 3 valutazioni di ormoni tiroidei normali o ridotti (54). Si parla di Ipotiroidismo quando si riscontrano ridotti livelli di tiroxina libera (fT4) e triiodotironina libera (fT3), mentre lo si può definire subclinico se, pur presentando livelli normali degli ormoni appena menzionati, si riscontri TSH superiore ai range di normalità. Analogamente l'ipertiroidismo subclinico è definito per bassi livelli di TSH, accompagnato da ormoni tiroidei in range, mentre è conclamato se anche fT3 e fT4 salgono sopra la soglia di normalità. Alcuni anticorpi rivestono particolare rilevanza in diagnostica: in ipotiroidismo gli anticorpi anti-Tireoperossidasi (aTPO), e quelli anti-tireoglobulina (aTG) suggestivi di malattia di Hashimoto, mentre in ipertiroidismo gli anticorpi contro il recettore del TSH sono indicativi di morbo di Graves-Basedow.

Durante la terapia con anticorpi anti-PD-1 un riscontro di aumentato uptake alla PET-TC con fluorodesossiglucosio, definito come un SUVmax >4.0, è stato di frequente associato a tiroidite distruttiva e, se riscontrato già prima della terapia, è un importante fattore di rischio per distiroidismo nel corso del trattamento (62). La gestione di questa tossicità prevede un monitoraggio periodico dei livelli ormonali e fornire una terapia prevalentemente sintomatica, con eventuale somministrazione di levotiroxina in caso di ipotiroidismo con TSH superiore a 10; solo in caso di una sintomatologia grave, considerabile un evento avverso di grado terzo o quarto, si dovrebbe pensare a sospendere il trattamento immunoterapico ed eventualmente ospedalizzare (49). Nel corso di questa particolare forma di ipotiroidismo è possibile si verifichi una normalizzazione della funzionalità tiroidea, questa regressione ad eutiroidismo si è osservata nel 35% degli affetti durante una monoterapia, mentre per i casi di ipertiroidismo il ritorno alla normalità si è riscontrato nel 76% dei casi (49). Alcuni studi stanno indagando un possibile ruolo protettivo della terapia con corticosteroidi durante la fase di tireotossicosi: questi studi sono per lo più stati portati avanti su campioni di piccole dimensioni, quindi per rafforzarne il significato serviranno più dati (61,62).

2.2. *Overall survival*

Tra i vari studi portati avanti, diversi hanno cercato una potenziale relazione tra lo sviluppo di eventi avversi e parametri come la sopravvivenza totale o la sopravvivenza libera di progressione nei pazienti in terapia con farmaci inibitori degli immunocheckpoint. In un articolo pubblicato da Osorio et al. in cui si analizzava l'andamento degli eventi avversi tiroidei in pazienti affetti da NSCLC in terapia con farmaci diretti contro il complesso PD-1/PD-L1 già si riscontrava un'aumentata sopravvivenza nei soggetti che sviluppavano suddette tossicità (58). Tali risultati sono poi stati ulteriormente confermati da studi successivi, soprattutto prendendo in considerazione campioni più estesi (54,59,64–67). Un esempio è l'articolo di Haratani et al. focalizzato proprio sulla ricerca di una correlazione tra sopravvivenza e comparsa di eventi avversi nel corso della terapia con Nivolumab; su una coorte di 134 pazienti la Progression-free survival (PFS) negli affetti da tossicità risultava di 9,2 mesi (CI 95%) contro i 4,8 mesi (CI 95%) di chi non ne aveva sviluppate e, analogamente, si riportava un *Overall survival* (OS) di rispettivamente NR (CI 95%, range da 12,3 a NR) e di 11,1 mesi (95% CI) (67). Interessante è lo studio portato avanti da Yamauchi et al. che è andato ad analizzare retrospettivamente 200 pazienti trattati con Nivolumab: anche in questo caso si è visto un aumento della sopravvivenza complessiva nei pazienti affetti da NSCLC che hanno sviluppato tossicità rispetto gruppo che non le ha sviluppate. Al contrario, nei pazienti in terapia per melanoma non si è riscontrato la stessa correlazione: l'OS nei pazienti con tiroidite corrispondeva a 12,0 mesi contro i 18,3 mesi di, invece, chi non ha sviluppato eventi avversi (64). Al contrario uno studio retrospettivo condotto da Sbardella et al. su un gruppo di

pazienti affetti da diverse neoplasie, ma tutti trattati con Nivolumab o Pembrolizumab non ha dimostrato una significativa differenza in termini di sopravvivenza tra chi aveva e non aveva sviluppato tossicità tiroidee (60).

2.3. Obiettivo dello studio

Questo studio ha l'obiettivo di valutare in modo prospettico una coorte di pazienti affetti da Carcinoma polmonare non a piccole cellule (*Non Small Cell Lung Cancer*, NSCLC) in trattamento con uno specifico farmaco inibitore di PD-1, Nivolumab: in particolare si vuole indagare l'insorgenza di eventuali eventi avversi a carico del sistema endocrino, nonché monitorarne l'andamento per tutta la durata del periodo di follow-up di due anni. Altro fine dello studio è indagare se ci sia una significativa differenza in termini di sopravvivenza complessiva tra il sottogruppo che ha sviluppato tali tossicità e quello che invece non le ha presentate.

3. Materiali e metodi

3.1. Criteri di Inclusione

Il lavoro svolto è uno studio traslazionale prospettico monocentrico condotto dall'U.O.S Tumori Polmonari e U.O. Endocrinologia dell' IRCCS Ospedale Policlinico San Martino di Genova, è stato approvato dal Comitato etico locale (CER Liguria n°P.R. 191REG2015) e condotto nel contesto del programma italiano di *expanded access* al Nivolumab, aperto a pazienti già in trattamento per NSCLC avanzato, sia ad istologia squamosa sia non- squamoso; il consenso è stato ottenuto da ogni paziente a seguito di una spiegazione completa di ciascuna procedura utilizzata nel corso dello studio.

Tra Maggio 2015 e Aprile 2016 sono stati arruolati 73 pazienti affetti da NSCLC avanzato e refrattario a chemioterapia, sono stati esclusi, inoltre, pazienti con evidenza di pregressa patologia tiroidea: ne è quindi risultato un campione di 51 uomini e 22 donne, con età media al momento dell'arruolamento di 69 anni, rientrando in un intervallo compreso tra 44 e 85 anni. In tabella 3 sono riassunte le principali caratteristiche del gruppo di pazienti considerato nelle analisi statistiche.

Sesso		Fumo		Istologia		Performance Status	
M	F	Sì	No	Squamoso	Adenocarcinoma	0-1	2-3
42	22	57	7	14	49	58	6

Tabella 3 Principali caratteristiche della coorte di pazienti considerati

3.2. Disegno di Studio

I pazienti arruolati sono stati sottoposti a una terapia con Nivolumab a 3mg/kg ogni 2 settimane, terapia continuata fino a rifiuto da parte del paziente, tossicità inaccettabile, segni significativi di malattia in progressione o assenza di chiari benefici clinici; in ogni caso la terapia si è protratta fino ad un massimo di 2 anni. Per la valutazione dell'impatto del farmaco sui principali assi ormonali sono stati raccolti campioni ematici prima dell'inizio della terapia, in modo da ottenere un dato *baseline*, e il processo ripetuto in corrispondenza di ogni somministrazione, ogni 14 giorni pertanto. La tabella 4 riassume i riferimenti utilizzati nella valutazione dei livelli dei vari ormoni.

Ormone	Abbreviazione	Range
Thyroid Stimulating Hormone	TSH	0.270 – 4.200 mIU/L
Free Triiodothyronine	fT3	1.80 – 4.60 ng/L
Free Tetraiodothyronine	fT4	9.30 – 17.0 ng/L
Cortisol	Cortisol	3.70 – 19.40 µg/dL
Adreno Cortico Tropic Hormone	ACTH	0.0 – 46.0 ng/L
Testosterone	DHT	M 181 - 758 / F 0 – 62 ng/L
Follicular Stimulating Hormone	FSH	M 1 14 / F 30 - 150 IU/L
Prolactin	PRL	2.50 – 17.00 µg/L
Insulin Like Growth Factor 1	IGF-I	69 - 200 µg/L

Tabella 4 Riferimenti per i livelli ormonali

L'asse ipofisi-tiroideo è stato valutato in tutti e 73 i pazienti secondo lo schema "TSH Reflex" adottato dal laboratorio locale: si è andati a valutare in prima istanza i livelli di TSH e solo in caso di alterazione sono stati misurati i livelli di fT3 e fT4;

la morfologia tiroidea è stata indagata ecograficamente (MyLab5, Esaote, Genoa Italy) al tempo 0 in tutti i pazienti: per un'adeguata valutazione degli effetti avversi legati all'immunoterapia sul sistema endocrino sono stati esclusi dallo studio tutti i pazienti con evidenza di pregresse patologie tiroidee. Per la valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene si è invece proceduto analizzando nei 73 pazienti i livelli mattutini di ACTH e cortisolo. L'asse gonadico è stato valutato analizzando nei pazienti di sesso maschile i livelli di FSH e testosterone, mentre nelle pazienti di sesso femminile sono stati solamente misurati i livelli di FSH senza ulteriori indagini circa gli ormoni periferici. Sono stati inoltre considerati in tutti e 73 i pazienti i livelli di prolattina e IGF-1. Tutte le analisi laboratoristiche sono state portate a termine presso il laboratorio centrale dell'ospedale San Martino di Genova.

3.3. Analisi statistica

Le variabili continue sono riportate come mediana e intervallo; le categoriche sono state espresse in percentuale e comparate usando, quando appropriati, i test chi quadrato di Pearson o il test esatto di Fisher.

Si è considerato come *Overall Survival* (OS) l'intervallo compreso tra l'inizio della terapia e il decesso; l'OS è stata valutata anche usando il metodo della curva di Kaplan-Meier e la comparazione è avvenuta mediante il Test logaritmico. Fattori di rischio predittivi per OS sono stati analizzati attraverso una valutazione univariata e multivariata secondo la regressione di Cox.

I fattori di rischio sono stati espressi come hazard ratios (HR) e intervallo di confidenza del 95% (95% CI). Il modello di analisi multivariata è stato progettato utilizzando la regressione stepwise con approccio “Forward selection”: si è iniziato quindi da un modello privo di variabili e si è andato poi ad aggiungerle una ad una, valutandone l’impatto statistico fino a ottenere un modello per cui aggiungere variabili non desse alcuna significativa alterazione. Nelle tabelle si trova riscontro di tutte le analisi portate avanti per i suddetti fattori predittivi di rischio. La P value è considerata significativa per un valore <0.05 . Le analisi sono state portate avanti utilizzando un software dedicato, IBM-SPSS Statistics versione 22.

4. Risultati dello studio

4.1. Tossicità endocrine

Le misurazioni ormonali pianificate prima dell'inizio della terapia sono state ripetute in corrispondenza di ogni nuovo ciclo di trattamento per tutta la durata dello studio. Gli eventi avversi sono stati registrati perlopiù come anomalie biochimiche in pazienti asintomatici, mentre solo in un caso si sono evidenziati i segni e sintomi tipici dell'ipotiroidismo: se classificati seguendo le tabelle CTCAE (*Common terminology criteria for adverse events*) v 5.0 pertanto tutti i pazienti rientrano nel grado G1, eccezion fatta per l'unico caso clinicamente evidente che è stato classificato come G2.

Nella coorte di pazienti in studio non si è mai reso necessario sospendere l'immunoterapia.

Seguono le valutazioni circa i singoli assi ormonali.

Asse Ipotalamo-Ipofisi-Tiroide

La funzionalità tiroidea è stata valutata in tutti e 73 i pazienti. Al tempo zero 9 pazienti (12,3%) si presentavano già con anomalie; 5 pazienti presentavano livelli ridotti di TSH: di questi 2 erano stati precedentemente sottoposti a tiroidectomia ed è stato pertanto necessario ridurre le dosi di terapia ormonale sostitutiva con levotiroxina; un paziente presentava tireotossicosi indotta dalla contestuale terapia con amiodarone mentre negli ultimi 2 si evidenziava un ipertiroidismo subclinico con negatività di anticorpi anti recettore TSH (TRAb); 4

pazienti hanno dimostrato al *baseline* livelli aumentati di TSH: di questi un paziente precedentemente tiroidectomizzato ha necessitato di modifiche della terapia sostitutiva, uno ipotiroidismo e positività ai marker di autoimmunità, gli ultimi 2 pazienti invece si presentavano con ipotiroidismo subclinico, ma autoimmunità negativa.

Nonostante questi 9 pazienti siano stati monitorati per tutta la durata dello studio, sono poi stati esclusi dalle analisi finali circa la tossicità tiroidea indotta dal Nivolumab portando così il numero totale di casi considerati a 64; è interessante però notare come in questo sottogruppo di pazienti il profilo tiroideo non abbia subito alterazioni significative, sia in senso di iperfunzionalità che ipofunzionalità.

	Con Ipotiroidismo		Senza Ipotiroidismo		
	Numero	%	Numero	%	p
Sesso					0,395
F	5	22,7	17	77,3	
M	6	14,3	36	85,7	
Fumo					0,056
Sì	8	14,0	49	86,0	
No	3	42,9	4	57,1	
Istologia					0,723
Squamoso	2	14,3	12	85,7	
Adenocarcinoma	9	18,4	40	81,6	
Performance Status					0,241
0-1	11	19,0	47	81,0	
2-3	0	0	6	100	

Tabella 5 Caratteristiche principali dei pazienti coinvolti e risultati dello studio

Durante il periodo di follow-up 8 dei 64 pazienti considerati (12,5%) hanno sviluppato una tireotossicosi transitoria (TT) che nel 50% si è poi evoluta in ipotiroidismo; 3 dei 4 casi hanno dimostrato un incremento dei livelli di autoanticorpi TPOAb e TgAb. Altri 7 pazienti (11%) hanno sviluppato direttamente ipotiroidismo seppur non dimostrando segni di autoimmunità o di tireotossicosi transitoria.

64 pazienti valutabili	TT →Eu	TT→Hypo	Hypo senza TT	Disfunzioni tiroidee
Ab -	4	1	7	12 (80%)
Ab+	-	3	-	3 (20%)
Tot	4	4	7	15 (100%)
Risultato finale	Eu (n=4)	Hypo (n=11)		

Tabella 6 Frequenza e caratteristiche delle principali tossicità tiroidee documentate. Transient thyrotoxicosis (TT); Eutiroidismo (Eu); Ipotiroidismo (Hypo); Anticorpi (Ab);

Nel complesso quindi 11 pazienti (17%) hanno sviluppato ipotiroidismo come irAEs. La disfunzione tiroidea si dimostrava dopo 15 settimane in media (range tra 2 e 56) nel caso di ipotiroidismo isolato, e dopo 4 settimane (range 1-10) per la tireotossicosi transitoria con evoluzione in ipotiroidismo dopo una mediana di 12 settimane dall'inizio della terapia antitumorale.

La tireotossicosi transitoria è stata trattata con basse dosi di beta-bloccante, mentre una terapia sostitutiva con levotiroxina è stata necessaria solo in un caso, considerato il fatto che la stragrande maggioranza dei pazienti esaminati ha

dimostrato solo una patologia subclinica; in nessun caso si è resa necessaria terapia steroidea per trattare la tiroidite.

Globalmente i pazienti che hanno sviluppato effetti avversi immunocorrelati a carico della tiroide sono stati 15 (23,4% del totale) di cui 11 casi di ipotiroidismo e 4 di tireotossicosi poi evoluta in eutiroidismo (vedi tabella 6).

Considerando i reperti ecografici in nessun paziente che ha sviluppato tireotossicosi transitoria, evoluta successivamente in ipotiroidismo, si sono evidenziati noduli tiroidei, mentre dei pazienti in cui tale condizione iniziale si è poi evoluta in eutiroidismo due hanno presentato noduli tiroidei ed altri due un volume aumentato della ghiandola. Analizzando i pazienti che presentavano ipotiroidismo già prima di iniziare il trattamento con Nivolumab, i noduli sono stati ritrovati in tre di essi. Solo un paziente che ha sviluppato ipotiroidismo senza tireotossicosi ha mostrato noduli al controllo ecografico.

Asse Gonadico

La funzionalità dell'asse gonadico è stata valutata in 38 pazienti maschi; tra questi uno era in terapia sostitutiva di testosterone per ipopituitarismo parziale, mentre un altro assumeva antagonisti del GnRH, data la sua storia di tumore prostatico. Al tempo zero solo due pazienti dimostravano livelli ridotti di testosterone, che sono poi rimasti invariati nel corso del trattamento; nel complesso non si sono, quindi, rilevati significativi cambiamenti dello status gonadico in corrispondenza dell'assunzione di Nivolumab.

I dati circa i livelli di FSH nelle pazienti di sesso femminile sono risultati impossibili da interpretare data la spiccata variabilità.

Misurazioni della Prolattina sono state effettuate in 56 pazienti: 10 di questi erano già in terapie note per aumentarne i livelli. In un totale di 20 pazienti si è riscontrato almeno un valore di prolattina aumentato, di cui 7 già nelle valutazioni al *baseline* e 13 hanno sviluppato l'iperprolattinemia nel corso del trattamento con Nivolumab. È da notare come solo 8 pazienti abbiano dimostrato dei valori significativamente aumentati (oltre 50mcg/l in 6 pazienti, sviluppati nel 50% dei casi durante la terapia; >100mcg/l in 2 pazienti, ma riscontrato sin dal *baseline*) per quanto non si siano mai accompagnati da una segni o sintomi relativi.

Asse Ipotalamo-Ipofisi-Surrene

I dati sono stati raccolti riguardo a 55 soggetti, 14 dei quali erano già in terapia steroidea a dosaggio massimo di 10 mg di prednisone (incluso un paziente con ipopituitarismo parziale). Dei restanti 41 pazienti solo 8 hanno dimostrato significative alterazioni dei livelli di cortisolo: 2 con livelli aumentati nella mattina, 5 con riduzione e uno invece con alternanza tra livelli alti e bassi.

Asse GH-IGF-1

Dei 73 pazienti in almeno 36 si è evidenziato almeno un valore anomalo. Considerando sia le valutazioni al tempo zero che le valutazioni in corso di terapia, 24 pazienti hanno evidenziato alti livelli di IGF-1, mentre in 12 se ne sono riscontrati più bassi del normale.

A tal proposito è da notare come, focalizzandosi sui pazienti che hanno presentato al *baseline* livelli di IGF-1 ridotti, o anche chi ne ha subito una riduzione nel corso del follow-up, si è vista una sopravvivenza mediana pari a 5,0 mesi, significativamente ridotta se confrontata col sottogruppo di pazienti che hanno invece mantenuto livelli normali o aumentati per tutta la durata dello studio, in cui

la mediana corrisponde a 11,0 mesi; se ne ottiene una significativa evidenza confrontando le due curve all'analisi di Kaplan-Meier ($p=0,031$), come evidenziato nel Grafico 1.

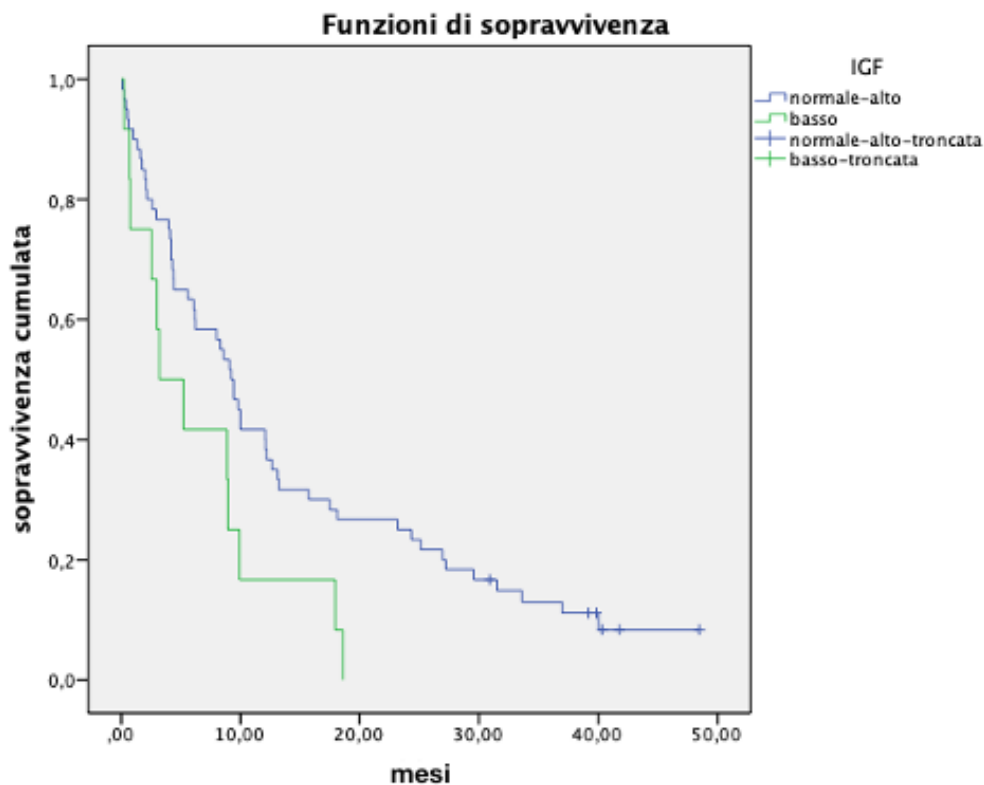


Grafico 1 Curva di Kaplan-Meier, compara la sopravvivenza sulla base della concentrazione di IGF-1 distinguendo un gruppo con livelli normali-elevati e un gruppo con invece livelli bassi-annullati

4.2. *Overall survival* ed insorgenza di irAEs

Tutte le analisi statistiche sono state portate avanti escludendo i pazienti con pregressa alterazione della funzionalità tiroidea, precisamente 9 all'interno del gruppo considerato.

Come già trattato in precedenza 15 pazienti hanno sviluppato irAEs tiroidee, di cui 7 con ipotiroidismo mentre 8 con una modesta tireotossicosi poi evoluta in

eutiroidismo (in 4 pazienti) o ipotiroidismo (in 4 pazienti). Dato che il gruppo considerato ha sviluppato solo irAEs correlate alla funzionalità tiroidea, è stato usato solo questo sottogruppo nell'analisi della sopravvivenza, comparandolo con il sottogruppo di chi non ha sviluppato tali tossicità. Il follow-up mediano è stato di 9,1 mesi a partire dalla somministrazione della prima dose di Nivolumab.

Comparando i due sottogruppi non si sono evidenziate sostanziali differenze nella distribuzione di caratteristiche quali età, sesso, istologia, stadio del tumore e performance status. All'analisi univariata si evidenzia però come la sopravvivenza globale mediana dei pazienti che hanno sviluppato ipotiroidismo sia di 23,2 mesi, in netto contrasto col sottogruppo in cui non si è riscontrata suddetto evento avverso, per cui invece la sopravvivenza mediana si fermava a 6,2 mesi: questa differenza si è rivelata statisticamente significativa, con una P value pari a 0,021.

Caratteristiche	Analisi Univariata			Analisi multivariata		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Sesso (M)	0,90	0,52-1,54	0,702			Ns
Età	1,01	0,98-1,04	0,496			Ns
Fumo	1,16	0,50-2,70	0,735			Ns
Carcinoma a cellule Squamose	1,16	0,62-2,16	0,644			Ns
Basso Performance Status (2-3)	0,99	0,39-2,50	0,978			Ns
Ipotiroidismo irreversibile	0,41	0,19-0,87	0,021	0,41	0,19-0,88	0,023

Tabella 7 Analisi univariata e multivariata

Questi risultati sono stati confermati all'analisi multivariata ($p=0,023$) come evidenziato nella tabella 7 e nell'analisi di Kaplan-Meier ($p=0,023$) rappresentata nel grafico 2.

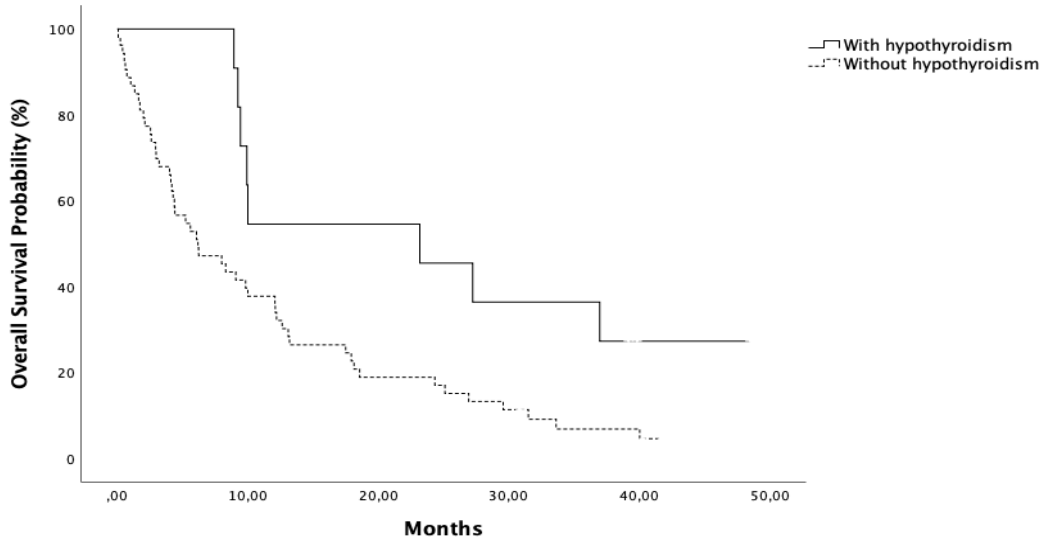


Grafico 2 Curva di Kaplan-Meier: confronto della sopravvivenza con irAE tiroidea e senza.

5. Discussione

Lo studio aveva come obiettivo valutare in modo prospettico gli effetti che Nivolumab potesse avere sul sistema endocrino, se usato in monoterapia in pazienti con NSCLC in stadio avanzato, nonché ricercare la potenziale correlazione tra tali eventi avversi e la sopravvivenza.

Due studi pionieristici riguardo il tema e condotti in un analogo setting, Boraghei H et al. del 2015 e Brahmer J et al. Del 2013, hanno riscontrato ipotiroidismo come unico evento avverso legato all'immunoterapia, riportando rispettivamente una frequenza del 7% e 4% (36,37). Oltre alla funzionalità tiroidea sono stati monitorati gli altri assi ormonali: quello gonadico, prolattina inclusa, surrenalico e GH-IGF1 sono stati studiati al *baseline*, prima di iniziare il trattamento, e le misurazioni sono state ripetute prima di ciascun ciclo di terapia. I dati riscontrati sono in linea con quanto riscontrato in letteratura: anche nella coorte studiata i principali eventi avversi riscontrati sono state le anomalie di funzionalità tiroidea (48,52). Analogamente nel corso dello studio non sono stati documentati casi di ipofisite, rafforzando così l'evidenza che tale evento avverso, anche pericoloso per il paziente, sia molto raro nelle terapie con inibitori di PD-1, in contrasto con quanto osservato invece con i bloccanti di CTLA-4 (48,50–54).

Nel corso di questo studio un'anomalia della funzionalità tiroidea è stata riscontrata in 15 pazienti, quindi nel 23,4% del totale; il più frequente evento avverso documentato è stato l'ipotiroidismo, che rende conto del 17% dei pazienti (11 in totale), molto spesso senza avere un contestuale aumento degli anticorpi tiroidei. L'incidenza di ipotiroidismo si è rivelata maggiore se comparata con i trials di

registrazione (36,37), anche se è da notare come in questi studi non sono state analizzate le caratteristiche dell'ipotiroidismo, nonché non si specificava la presenza di una tireotossicosi transitoria.

Il 6,2% dei pazienti (4 in totale) hanno sviluppato una tireotossicosi transitoria, evoluta in un secondo momento in ipotiroidismo a base autoimmune nel 75% dei casi; analogamente un altro 6,2% ha sviluppato tireotossicosi transitoria con markers di autoimmunità negativi, che però è evoluta spontaneamente in eutiroidismo, senza necessità di alcun trattamento: in questi casi si potrebbe sospettare che l'eccessiva assunzione di mezzo di contrasto iodato necessario per le indagini radiologiche abbia svolto un ruolo nello sviluppo di queste anomalie. Inoltre le valutazioni ecografiche in questi pazienti hanno dimostrato noduli o gozzo. Prendendo in considerazione l'intera coorte di pazienti non sono state riscontrate significative correlazioni tra anomalie di funzionalità tiroidea e morfologia riscontrata al controllo ecografico. È da far notare come lo studio è stato condotto considerando una coorte di pazienti trattati esclusivamente con Nivolumab, escludendo quindi associazioni con altri farmaci che avrebbero potuto favorire lo sviluppo di ulteriori eventi avversi sul sistema endocrino.

Si sono riscontrate inoltre pregresse o concomitanti alterazioni della funzionalità tiroidea in un gruppo di 9 pazienti all'inizio del trattamento, questo è stato escluso dalle analisi statistiche ma comunque studiato al pari del resto della coorte: non si sono evidenziate sostanziali alterazioni della funzionalità tiroidea. Si potrebbe quindi dedurre che le pregresse patologie tiroidee non costituiscano un criterio di esclusione dalla terapia con Nivolumab, ovviamente se in concomitanza di un adeguato trattamento della condizione sottostante.

È interessante come solo parte delle tossicità tiroidee date dal Nivolumab potrebbe essere spiegata da un'etiologia autoimmune, questo è in netto contrasto con quanto documentato circa le tossicità da terapia con Pembrolizumab nei pazienti affetti da melanoma (68). Un'altra possibile causa di danno potrebbe ritrovarsi nell'espressione da parte del tessuto tiroideo di PD-1/PD-L1, questo potrebbe determinare una tossicità diretta organo-specifica. D'altra parte però diverse pubblicazioni hanno evidenziato piuttosto una tiroidite indolore con anticorpi diretti contro il tessuto tiroideo (61). Saranno pertanto indispensabili ulteriori studi per comprendere al meglio i meccanismi coinvolti in tali casi apparentemente privi di etiologia autoimmune, soprattutto per individuare l'approccio terapeutico più adeguato in questi casi.

Prendendo in considerazione gli altri assi ormonali è estremamente difficile trarre delle conclusioni significative, data l'eterogeneità dei risultati ottenuti, combinata alla presenza di molteplici fattori di interferenza e terapie concomitanti. Ad esempio per quanto concerne prolattina e cortisolo i dati sono invalidati da alcune terapie concomitanti che sono conosciute per interferire con la determinazione dei livelli di questi ormoni. Non si sono evidenziati casi con significative alterazioni degli ormoni gonadici. Nel gruppo analizzato, inoltre, non è stato identificato alcun caso di deficit di ACTH legato a meccanismi autoimmuni, evenienza riportata invece durante la terapia con Nivolumab per melanoma metastatico ed altre neoplasie (61,69).

È interessante notare come il 32% dei pazienti presi in considerazione per lo studio presentassero alti livelli di IGF-1 al *baseline*: questo dato è in linea con dati pubblicati che hanno messo in correlazione le alte concentrazioni di tale ormone

con un rischio aumentato di sviluppare in futuro alcune neoplasie tra cui quelle di seno, colon e, soprattutto, polmone (70–73). È stato inoltre evidenziato come in pazienti già affetti da tumore polmonare i livelli di IGF-1 siano sensibilmente più alti se comparati con un popolazione di controllo sana (74); d'altra parte ci si può aspettare una sensibile alterazione delle suddette concentrazioni ormonali in determinate categorie di pazienti: in particolare si può riscontrare un abbassamento in caso di patologia in stadio metastatico avanzato, nonché un rialzo in corrispondenza dell'inizio della terapia potrebbe testimoniare un miglioramento delle condizioni metaboliche e del performance status (75,76).

Sempre più evidenze stanno di recente mettendo in relazione diretta i livelli di IGF-1 con la prognosi in diversi tumori: sembrerebbe infatti che bassi livelli di tale molecola predicano un outcome negativo (77–79). I dati ottenuti dal nostro studio sembrano supportare queste evidenze: in effetti, i pazienti con bassi livelli di IGF-1 hanno dimostrato una sopravvivenza ridotta rispetto a chi invece ha presentato con livelli normali o addirittura alti; analizzando le curve di sopravvivenza si evidenzia proprio una significativa riduzione della sopravvivenza mediana ($p=0.031$) se si mettono a confronto i pazienti che hanno visto un abbassamento della concentrazione di IGF-1 nel corso del follow-up o la presentavano già bassa al *baseline*, rispetto a chi, invece, ha mantenuto i livelli nei range o addirittura sopra per tutta la durata del follow-up. Si potrebbe quindi ipotizzare che IGF-1 potrebbe fungere da marker prognostico in questo tipo di pazienti, serviranno pertanto ulteriori studi, nonché su casistiche più ampie in modo da rafforzare tale evidenza, specialmente in rapporto ai pazienti con NSCLC in stadio avanzato.

In relazione al legame tra sopravvivenza ed insorgenza de novo di ipotiroidismo come irAE, si è visto che i pazienti che ne stati colpiti hanno poi dimostrato una mortalità ridotta rispetto a chi invece non la ha sviluppata: se il primo gruppo ha avuto una sopravvivenza mediana di 23,2 mesi nel secondo questo si fermava a 6,2 mesi ($p=0.023$), dati confermati sia in analisi univariata che multivariata. Altri studi in letteratura hanno analizzato l'insorgenza di irAE endocrinologiche per diversi tumori utilizzando diversi inibitori degli immunocheckpoint, dimostrandone la correlazione con una migliore sopravvivenza: Faje (80) si è focalizzato sull'ipofisite in pazienti trattati con ipilimumab, Kotwal (66) ed Osorio (58) hanno preso in considerazione la tiroidite insorta in terapia con inibitori di PD-L1, infine Haratani (67) e Masuda (65) hanno studiato coorti trattate con Nivolumab che hanno sviluppato multipli eventi avversi endocrinologici e non. Sicuramente le evidenze sono molto più forti in relazione al trattamento del melanoma, dato che la classe degli inibitori dei checkpoint immunitari ha ricevuto la prima indicazione proprio in questo ambito (80,81). Il gruppo di Peiró (59) ha studiato una coorte di 73 pazienti trattati con Nivolumab, sia in monoterapia che in associazione con chemioterapia o altri ICPI: nel sottogruppo di pazienti affetti da NSCLC si è evidenziata una sopravvivenza significativamente più lunga in chi ha sviluppato tossicità a livello tiroideo. Il gruppo di Sbardella (60) ha invece preso in considerazione pazienti affetti da diverse neoplasie e in terapia con Nivolumab o Pembrolizumab: in contrasto con gli articoli precedentemente citati, non si sono evidenziate significative differenze in sopravvivenza tra chi ha presentato gli eventi avversi tiroidei; è da far notare come, per quanto il risultato definitivo non fosse

significativo, i dati dimostrassero comunque un trend in favore del sottogruppo che ha presentato l'evento avverso in questione.

È da notare come le evidenze che emergono da alcuni degli articoli precedentemente citati siano invalidati dalla mancanza di correzione per alcuni fattori confondenti quali tipo di tumore preso in considerazione, sesso, età, o altri fattori prognostici tra cui il performance status o precedenti terapie; inoltre, escluse alcune esperienze sul melanoma, sono stati presi in considerazione prevalentemente studi di natura retrospettiva. Solo lo studio condotto da Peiró (59) aveva un'impostazione di tipo prospettico, ma differisce comunque dalla nostra esperienza in quanto prevedeva la somministrazione di Nivolumab associato ad altri trattamenti, sia chemioterapici che immunoterapici.

Questo è il primo studio prospettico che ha dimostrato una migliore sopravvivenza in pazienti affetti NSCLC che abbiano sviluppato eventi avversi di natura endocrinologica, in particolare tiroidea, durante il trattamento con Nivolumab in monoterapia; i risultati ottenuti sembrerebbero ulteriormente rafforzare la necessità di una diagnosi tempestiva e un adeguato trattamento di questi eventi avversi, in modo da evitare la sospensione del trattamento e garantirne quindi il migliore effetto antitumorale.

È evidente che sarebbe necessario valutare i parametri di funzionalità tiroidea prima di intraprendere la terapia e poi monitorarli in corrispondenza di ogni nuovo ciclo di Nivolumab. Il trattamento di ipotiroidismo e tireotossicosi dovrebbe seguire le linee guida standard relative. Rimane ancora da approfondire lo studio circa il ruolo che una terapia con glucocorticoidi e/o una sospensione del trattamento possa ricoprire nel prevenire l'evoluzione della tireotossicosi in ipotiroidismo, come

l'esperienza documentata da Yamauchi sembrerebbe suggerire, seppur su un campione molto piccolo (61). In ogni caso la decisione di sospendere il trattamento con Nivolumab dovrebbe essere accuratamente ponderata valutando il rapporto tra rischi e benefici che il paziente in questione potrebbe trarre.

Nel management dei pazienti in trattamento con Nivolumab rimane comunque necessario, qualora si riscontrassero segni o sintomi suggestivi di ipofisite o deficit di cortisolo, indagare e di conseguenza monitorare la funzionalità surrenalica, nonché la globalità di quella ipofisaria.

Conclusioni

I dati raccolti da questo studio si aggiungono a quelli raccolti da altre esperienze nel campo, rivelandosi perfettamente in linea con alcune di esse: Nivolumab si riconferma essere associato prevalentemente ad eventi avversi a carico della tiroide, al contrario non si sono riscontrati casi suggestivi per eventi avversi a carico della ghiandola ipofisaria, riscontrate invece molto più frequentemente nel corso di trattamenti con Ipilimumab.

Riguardo alle tossicità tiroidee, queste ultime si sono rivelate frequenti colpendo in totale il 23,4% dei pazienti, ossia 15 sul totale di 64, di cui 11 casi di ipotiroidismo e 4 di tireotossicosi transitoria poi evoluta in eutiroidismo. È da notare però come tra tutti questi pazienti, solo in un caso di ipotiroidismo sia stata necessaria una terapia sostitutiva con levotiroxina, mentre in nessun caso di tireotossicosi si è ricorsi alla somministrazione di terapia con glucocorticoidi. Altro dato suggestivo riguarda quei pazienti che invece presentavano un profilo tiroideo già alterato al tempo zero: monitorando il profilo endocrinologico durante il corso della terapia con Nivolumab, in nessuno di questi pazienti si sono evidenziate significative alterazioni del quadro di partenza; sulla base di questo essere in terapia per pregresse patologie tiroidee non costituirebbe un criterio di esclusione dal trattamento con Nivolumab.

Dallo studio appare dunque significativa la correlazione tra lo sviluppo di ipotiroidismo e un miglioramento della sopravvivenza: in questo senso sviluppare questo particolare evento avverso correlato all'immunoterapia potrebbe essere

considerato un biomarker positivo, predittivo di una buona risposta antitumorale alla terapia nei pazienti con tumore polmonare non a piccole cellule.

I dati raccolti da questa esperienza evidenziano come sia fondamentale una collaborazione stretta tra oncologi ed endocrinologi: questo stretto monitoraggio avrebbe una cruciale importanza, in quanto garantirebbe un tempestivo riconoscimento di eventuali eventi avversi ed inizio della relativa cura, evitando così inutili sospensioni del trattamento con Nivolumab che potrebbero inficiarne il risultato antitumorale.

Nel corso del monitoraggio dei vari assi ormonali è emerso, inoltre, che avere alti livelli di IGF-1 al *baseline* è connesso ad un aumentato rischio di sviluppare malignità polmonare, andando a confermare quanto in precedenza evidenziato da altri articoli. In contrasto avere bassi livelli di tale ormone a neoplasia già sviluppata avrebbe un ruolo prognostico negativo. Questo dato potrebbe essere spiegato da una malattia già in stadio avanzato o, addirittura, metastatica; sarebbe interessante rafforzare queste evidenze con ulteriori studi dedicati.

*Grazie al Prof Ferone e alla Prof Albertelli,
per avermi trasmesso l'amore per l'Endocrinologia
Grazie alla mia famiglia,
perché anche al millesimo esaurimento mi hanno spronato a non mollare
Grazie a Richi, Eli, Glo e Ari,
che quegli esaurimenti li hanno vissuti in diretta
Grazie ad Ale, Matte e Sara,
perché loro non lo sanno, ma senza il supporto morale non sarei mai andato avanti
Grazie a Manu e Gila,
mie rocce negli ultimi semestri
Grazie ad Andre,
perché in un modo o nell'altro se sono qui è merito suo*

INDICE DELLE FIGURE

Figura 1. Le principali forme di immunoterapia (2)	2
Figura 2. Effetti dell'interazione PD-1/PD-L1 su linfociti T e microambiente tumorale (29).....	9
Figura 3 Rappresentazione grafica del decorso clinico della tiroidite destruyente. (64)	23

INDICE DEI GRAFICI

Grafico 1 Curva di Kaplan-Meier, compara la sopravvivenza sulla base della concentrazione di IGF-1 distinguendo un gruppo con livelli normali-elevati e un gruppo con invece livelli bassi-annullati.....	37
Grafico 2 Curva di Kaplan-Meier: confronto della sopravvivenza con irAE tiroidea e senza.	39

INDICE DELLE TABELLE

Tabella 1 Principali irAEs a carico del sistema endocrino (49).....	15
Tabella 2 National Cancer Institute, Common terminology criteria for adverse events version 4.0.....	22
Tabella 3 Principali caratteristiche della coorte di pazienti considerati.....	28
Tabella 4 Riferimenti per i livelli ormonali	29
Tabella 5 Caratteristiche principali dei pazienti coinvolti e risultati dello studio..	33
Tabella 6 Frequenza e caratteristiche delle principali tossicità tiroidee documentate.	34
Tabella 7 Analsi univariata e multivariata	38

BIBLIOGRAFIA

1. Punt J, Stranford S, Jones P, Owen JA. Kuby Immunology. 8th ed. 2018 edizione. WH Freeman; 2018. 944 pag.
2. Galluzzi L, Vacchelli E, Pedro J-MB-S, Buqué A, Senovilla L, Baracco EE, et al. Classification of current anticancer immunotherapies. *Oncotarget*. 30 dicembre 2014;5(24):12472–508.
3. Baxter D. Active and passive immunization for cancer. *Hum Vaccines Immunother*. 1 luglio 2014;10(7):2123–9.
4. Xu MJ, Johnson DE, Grandis JR. EGFR-Targeted Therapies in the Post-Genomic Era. *Cancer Metastasis Rev*. settembre 2017;36(3):463–73.
5. Micheau O, Shirley S, Dufour F. Death receptors as targets in cancer. *Br J Pharmacol*. agosto 2013;169(8):1723–44.
6. Selby C, Yacko LR, Glode AE. Gemtuzumab Ozogamicin: Back Again. *J Adv Pract Oncol*. febbraio 2019;10(1):68–82.
7. Salles G, Barrett M, Foà R, Maurer J, O'Brien S, Valente N, et al. Rituximab in B-Cell Hematologic Malignancies: A Review of 20 Years of Clinical Experience. *Adv Ther*. ottobre 2017;34(10):2232–73.
8. Newman MJ, Benani DJ. A review of blinatumomab, a novel immunotherapy. *J Oncol Pharm Pract Off Publ Int Soc Oncol Pharm Pract*. agosto 2016;22(4):639–45.
9. Jiang X, Xu J, Liu M, Xing H, Wang Z, Huang L, et al. Adoptive CD8+ T cell therapy against cancer: Challenges and opportunities. *Cancer Lett*. ottobre 2019;462:23–32.
10. Mohanty R, Chowdhury C, Arega S, Sen P, Ganguly P, Ganguly N. CAR T cell therapy: A new era for cancer treatment (Review). *Oncol Rep [Internet]*. 24 settembre 2019 [citato 11 aprile 2021]; Disponibile su: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2019.7335>
11. Holstein SA, Lunning MA. CAR T-Cell Therapy in Hematologic Malignancies: A Voyage in Progress. *Clin Pharmacol Ther*. gennaio 2020;107(1):112–22.
12. Bartlett DL, Liu Z, Sathaiah M, Ravindranathan R, Guo Z, He Y, et al.

Oncolytic viruses as therapeutic cancer vaccines. *Mol Cancer*. 11 settembre 2013;12(1):103.

13. Cao G, He X, Sun Q, Chen S, Wan K, Xu X, et al. The Oncolytic Virus in Cancer Diagnosis and Treatment. *Front Oncol* [Internet]. 9 settembre 2020 [citato 11 aprile 2021];10. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7509414/>

14. Berraondo P, Sanmamed MF, Ochoa MC, Etxeberria I, Aznar MA, Pérez-Gracia JL, et al. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *Br J Cancer*. 8 gennaio 2019;120(1):6–15.

15. Waldmann TA. Cytokines in Cancer Immunotherapy. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. dicembre 2018 [citato 13 aprile 2021];10(12). Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6280701/>

16. Sabado RL, Balan S, Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res*. gennaio 2017;27(1):74–95.

17. Wculek SK, Cueto FJ, Mujal AM, Melero I, Krummel MF, Sancho D. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. gennaio 2020;20(1):7–24.

18. Vermaelen K. Vaccine Strategies to Improve Anti-cancer Cellular Immune Responses. *Front Immunol*. 2019;10:8.

19. Neek M, Kim T, Wang S-W. Protein-Based Nanoparticles in Cancer Vaccine Development. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med*. gennaio 2019;15(1):164–74.

20. Lopes A, Vandermeulen G, Pr at V. Cancer DNA vaccines: current preclinical and clinical developments and future perspectives. *J Exp Clin Cancer Res CR* [Internet]. 5 aprile 2019 [citato 14 aprile 2021];38. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6449928/>

21. Guallar-Garrido S, Juli n E. Bacillus Calmette-Gu rin (BCG) Therapy for Bladder Cancer: An Update. *ImmunoTargets Ther*. 2020;9:1–11.

22. Hanna E, Abadi R, Abbas O. Imiquimod in dermatology: an overview. *Int J Dermatol*. agosto 2016;55(8):831–44.

23. Buzzatti G, Dellepiane C, Del Mastro L. New emerging targets in cancer immunotherapy: the role of GITR. *ESMO Open*. agosto 2020;4(Suppl 3):e000738.

24. Ye L, Jia K, Wang L, Li W, Chen B, Liu Y, et al. CD137, an attractive candidate for the immunotherapy of lung cancer. *Cancer Sci.* maggio 2020;111(5):1461–7.
25. Chen Y, Di C, Zhang X, Wang J, Wang F, Yan J-F, et al. Transforming growth factor β signaling pathway: A promising therapeutic target for cancer. *J Cell Physiol.* marzo 2020;235(3):1903–14.
26. Youngblood B, Oestreich KJ, Ha S-J, Duraiswamy J, Akondy RS, West EE, et al. Chronic virus infection enforces demethylation of the locus that encodes PD-1 in antigen-specific CD8⁺ T cells. *Immunity.* 23 settembre 2011;35(3):400–12.
27. Staron MM, Gray SM, Heather D. Marshall, Parish IA, Chen JH, Perry CJ, et al. The transcription factor FoxO1 sustains expression of the inhibitory receptor PD-1 and survival of antiviral CD8⁺ T cells during chronic infection. *Immunity.* 20 novembre 2014;41(5):802–14.
28. Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res.* 2020;10(3):727–42.
29. Jiang Y, Chen M, Nie H, Yuan Y. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations. *Hum Vaccines Immunother.* 19 marzo 2019;15(5):1111–22.
30. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood.* 20 agosto 2009;114(8):1537–44.
31. Wieder T, Eigentler T, Brenner E, Röcken M. Immune checkpoint blockade therapy. *J Allergy Clin Immunol.* novembre 2018;142(5):1403–14.
32. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O'Day S, Weber J, Garbe C, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 30 giugno 2011;364(26):2517–26.
33. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *N Engl J Med.* 19 agosto 2010;363(8):711–23.
34. Cameron F, Whiteside G, Perry C. Ipilimumab: first global approval. *Drugs.* 28 maggio 2011;71(8):1093–104.

35. Melosky B, Chu Q, Juergens R, Leighl N, McLeod D, Hirsh V. Pointed Progress in Second-Line Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer: The Rapidly Evolving Field of Checkpoint Inhibition. *J Clin Oncol*. 10 maggio 2016;34(14):1676–88.
36. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 9 luglio 2015;373(2):123–35.
37. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 22 ottobre 2015;373(17):1627–39.
38. Hollen PJ, Gralla RJ, Kris MG, Potanovich LM. Quality of life assessment in individuals with lung cancer: testing the Lung Cancer Symptom Scale (LCSS). *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 1993;29A Suppl 1:S51-58.
39. Balestroni G, Bertolotti G. [EuroQol-5D (EQ-5D): an instrument for measuring quality of life]. *Monaldi Arch Chest Dis Arch Monaldi Mal Torace*. settembre 2012;78(3):155–9.
40. Reck M, Taylor F, Penrod JR, DeRosa M, Morrissey L, Dastani H, et al. Impact of Nivolumab versus Docetaxel on Health-Related Quality of Life and Symptoms in Patients with Advanced Squamous Non-Small Cell Lung Cancer: Results from the CheckMate 017 Study. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. febbraio 2018;13(2):194–204.
41. Vaddepally RK, Kharel P, Pandey R, Garje R, Chandra AB. Review of Indications of FDA-Approved Immune Checkpoint Inhibitors per NCCN Guidelines with the Level of Evidence. *Cancers*. 20 marzo 2020;12(3).
42. Hofmann L, Forschner A, Loquai C, Goldinger SM, Zimmer L, Ugurel S, et al. Cutaneous, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and renal side-effects of anti-PD-1 therapy. *Eur J Cancer*. giugno 2016;60:190–209.
43. Zimmer L, Goldinger SM, Hofmann L, Loquai C, Ugurel S, Thomas I, et al. Neurological, respiratory, musculoskeletal, cardiac and ocular side-effects of anti-PD-1 therapy. *Eur J Cancer*. giugno 2016;60:210–25.
44. Naidoo J, Page DB, Li BT, Connell LC, Schindler K, Lacouture ME, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann*

Oncol. dicembre 2015;26(12):2375–91.

45. Bellaguarda E, Hanauer S. Checkpoint Inhibitor–Induced Colitis. *Am J Gastroenterol.* febbraio 2020;115(2):202–10.

46. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti–PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med.* 28 giugno 2012;366(26):2443–54.

47. Bukamur H, Katz H, Alsharedi M, Alkrekshi A, Shweihat YR, Munn NJ. Immune Checkpoint Inhibitor-Related Pulmonary Toxicity: Focus on Nivolumab. *South Med J.* novembre 2020;113(11):600–5.

48. Dudzińska M, Szczyrek M, Wojas-Krawczyk K, Świrski J, Chmielewska I, Zwolak A. Endocrine Adverse Events of Nivolumab in Non-Small Cell Lung Cancer Patients—Literature Review. *Cancers.* 17 agosto 2020;12(8):2314.

49. Opdivo: Immune Mediated Adverse Management Guide [Internet]. [citato 27 aprile 2021]. Disponibile su: https://www.opdivohcp.com/assets/commercial/us/opdivo-hcp-pan-tumor/en/pdf/Immune_Mediated_Adverse_Management_Guide.pdf

50. Shang Y hong, Zhang Y, Li J hua, Li P, Zhang X. Risk of endocrine adverse events in cancer patients treated with PD-1 inhibitors: a systematic review and meta-analysis. *Immunotherapy.* marzo 2017;9(3):261–72.

51. Iwama S, De Remigis A, Callahan MK, Slovin SF, Wolchok JD, Caturegli P. Pituitary expression of CTLA-4 mediates hypophysitis secondary to administration of CTLA-4 blocking antibody. *Sci Transl Med.* 2 aprile 2014;6(230):230ra45.

52. Corsello SM, Barnabei A, Marchetti P, De Vecchis L, Salvatori R, Torino F. Endocrine side effects induced by immune checkpoint inhibitors. *J Clin Endocrinol Metab.* aprile 2013;98(4):1361–75.

53. Abdel-Rahman O, ElHalawani H, Fouad M. Risk of endocrine complications in cancer patients treated with immune check point inhibitors: a meta-analysis. *Future Oncol Lond Engl.* febbraio 2016;12(3):413–25.

54. Barroso-Sousa R, Barry WT, Garrido-Castro AC, Hodi FS, Min L, Krop IE, et al. Incidence of Endocrine Dysfunction Following the Use of Different Immune Checkpoint Inhibitor Regimens: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*

Oncol. 1 febbraio 2018;4(2):173.

55. Trainer H, Hulse P, Higham CE, Trainer P, Lorigan P. Hyponatraemia secondary to nivolumab-induced primary adrenal failure. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* [Internet]. 2016 [citato 28 aprile 2021];2016. Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5097140/>

56. Kotwal A, Haddox C, Block M, Kudva YC. Immune checkpoint inhibitors: an emerging cause of insulin-dependent diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care* [Internet]. 13 febbraio 2019 [citato 28 aprile 2021];7(1). Disponibile su: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6398813/>

57. Gauci M-L, Laly P, Vidal-Trecan T, Baroudjian B, Gottlieb J, Madjlessi-Ezra N, et al. Autoimmune diabetes induced by PD-1 inhibitor-retrospective analysis and pathogenesis: a case report and literature review. *Cancer Immunol Immunother CII*. novembre 2017;66(11):1399–410.

58. Osorio JC, Ni A, Chaft JE, Pollina R, Kasler MK, Stephens D, et al. Antibody-mediated thyroid dysfunction during T-cell checkpoint blockade in patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. marzo 2017;28(3):583–9.

59. Peiró I, Palmero R, Iglesias P, Díez JJ, Simó-Servat A, Marín JA, et al. Thyroid dysfunction induced by nivolumab: searching for disease patterns and outcomes. *Endocrine*. giugno 2019;64(3):605–13.

60. Sbardella E, Tenuta M, Sirgiovanni G, Gianfrilli D, Pozza C, Venneri MA, et al. Thyroid disorders in programmed death 1 inhibitor-treated patients: Is previous therapy with tyrosine kinase inhibitors a predisposing factor? *Clin Endocrinol (Oxf)*. marzo 2020;92(3):258–65.

61. Yamauchi I, Sakane Y, Fukuda Y, Fujii T, Taura D, Hirata M, et al. Clinical Features of Nivolumab-Induced Thyroiditis: A Case Series Study. *Thyroid*. luglio 2017;27(7):894–901.

62. Delivanis DA, Gustafson MP, Bornschlegl S, Merten MM, Kottschade L, Withers S, et al. Pembrolizumab-Induced Thyroiditis: Comprehensive Clinical Review and Insights Into Underlying Involved Mechanisms. *J Clin Endocrinol Metab*. 1 agosto 2017;102(8):2770–80.

63. Ramos-Levi AM, Rogado J, Sanchez-Torres JM, Colomer R, Marazuela M. Nivolumab-induced thyroid dysfunction in patients with lung cancer. *Endocrinol*

Diabetes Nutr. gennaio 2019;66(1):26–34.

64. Yamauchi I, Yasoda A, Matsumoto S, Sakamori Y, Kim YH, Nomura M, et al. Incidence, features, and prognosis of immune-related adverse events involving the thyroid gland induced by nivolumab. *PLoS One*. 2019;14(5):e0216954.

65. Masuda K, Shoji H, Nagashima K, Yamamoto S, Ishikawa M, Imazeki H, et al. Correlation between immune-related adverse events and prognosis in patients with gastric cancer treated with nivolumab. *BMC Cancer*. dicembre 2019;19(1):974.

66. Kotwal A, Kottschade L, Ryder M. PD-L1 Inhibitor-Induced Thyroiditis Is Associated with Better Overall Survival in Cancer Patients. *Thyroid*. 1 febbraio 2020;30(2):177–84.

67. Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, Kudo K, Yonesaka K, Kato R, et al. Association of Immune-Related Adverse Events With Nivolumab Efficacy in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 1 marzo 2018;4(3):374.

68. de Filette J, Jansen Y, Schreuer M, Everaert H, Velkeniers B, Neyns B, et al. Incidence of Thyroid-Related Adverse Events in Melanoma Patients Treated With Pembrolizumab. *J Clin Endocrinol Metab*. novembre 2016;101(11):4431–9.

69. HIROYUKI ARIYASU1, HIDEFUMI INABA1, TAKAYUKI OTA1, HIROYUKI YAMAOKA1, YASUSHI FURUKAWA1, HIROSHI IWAKURA1, NAOTAKA DOI2, YUKI YAMAMOTO2 and TAKASHI AKAMIZU. Thyrotoxicosis and Adrenocortical Hormone Deficiency During Immune-checkpoint Inhibitor Treatment for Malignant Melanoma. *In Vivo* [Internet]. 27 febbraio 2018 [citato 8 aprile 2021];32(2). Disponibile su: <http://iv.iiarjournals.org/content/32/2/345.abstract>

70. Christopoulos PF, Msaouel P, Koutsilieris M. The role of the insulin-like growth factor-1 system in breast cancer. *Mol Cancer*. 15 febbraio 2015;14:43.

71. Gao Y, Katki H, Graubard B, Pollak M, Martin M, Tao Y, et al. Serum IGF1, IGF2 and IGFBP3 and risk of advanced colorectal adenoma. *Int J Cancer*. 15 luglio 2012;131(2):E105-113.

72. Spitz MR, Barnett MJ, Goodman GE, Thornquist MD, Wu X, Pollak M. Serum insulin-like growth factor (IGF) and IGF-binding protein levels and risk of lung cancer: a case-control study nested in the beta-Carotene and Retinol Efficacy

Trial Cohort. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* novembre 2002;11(11):1413–8.

73. Yu H, Spitz MR, Mistry J, Gu J, Hong WK, Wu X. Plasma Levels of Insulin-Like Growth Factor-I and Lung Cancer Risk: a Case-Control Analysis. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 20 gennaio 1999;91(2):151–6.

74. ZHANG M, LI X, ZHANG X, YANG Y, FENG Z, LIU X. Association of serum hemoglobin A1c, C-peptide and insulin-like growth factor-1 levels with the occurrence and development of lung cancer. *Mol Clin Oncol.* luglio 2014;2(4):506–8.

75. Boschetti M, Larizza D, Calcaterra V, Arvigo M, Fazzuoli L, Di Battista E, et al. Effect of environment on growth: auxological and hormonal parameters in African and Italian children. *Growth Horm IGF Res Off J Growth Horm Res Soc Int IGF Res Soc.* giugno 2009;19(3):238–41.

76. Heald AH, Sharma R, Anderson SG, Vyas A, Siddals K, Patel J, et al. Dietary intake and the insulin-like growth factor system: effects of migration in two related populations in India and Britain with markedly different dietary intake. *Public Health Nutr.* settembre 2005;8(6):620–7.

77. de Groot S, Gelderblom H, Fiocco M, Bovée JV, van der Hoeven JJ, Pijl H, et al. Serum levels of IGF-1 and IGF-BP3 are associated with event-free survival in adult Ewing sarcoma patients treated with chemotherapy. *OncoTargets Ther.* 2017;10:2963–70.

78. Yao Y, Mao W, Dong M, Yang D, Li W, Chen Y. Serum Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1): a Novel Prognostic Factor for Early Recurrence of Hepatocellular Carcinoma (HCC). *Clin Lab.* 1 febbraio 2017;63(2):261–70.

79. Wang J, Luo X-X, Tang Y-L, Xu J-X, Zeng Z-G. The prognostic values of insulin-like growth factor binding protein in breast cancer. *Medicine (Baltimore).* maggio 2019;98(19):e15561.

80. Faje AT, Sullivan R, Lawrence D, Tritos NA, Fadden R, Klibanski A, et al. Ipilimumab-Induced Hypophysitis: A Detailed Longitudinal Analysis in a Large Cohort of Patients With Metastatic Melanoma. *J Clin Endocrinol Metab.* novembre 2014;99(11):4078–85.

81. Freeman-Keller M, Kim Y, Cronin H, Richards A, Gibney G, Weber JS.

Nivolumab in Resected and Unresectable Metastatic Melanoma: Characteristics of Immune-Related Adverse Events and Association with Outcomes. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 febbraio 2016;22(4):886–94.