



**Università
degli Studi
di Palermo**

AREA RICERCA E TRASFERIMENTO TECNOLOGICO
SETTORE DOTTORATI E CONTRATTI PER LA RICERCA
U. O. DOTTORATI DI RICERCA

Dottorato di ricerca in Oncologia e Chirurgia Sperimentali
Dipartimento di Medicina di Precisione in Area Medica, Chirurgica e Critica (Me.Pre.C.C.)
SSD - 06/MEDS-10 - Gastroenterologia, Malattie Infettive e Malattie Cutanee

THE ROLE OF ENDOSCOPIC ULTRASOUND-GUIDED TRANS ESOPHAGEAL FINE NEEDLE BIOPSY FOR LUNG MASSES

IL DOTTORE
DOTT. GIACOMO EMANUELE MARIA RIZZO

IL COORDINATORE
PROF. ANTONIO RUSSO

IL TUTOR
PROF. VITO DI MARCO

CICLO _XXXVII_
ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO _2024_

INDICE

Introduzione.....	4
Classificazione neoplasie polmonari	5
Biopsia per via ecoendoscopica	6
Materiali e metodi	9
Scopo dello studio.....	9
Disegno dello studio.....	9
Procedure.....	10
Definizioni	11
Ricerca driver mutations.....	12
Analisi statistiche	12
Risultati	13
Popolazione.....	13
Obiettivi dello studio.....	17
Valutazione mutazioni e predittori su tessuto bioptico	20
Discussione.....	21
Conclusioni.....	25

Introduzione

La valutazione ecoendoscopica (EUS) di masse mediastiniche è una tecnica ben nota, soprattutto nei casi di stadiazione dei linfonodi e campionamento tissutale [1], e dal 2013 le linee guida oncologiche la raccomandano come tecnica di scelta [2]. Inoltre, le masse polmonari possono essere valutate tramite EUS nel mediastino e accanto all'esofago, nonostante rimangano una sfida diagnostica per l'acquisizione di tessuti guidata da EUS (TA), a causa sia di un'accuratezza diagnostica incerta, sia della mancanza di dati sull'ottenimento di sufficiente tessuto per la ricerca di geni target. Tradizionalmente, le tecniche più comuni nei centri terziari con unità di chirurgia toracica e un alto volume di procedure polmonari sono ancora l'acquisizione di tessuti guidata da tomografia computerizzata (CT) percutanea e quella transbronchiale. In passato, anche la mediastinoscopia era considerata uno standard diagnostico per i linfonodi mediastinici o la stadiazione delle masse polmonari centrali, ma è una procedura molto invasiva con limiti significativi [3]. Infatti, le masse polmonari centrali o periesofagee richiedono un approccio diverso, come nei casi di pazienti fragili/ipossici, candidati non idonei per procedure transbronchiali, o quando è necessario un maggior quantitativo di tessuto per analisi specifiche, inclusa la ricerca di profili genetici, che potrebbe diventare un esame di routine in futuro [4]. Dal 2015, la Società Europea di Endoscopia Gastrointestinale (ESGE), in collaborazione con la Società Europea di Pneumologia (ERS) e la Società Europea di Chirurghi Toracici (ESTS), ha suggerito l'uso dell'ecoendoscopia transesofagea nei pazienti con un tumore polmonare centrale non visibile alla broncoscopia convenzionale [5]. In caso di malignità polmonare una celere identificazione della

neoplasia tramite una chiara classificazione istologica e molecolare è fondamentale per la corretta gestione del paziente e per poter somministrare il miglior trattamento.

Classificazione neoplasie polmonari

Le lesioni polmonari oggetto di questo studio sono sospette di essere di natura maligna, per cui un'adeguata classificazione istologica è fondamentale per poterle riconoscere e trattare adeguatamente. Il carcinoma polmonare è costituito da un gruppo di sottotipi eterogenei sia a livello molecolare che istologico [6]. I due principali sottotipi istologici sono il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) e il carcinoma polmonare a piccole cellule (SCLC). La classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) dei tumori polmonari del 2021 è quella attualmente più utilizzata [7] che è un'aggiornamento molto simile a quella del 2015 ed è la base per la classificazione del cancro ai polmoni.

Tabella 1. Classificazione delle neoplasie polmonari secondo l'organizzazione mondiale della sanità (OMS)

CLASSIFICAZIONE	TIPOLOGIA DI TUMORE
Tumori Epiteliali	Adenocarcinoma, Carcinoma a cellule squamose, Carcinoma a grandi cellule, Carcinoma neuroendocrino a grandi cellule, Carcinoma a denosquamoso, Carcinoma mucoepidermoide, Tumori carcinoidi, Carcinoma bronchioloalveolare
Tumori Mesenchimali	Tumore fibroso solitario, Tumori stromali polmonari, Tumore miofibroblastico infiammatorio, Tumore desmoplastico a piccole cellule rotonde, Tumore di Ewing/PNET
Tumori di origine Melanocitica	Melanoma
Tumori a cellule germinali	Seminoma, Carcinoma embrionale, Teratoma, Tumore del sacco vitellino, Coriocarcinoma
Tumori Linfatici ed Ematopoietici	Linfoma, Leucemia, Plasmocitoma

La classificazione della WHO sottolinea che i campioni di tessuto devono essere gestiti non solo per la diagnosi istopatologica, ma anche per preservare il tessuto per studi molecolari, che hanno importanti implicazioni terapeutiche, come l'uso di terapie target. Infatti, nello specifico, la classificazione molecolare del carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) ha rivoluzionato l'oncologia di precisione. La caratterizzazione molecolare avanzata di queste neoplasie, tramite tecnologie come il sequenziamento di nuova generazione (Next generation sequencing, NGS), ha svelato molte alterazioni oncogeniche trattabili con terapie mirate. La presenza di una mutazione oncogenica driver (nei geni che codificano per la chinasi del linfoma anaplastico [ALK] o per il recettore del fattore di crescita epidermico [EGFR]) rende un tumore sensibile all'inibizione mirata delle tirosin-chinasi. Difatti, le mutazioni di EGFR, le riarrangiamenti di ALK e ROS1, e le mutazioni BRAF V600E sono ora test raccomandati per tutti i nuovi casi di tumore polmonare del tipo adenocarcinoma avanzato [8]. Inoltre, una lista crescente di terapie mirate approvate include mutazioni KRAS G12C, alterazioni MET exon 14, riarrangiamenti NTRK e RET. Anche l'identificazione della percentuale di espressione del PD-L1 è un elemento utile ai fini del trattamento in questi pazienti, soprattutto coloro i quali hanno una malattia avanzata, poiché alcune terapie sistemiche hanno mostrato outcomes migliori in coloro che avevano determinate espressioni di PD-L1, come nel caso di percentuali superiori al 50% [9].

Biopsia per via ecoendoscopica

L'acquisizione di tessuto per analisi diagnostiche e prognostiche può avvenire tramite l'ecoendoscopia (EUS) digestiva transesofagea. Questa procedura può essere eseguita con uno strumento endoscopico radiale o lineare che monta una sonda ecografica sulla sua punta distale, permettendo di eseguire delle scansioni

direttamente dal tratto gastrointestinale raggiungibile dallo strumento. L'ecoendoscopio radiale fornisce una vista a 360 gradi, ma non permette di eseguire procedure interventistiche e/o acquisire tessuto, mentre la scansione di un ecoendoscopio a matrice lineare curva varia da 120 a 180 gradi. Pertanto, un ecoendoscopio a matrice lineare curva può essere ruotato in senso orario o antiorario per ottenere una vista completa della struttura di interesse, ed inoltre permette di eseguire biopsie guidate di lesioni visualizzate ecograficamente (**figura 1**).



Figura 1. Porzione distale di un ecoendoscopio radiale in cui si osserva un ago da agobiopsia ecoendoscopica fuoriuscire dal canale operativo. Distalmente si osserva la sonda ecografica sulla punta dello strumento (area rosa).

La valutazione ecoendoscopica transgastrica, duodenale e rettale, di masse a partenza da organi addominali è una tecnica ben nota e molto studiata in letteratura, ma anche a livello toracico tale metodica è stata frequentemente applicata, soprattutto nei casi di stadiazione dei linfonodi con campionamento

tissutale [1]. Inoltre, le masse polmonari localizzate centralmente ed accanto all'esofago vengono ancora approcciate con difficoltà tramite EUS digestiva transesofagea, poiché vittime di un'accuratezza diagnostica incerta per la mancanza di dati robusti in letteratura. Infatti, l'ecoendoscopia con agoaspirato (EUS-FNA) è stata utilizzata come approccio di seconda linea, quando le lesioni polmonari sono state adiacenti all'esofago, nei casi di campioni non diagnostici acquisiti tramite broncoscopia o ecografia endobronchiale (EBUS), ma mostrando un'adeguata accuratezza e sensibilità [10, 11]. In uno dei primi studi, l'EUS-FNA è tecnicamente riuscita nel 95% dei casi tra i 66 pazienti inclusi, di cui 21 avevano masse polmonari [12]. Tuttavia, lo sviluppo di aghi di terza generazione per EUS-FNB [13] ha migliorato l'acquisizione tissutale ecoendoscopicamente guidata nell'ultimo decennio, permettendo l'acquisizione di una maggiore quantità di tessuto dalle masse polmonari rispetto all'approccio transbronchiale, sebbene la sua performance diagnostica debba essere rafforzata. Pertanto, l'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare la fattibilità attraverso la performance diagnostica ed il profilo di sicurezza dell'EUS-FNB transesofagea delle lesioni polmonari approcciabili per via transesofagea.

Materiali e metodi

Scopo dello studio

Identificare il ruolo della biopsia transesofagea tramite l'utilizzo dell'ecoendoscopia per la diagnosi di neoformazioni polmonari localizzate centralmente o adiacenti l'esofago. Valutare l'accuratezza dell'EUS-FNB per ottenere materiale tissutale idoneo anche per l'analisi mutazionale (driver mutations), e l'associazione dell'accuratezza del campione ed altri outcomes con variabili tecniche e morfologiche.

Disegno dello studio

Tutti i pazienti consecutivi sottoposti a EUS-FNB di masse polmonari parenchimali sospettate di malignità sono stati arruolati tra Gennaio 2021 e Settembre 2024 in un registro prospettico presso l'istituto di ricerca e riferimento terziario ISMETT (Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad alta specializzazione), e successivamente analizzati retrospettivamente. Lo studio ha analizzato la fattibilità, l'adequazione del campione, l'accuratezza diagnostica, la sensibilità, la specificità e la sicurezza dell'agobiopsia tramite fine needle biopsy (FNB) EUS-guidata per un campionamento transesofageo delle masse polmonari. I pazienti indirizzati all'istituto per la gestione delle masse polmonari sono stati sottoposti a stadiazione del tumore del polmone basata su tomografia computerizzata (CT), tomografia a emissione di positroni (PET) e citologia/istologia. Tutti i dati demografici, clinici, di laboratorio, endosonografici e patologici dei pazienti sottoposti a EUS-FNB delle lesioni polmonari sono stati inseriti in un registro elettronico (eCRF). Gli eventi avversi (AEs) sono stati riportati secondo il lessico standard dell'ASGE (American Society for Gastrointestinal Endoscopy) [14] ed anche secondo sistema AGREE (Adverse Events Gastrointestinal Endoscopy) [15], e registrati specificando se

intra-procedurali, precoci (entro 48 ore dalla procedura) o tardivi (dopo 48 ore). I pazienti sono stati inclusi se soddisfacevano i seguenti criteri: 1) massa polmonare sospetta per malignità all'imaging (e.g. TC, PET), 2) una massa polmonare sottoposta a EUS-FNB transesofageo, 3) accesso ai registri istologici e di analisi molecolare, quando eseguite e disponibili. I criteri di esclusione erano: 1) pazienti con età < 18 anni, 2) mancanza di dati riguardanti la procedura endoscopica. I pazienti sono stati classificati secondo il sistema di stadiazione TNM (tumore, linfonodo, metastasi) per il cancro del polmone quando è stata confermata la malignità polmonare, seguendo l'8ª edizione del sistema di stadiazione TNM dell'American Joint Committee on Cancer (AJCC) [7]. Gli outcomes di interesse sono stati l'adeguatezza del campione, l'accuratezza diagnostica, la sensibilità diagnostica, la specificità diagnostica ed il profilo di sicurezza (percentuale di AEs). I pazienti hanno seguito il loro regolare percorso clinico, per cui il loro follow-up è stato registrato in base alle regolari visite di follow-up.

Procedure

Tutte le procedure EUS sono state eseguite da ecoendoscopisti esperti, definiti come avendo eseguito almeno 50 EUS-FNB mediastiniche, sotto sedazione profonda ed utilizzando ecoendoscopi lineari (Olympus GF-UCT 180 o GF-UCT 140 della ditta Olympus [Amburgo, Germania]). Tutti i pazienti hanno firmato il consenso informato per le procedure. Sono state registrate le caratteristiche tecniche degli aghi da FNB. L'ago utilizzato poteva avere una punta della tipologia *Franseen* (Acquire, Boston Scientific), *forward-facing* (EchoTip ProCore 20 G, Cook Medical, Bloomington, Indiana, USA), *reverse bevel* (EchoTip ProCore, Cook

Medical) o *Shark* (SharkCore, Medtronic Parkway, Minneapolis, USA). Il numero di passaggi è stato deciso a discrezione dell'operatore, basato sulla visual-on-site evaluation (VOSE) [16]. Tutti gli operatori hanno utilizzato la tecnica "slow pull" per il ritiro dello stiletto durante l'esecuzione dell'EUS-FNB [17].

Definizioni

Le definizioni seguivano le definizioni internazionali standardizzate [18]. In particolare, l'adequatezza del campione è stata definita come l'acquisizione con successo di almeno un core biancastro di tessuto durante la valutazione visiva (VOSE) dopo EUS-FNB. L'accuratezza diagnostica è stata definita come la percentuale di lesioni campionate tramite tecniche EUS-FNB che corrispondono alla diagnosi finale all'istopatologia chirurgica o secondo il follow-up clinico/strumentale. Nello specifico, l'accuratezza diagnostica è stata definita come la somma dei veri positivi (TP) più i negativi correttamente identificati come tali (veri negativi - TN) sul numero totale di pazienti in base alla diagnosi finale. I campioni acellulari o ipocellulari sono stati considerati non diagnostici secondo giudizio dell'anatomo patologo. La sensibilità diagnostica è stata definita come la proporzione di positivi correttamente identificati con il test sulla prevalenza della malattia nella coorte di studio $[(TP + \text{falsi negativi (FN)})]$, mentre la specificità diagnostica è stata definita come la proporzione di TN tra i pazienti che non erano affetti dalla malattia nella coorte di studio $[(TN + \text{falsi positivi (FP)})]$. La diagnosi finale è stata basata sull'istologia sul pezzo operatorio, quando il paziente è stato sottoposto a chirurgia, o sui cambiamenti nell'esame radiologico durante il follow-up. La fattibilità dell'EUS-FNB delle masse polmonari è stata definita come un'accuratezza diagnostica superiore all'80%.

Ricerca driver mutations

Le driver mutations sono state ricercate sul campione biotico dei pazienti in cui la diagnosi della lesione era NSCLC tramite analisi immunoistochimica. Le driver mutations ricercate sono state PD-L1 (ligando 1 della morte cellulare programmata), ROS 1, ALK (anaplastic lymphoma kinase), BRAF (V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B), EGFR (recettore del fattore di crescita epidermico). In caso di ricerca PD-L1 l'adeguatezza del campione è stata valutata in base alla presenza di almeno 100 cellule neoplastiche. I test utilizzati sono stati: per PD-L1 il test Ventana PD-L1 (SP263) con assay eseguito su piattaforma benchmark ULTRA con controllo positivo e controllo negativo; per ROS1 ed ALK assays eseguiti su piattaforma benchmark ULTRA con controllo positivo e controllo negativo.

Analisi statistiche

Le variabili categoriche sono presentate come frequenze e percentuali (%), mentre le variabili continue sono descritte come media e deviazione standard (SD) o mediana e intervallo interquartile (IQR) quando non distribuite normalmente. I confronti sono stati effettuati con il test t di Student o il test U di Mann-Whitney per le variabili continue, e il test del chi-quadro o il test esatto di Fisher per le variabili categoriche. L'analisi inferenziale per l'accuratezza diagnostica è stata condotta utilizzando un modello di regressione logistica per stimare gli odds ratio (OR) e gli intervalli di confidenza al 95% (CI), quando calcolabili. Le variabili statisticamente significative dall'analisi univariata sono state costantemente incluse nel modello multivariato. Il livello di significatività è stato fissato a 0,05 (a due code). Le analisi sono state eseguite utilizzando il software statistico open-source JAMovi (the jamovi project, versione 2.3.21) e il software statistico R (Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Risultati

Popolazione

Sono stati inclusi un totale di 61 pazienti con masse polmonari sottoposti a EUS-FNB, per un numero totale di 64 procedure. L'età media è stata di 69.4 ± 10.6 anni e il 73.8 % erano maschi. Quarantuno (41) pazienti (67.2%) avevano performance status (PS) 0 secondo la scala ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group), mentre 18 (29.5%) avevano PS ECOG 1; il 91.8% dei pazienti aveva una storia positiva di fumo, il 60.7% dei quali erano fumatori attivi alla diagnosi (**tabella 1**). La maggior parte dei pazienti con malignità aveva uno stadio avanzato alla diagnosi (stadio IV, 41,27%; stadio IIIB, 15.87%; stadio IIIA, 33.33%, **figura 1**), e il tipo di cancro polmonare più comune è stato il carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC, 67.2%). Solo due lesioni sono state identificate come benigne all'EUS-FNB (infiammazione).

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti inclusi.

Tabella 1.	
Sesso maschile, n (%)	45 (73.8)
Età, media $\pm$ DS	69.4 $\pm$ 10.6
ECOG Performance status (PS) • ECOG PS 0 • ECOG PS 1 • ECOG PS $\geq$2	41 (67.2) 18 (29.5) 2 (3.3)
Storia di fumo di sigaretta, n (%) [*] • Non fumatore • Fumatore attivo alla diagnosi • Pregresso fumatore	5 (8.2) 37 (60.7) 19 (31.1)
Dimesione della lesione (mm), media $\pm$ DS	54 $\pm$ 23.9
Singola lesione, n (%)	54 (88.5%)

Localizzazione	
• Lobo superiore destro	12 (19.7)
• Lobo inferiore destro	13 (21.3)
• Lobo superiore sinistro	15 (24.6)
• Lobo inferiore sinistro	4 (6.6)
• Ilo polmonare	5 (8.2)
• Pleura destra	2 (3.3)
• Polmone destro	3 (4.9)
• Polmone sinistro	6 (9.8)
• Entrambi i polmoni	1 (1.6)
Infiltrazione bronchiale, n (%)	19 (46.3)*
Versamento pleurico, n (%)	7 (11.5)

*valutata in corso di broncoscopia

DS= devizione standard; ECOG = Eastern Cooperative Oncology Group

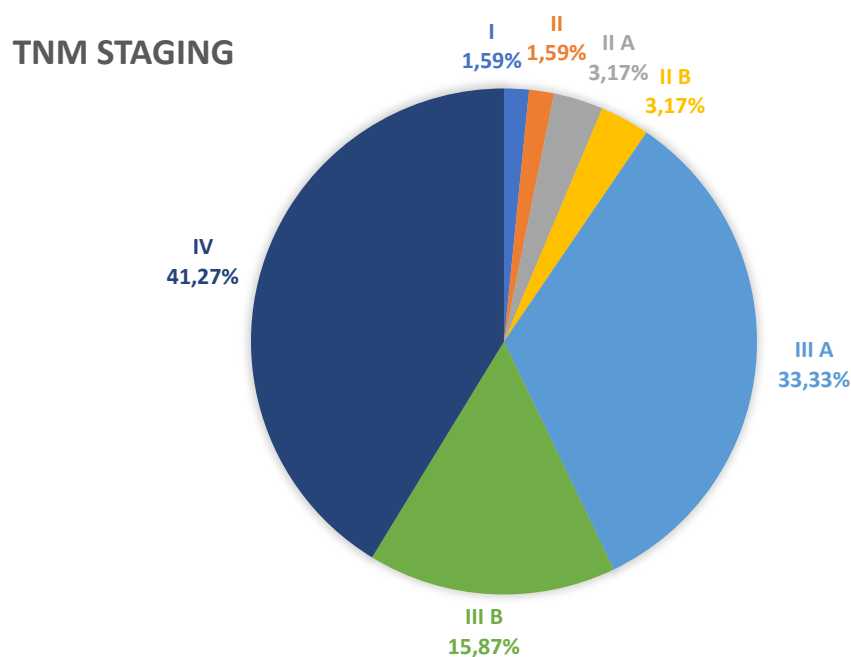


Figura 1. Grafico rappresentante la distribuzione dei pazienti secondo lo stadio di malattia maligna secondo l'ottava (8^a) edizione della classificazione TNM.

Otto pazienti sono stati sottoposti a broncoscopia o EBUS con biopsia prima di approcciarsi alla lesione polmonare con EUS-FNB. L'EUS-FNB è stato l'unico metodo di campionamento (di prima linea) in 20 casi (31.2%) senza precedente o concomitante campionamento trans-bronchiale. La diagnosi istologica è stata di

carcinoma polmonare non a piccole cellule in 41 (67.2%) casi, 21 dei quali avevano adenocarcinoma (34.4%), seguiti da 16 (26.2%) carcinomi squamosi e 4 casi in cui non è stato identificato chiaramente un sottogruppo di appartenenza. Tra le altre istologie, il mesotelioma è stato identificato in 3 pazienti (4.9%), il carcinoma neuroendocrino in 2 pazienti (3.3%) e le metastasi in 4 pazienti (6.6%) (**tabella 2**). In quest'ultimi casi (metastasi), i tumori primitivi sono stati il carcinoma del colon in due casi, il carcinoma mammario in un caso, melanoma in un altro caso ed un carcinoma gastrico nel restante paziente.

Tabella 2. Risultati della valutazione istologica al campionamento bioptico ecoendoscopicamente guidato (FNB).

Istologico su campione	n (%)
Carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC)	4 (6.6)
• Non meglio precisato	16
• Carcinoma squamoso	(26.2)
• Adenocarcinoma	21
	(34.4)
Neoplasia maligna non specificata	1 (1.6)
Metastasi	4 (6.6)
Carcinoma Neuroendocrino	2 (3.3)
Linfoma di Hodgkin	1 (1.6)
Mesotelioma	3 (4.9)
Non adeguato per la diagnosi	7 (11.5)
Negativo per neoplasia (benigno)	2 (3.1)

Solo 5 (8.2%) pazienti sono stati direttamente inviati a chirurgia. Il follow-up medio dell'intera coorte è stato di 86 (± 102.6) giorni. Le masse polmonari erano localizzate principalmente nei lobi superiori, che sono stati il sito delle masse in 27 casi (44.3%) (**figura 2**). La dimensione media delle lesioni era di 54 ± 23.9 mm e la maggior parte dei pazienti aveva una singola lesione (n=54, 88.5%).

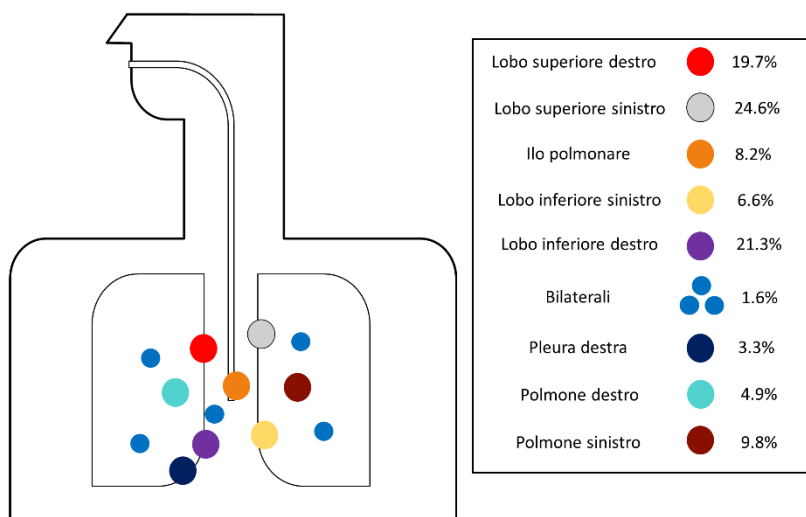


Figura 2. Rappresentazione grafica della localizzazione delle lesioni polmonari sottoposte ad EUS-FNB.

Trentanove broncoscopie/EBUS (60.9%) sono state eseguite contemporaneamente all'EUS-FNB, ma solo 8 (20.5%) includevano l'acquisizione di tessuto (direttamente con pinza da biopsia durante la broncoscopia o tramite EUS transbronchiale [EBUS]). L'approccio trans-bronchiale concomitante ha mostrato infiltrazione dei bronchi in 19 casi (46.3%). 61 procedure (95.3%) sono state eseguite sotto sedazione profonda, principalmente (60.9%) utilizzando una maschera laringea a doppio canale, per facilitare sia la ventilazione polmonare che l'esecuzione dell'esame endoscopico. La dimensione dell'ago più utilizzata è stata da 22 gauge (82.8%) e la punta Franseen è stata la più comunemente usata (70.3% del totale delle FNB) (**tabella 3**). Nella maggior parte dei casi sono stati eseguiti due passaggi (71.2%) dell'ago sulla lesione per ottenere del tessuto.

Tabella 3. Caratteristiche tecniche delle procedure ecoendoscopiche (EUS-FNB).

Procedure (n=64)

Dimensione dell'ago (gauge)		
• 20		10 (15.6)
• 22		53 (82.8)
• 25		1 (1.6)
Tipo di punta dell'ago		
• Franseen		45 (70.3)
• Shark		1 (1.6)
• Reverse bevel		8 (12.5)
• Forward-facing		10 (15.6)
Numero di passaggi dell'ago		
• 1		10 (16.9)
• 2		42 (71.2)
• 3		6 (10.2)
• 4		1 (1.7)
Tipo di sedazione		
• Sedazione profonda		22 (34.4)
• Sedazione profonda con maschera a doppio canale		39 (60.9)
• Intubazione endotracheale		3 (4.7)
EUS-FNB eseguita in prima linea, n (%)		20 (31.2)
Broncoscopia/EBUS eseguite in contemporanea, n (%)		39 (60.9)
Biopsia bronchiale (quando eseguita in concomitanza), n/N (%)		10/39 (25.6)
Eventi avversi (AEs) associate all'ecoendoscopia, n (%)		3 (4.7)
Tipo di AEs	Lievi* Sanguinamento auto-limitantesi	2
	Moderati* <i>Sanguinamento (AGREE[§] IIIa)</i>	1

*Secondo l'ASGE lexicon; [§]Secondo la classificazione AGREE

Obiettivi dello studio

L'adequatezza diagnostica complessiva è stata del 93.75% (IC 95%, 85% - 97.5%) e

l'accuratezza diagnostica è stata dell'89.06% (IC 95%, 79.1% - 94.6%), quindi la

fattibilità è stata raggiunta (**tabella 4**). Né il singolo ecoendoscopista né l'esperienza hanno influenzato significativamente l'adeguatezza e l'accuratezza diagnostica (**figura 2**). Inoltre, la sensibilità diagnostica nella coorte complessiva è stata del 96.43% (IC 95%, 87.9% - 99.0%), mentre la specificità diagnostica è stata del 100% (IC 95%, 43.85% - 100%) dovuta principalmente alla mancanza di risultati falsi positivi tra quelli registrati.

Tabella 4. Outcomes della biopsia transesofagea eseguita per via ecoendoscopica su lesioni polmonari (EUS-FNB). IC= intervallo di confidenza; AEs= eventi avversi

Outcomes	%	IC 95%
Accuratezza diagnostica	89.06	79.1-94.6%
Sensibilità	96.43	87.9-99.0%
Specificità	100.00	43.85-100%
Adeguatezza	93.75	85-97.5%
Valore predittivo positivo	100.00	93.4-100%
Valore predittivo negativo	60.00	23.1-88.2%
Complicanze (AEs)	4.7	1.6-12.9%

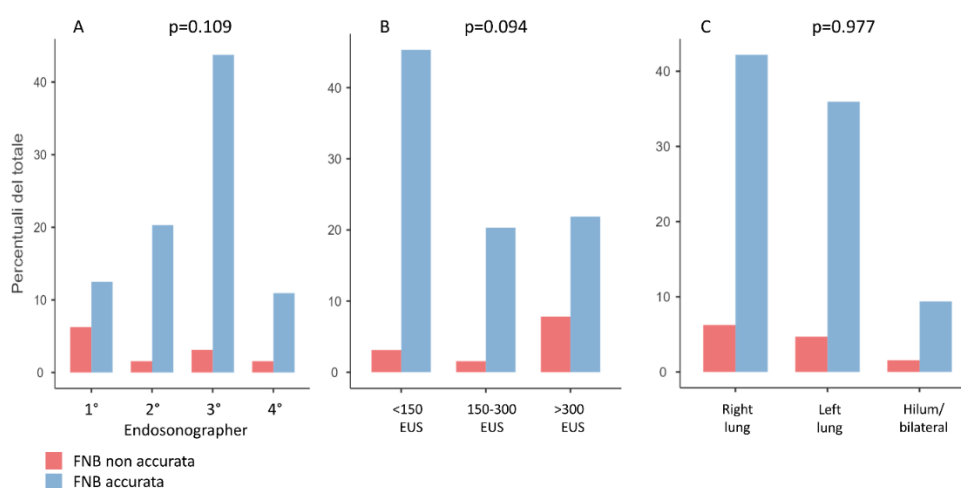


Figura 2. Associazione tra accuratezza diagnostica ed ecoendoscopista (A); esperienza dell'ecoendoscopista (B) e localizzazione della lesione sottoposta ad agobiopsia ecoendoscopica (C).

Considerando il profilo di sicurezza (safety), l'EUS-FNB ha causato AEs in 3 procedure (4.7%). Tutti gli AEs associati all'EUS sono stati sanguinamenti intra-procedurali (n=3). In particolare, due di essi sono stati di grado lieve (*mild*) ed autolimitanti (grado lieve secondo ASGE [American Society for Gastrointestinal Endoscopy] lexicon, grado 1 secondo classificazione AGREE [Adverse Events Gastrointestinal Endoscopy]), mentre l'altro caso è stato di grado moderato (*moderate* secondo classificazione ASGE), grado IIIa (secondo classificazione AGREE), causando un abbondante sanguinamento intra-bronchiale che è stato risolto mediante broncoscopia interventistica associata all'inserimento di un drenaggio toracico per pneumotorace. Non sono state osservate differenze significative quando il tasso di AEs è stato associato con la posizione delle masse polmonari ($p=0.796$), l'esperienza dell'operatore ($p=0.216$) o l'ecoendoscopista stesso ($p=0.749$) (figura 3).

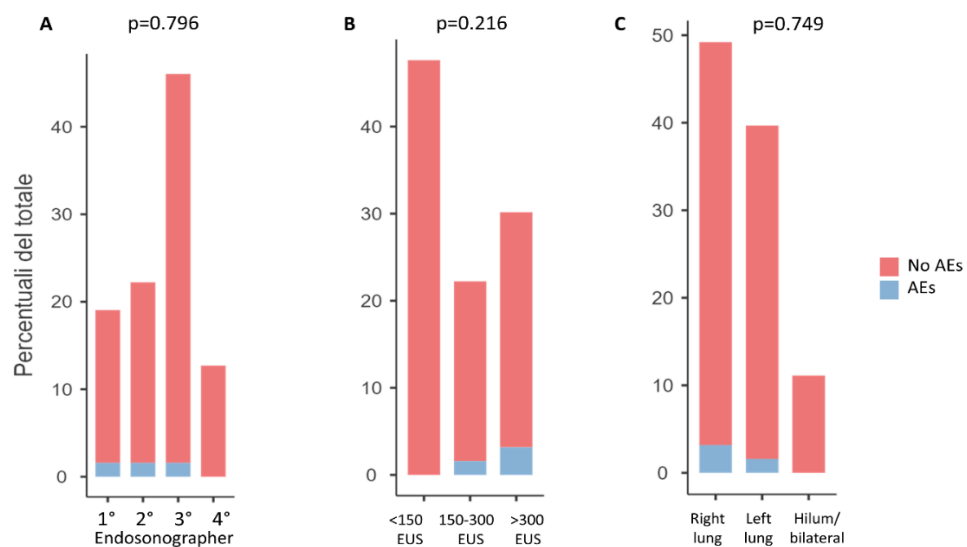


Figura 3. Associazione tra eventi avversi (AEs) ed ecoendoscopista (A); esperienza dell'ecoendoscopista (B) e localizzazione della lesione sottoposta ad agobiopsia ecoendoscopica (C).

Valutazione mutazioni e predittori su tessuto bioptico

Ulteriori analisi dei campioni includevano la ricerca su tessuto di marker di geni per identificare bersagli (driver mutations) potenzialmente utili a somministrare terapie sistemiche. Infatti, il gene BRAF (V-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B) è stato valutato in 13 casi (tutti negativi), il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) è stato ricercato in 18 casi, mostrando positività in tre di essi, mentre l'espressione di PD-L1 (ligando 1 della morte cellulare programmata) è stata valutata in 39 pazienti, risultando positiva in 27 (69.2%) (**tabella 5**). La percentuale di espressione di PD-L1 tra i casi positivi aveva una media di 19,8 (± 24.7) % (**figura 4**).

Tabella 5. Risultati dell'analisi su tessuto dei markers per le driver mutation in pazienti con NSCLC.

PD-L1	
<i>Negative</i>	12 (31%)
<i>Positive</i>	27 (69%)
EGFR	
<i>Positive</i>	3 (17%)
<i>Negative</i>	15 (83%)
BRAF	
<i>Negative</i>	13 (100%)
ROS 1	
<i>Negative</i>	25 (100%)
ALK	
<i>Negative</i>	24 (92%)
<i>Positive</i>	2 (7.7%)

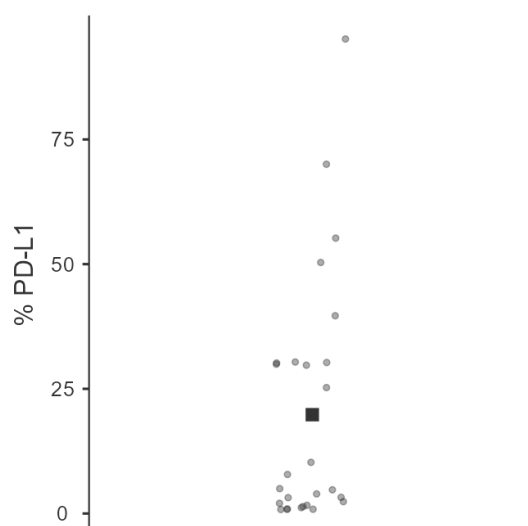


Figura 4. Plot della distribuzione dei casi in base alla percentuale (%) di espressione di PD-L1.

Discussione

L'acquisizione di tessuto (TA) lesionale è fondamentale per gestire correttamente i pazienti con masse polmonari, soprattutto quando sono sospette per essere maligne e necessitano di una stadiazione adeguata e della migliore opzione terapeutica possibile. A seconda della posizione e del grado d'infiltrazione d'organo, le masse polmonari possono essere campionate per via percutanea, chirurgica o tramite tecniche endoscopiche, incluse EUS, broncoscopia o EBUS [19, 20]. Tuttavia, l'EUS-TA è una tecnica ben nota e standardizzata per acquisire tessuto per l'esame istologico in diversi scenari, sia addominali che in lesioni che coinvolgono il mediastino, come i linfonodi o le masse polmonari/mediastiniche. [11, 21]. Queste procedure di solito vengono eseguite nei centri toracici terziari perché dipendono dalla presenza di specialisti dedicati, visto che l'EUS è tradizionalmente eseguita dai gastroenterologi, mentre l'EBUS e la broncoscopia da specialisti toracici (pneumologi o chirurghi toracici). Inoltre, le evidenze in letteratura suggeriscono che combinare EUS-FNA e EBUS-FNA aumenta l'accuratezza ed ha un impatto positivo sulla stadiazione del cancro ai polmoni [22].

Negli studi eseguiti in passato che includevano pazienti con masse polmonari, il ruolo dell'EUS è stato storicamente marginale rispetto agli approcci transbronchiali, l'acquisizione di tessuto utilizzava principalmente tecniche legate all'aspirazione con ago sottile (FNA), e solo pochi casi inizialmente riportavano l'uso della FNB in questo contesto. Nel 2018, Adler et al.[23] ha riportato, per la prima volta, due casi di FNB EUS-guidata di lesioni polmonari intraparenchimali. Molti studi hanno esplorato la fattibilità e la performance diagnostica dell'EUS-FNA nelle masse polmonari nel corso degli anni [24, 25], anche quando inizialmente eseguita solo dopo il fallimento del campionamento tramite broncoscopia/EBUS [26]. Inoltre, l'EUS-FNA e l'EBUS-TBNA hanno mostrato un'elevata accuratezza diagnostica (87% e 91%, rispettivamente, $P=0.76$), con una buona tolleranza all'esame in entrambe le procedure, anche se l'EUS-FNA ha portato a migliori risultati secondari, come, ad esempio, la somministrazione di un più basso dosaggio di anestetici e sedativi, un tempo della procedura più breve, meno desaturazioni di ossigeno e una maggiore soddisfazione dell'operatore [27]. Una meta-analisi sulla biopsia transesofagea EUS-guidata, che ha incluso 640 pazienti, ha mostrato un tasso di adeguatezza complessivo del 95.4% e un'accuratezza diagnostica complessiva del 93.4%. È importante sottolineare che le procedure eseguite negli studi inclusi in questa meta-analisi fossero principalmente EUS-FNA e, inoltre, 4 dei 19 studi avevano pazienti sottoposti anche a EBUS transesofageo (EUS-B-FNA)[28]. Infatti, tutti i dati precedentemente riportati riguardavano l'EUS-FNA, quindi è giusto concludere che la FNB potrebbe avere una performance migliore rispetto alla FNA per l'acquisizione di tessuto dalle masse polmonari. Uno studio retrospettivo multicentrico che ha incluso 47 pazienti ha mostrato un'accuratezza (88.9%) paragonabile ai nostri risultati (89.06%) [29]. Inoltre, i nostri risultati confermano questa tendenza con una coorte più ampia per un singolo centro ($n=61$), mostrando

anche un alto tasso di adeguatezza diagnostica (93.75%). Indubbiamente, un limite dell'esecuzione dell'EUS-TA transesofageo è la posizione delle masse polmonari, infatti nel nostro studio sono state necessariamente incluse solo lesioni adiacenti all'esofago; tuttavia, ci sono evidenze che mostrano la fattibilità di questa tecnica anche quando le masse polmonari sono leggermente distanti dall'esofago. Christiansen et al. hanno identificato 31 mm come la distanza massima consentita tra esofago e tumore per eseguire un'acquisizione di tessuto EUS-guidata, concludendo che tutti i tumori con una distanza inferiore a 19 mm possono essere biopsiati, anche quando valutati utilizzando un endoscopio per EBUS [30]. Tutti questi dati suggeriscono che l'EUS-FNB potrebbe diventare l'approccio di prima linea per l'acquisizione di tessuti delle masse polmonari in futuro, quando la posizione è favorevole ad un approccio transesofageo. Uno studio retrospettivo di un singolo centro ha riportato una diagnosi accurata in tutti i suoi 17 pazienti con tumori polmonari primari centrali, eseguendo l'EUS-FNA come approccio diagnostico di prima linea, con una sola complicanza verificatasi dopo la procedura (polmonite ab ingestis) che ha richiesto il ricovero del paziente [31]. Il nostro studio include un sottogruppo di 20 pazienti (31.2%) in cui l'EUS-FNB è stato l'approccio di prima linea fin dall'inizio. Inoltre, l'EUS-FNA mediastinica viene solitamente eseguita con aghi piccoli, principalmente da 22 e 25 gauge, come riportato in uno studio retrospettivo in cui 55 pazienti sono stati sottoposti a EUS-FNA con un ago da 22 gauge, mostrando il 94.5% di accuratezza e sensibilità [10]. Tuttavia, nel nostro studio abbiamo eseguito il 15.6% delle procedure (n=10) con un ago da 20 G, che ha mostrato un'elevata sicurezza senza eventi avversi associati all'EUS, anche se un paziente sottoposto a broncoscopia concomitante per infiltrazione bronchiale ha avuto un'emorragia autolimitantesi dovuta a biopsia endobronchiale. In generale, queste tecniche sono ben tollerate dai pazienti. Difatti, il nostro studio

ha mostrato un alto livello di sicurezza (4.7%), con una sola procedura che ha causato una complicanza di grado moderato, cioè un'emorragia intra-bronchiale seguita da broncoscopia terapeutica urgente, che è stata gestita efficacemente con un approccio multidisciplinare e un recupero completo [32]. I nostri dati confermano la fattibilità dell'EUS-FNB delle masse polmonari, permettendo agli operatori di acquisire in sicurezza tessuti per analisi più specifiche, come la ricerca di driver mutations su tessuto. Inoltre, diversi studi hanno valutato la fattibilità e l'utilità dell'estrazione del DNA da campioni citologici precedentemente acquisiti, molti dei quali tramite EUS-FNA [18, 33]. L'individuazione delle mutazioni driver, inclusi EGFR, B-RAF e PD-L1, è fondamentale per la somministrazione di terapie specifiche nei tumori polmonari. La lista delle terapie mirate approvate dalle società europee ed extra-europee è in espansione, e studiare il profilo molecolare è diventato cruciale per identificare le mutazioni BRAF V600E, l'inserzione dell'esone 20 di EGFR, le mutazioni KRAS G12C, le alterazioni dell'esone 14 di MET e i riarrangiamenti di NTRK e RET, con un occhio al loro impatto presente e futuro sulla gestione dei pazienti [8]. In realtà, la biopsia con ago tranciante TC-guidata (CT-guided CNB) è risultata superiore alla FNA per i test molecolari nel cancro ai polmoni (67% vs. 46%, rispettivamente; $P = 0.007$) [34]. Tuttavia, l'EUS-FNB potrebbe aiutare i ricercatori a disegnare ulteriori e più ampi studi che coinvolgano l'EUS-TA transesofageo per i test molecolari e la ricerca di mutazioni da utilizzare per terapie specifiche. Un limite del nostro studio è la mancanza di dati a lungo termine durante il follow-up, che ci avrebbero permesso di esplorare come l'identificazione molecolare dei geni avrebbe potuto influenzare gli outcomes dei pazienti. Sfortunatamente, quei pazienti con cancro polmonare avanzato, che costituivano la maggioranza della nostra popolazione, sono stati indirizzati al nostro istituto per l'acquisizione di tessuto da centri oncologici sul territorio che

somministrano terapia sistemica in loco, per cui questi pazienti venivano seguiti nelle loro strutture dopo l'identificazione istologica, quindi il follow-up presso il nostro centro è stato limitato. D'altra parte, uno dei punti di forza di questo studio è la raccolta prospettica dei dati procedurali ed, inoltre, è lo studio più ampio finora, a nostra conoscenza, a valutare l'EUS-FNB per le masse polmonari.

Conclusioni

In conclusione, l'EUS-FNB transesofageo è un metodo diagnostico efficace e sicuro per il campionamento tissutale delle masse polmonari, e permette di acquisire più tessuto rispetto ad altre tecniche ecoendoscopiche. Nell'attuale era della medicina di precisione, potrebbe anche facilitare l'acquisizione di tessuto per il profilo molecolare in maniera più adeguata e precisa rispetto all'EUS-FNA o all'EBUS, in considerazione delle nuove e incoraggianti terapie mirate o immuno-mediate. I nostri risultati sull'EUS-TA confermano l'elevata sensibilità, specificità, accuratezza ed adeguatezza del campione dell'EUS-FNB per le masse polmonari quando raggiungibili tramite un approccio ecoendoscopico transesofageo. Inoltre, altri approcci EUS-guidati più interventistici potrebbero essere sviluppati con l'obiettivo di trattare localmente le masse polmonari nel prossimo futuro, come già dimostrato per la gestione del carcinoma polmonare tramite ablazione con etanolo guidata da EUS [35].

REFERENCES

1. Spira, A. and D.S. Ettinger, *Multidisciplinary management of lung cancer*. N Engl J Med, 2004. **350**(4): p. 379-92.
2. Vansteenkiste, J., D. De Ruyscher, W.E. Eberhardt, E. Lim, S. Senan, E. Felip, S. Peters, and E.G.W. Group, *Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2013. **24 Suppl 6**: p. vi89-98.
3. Detterbeck, F.C., M.A. Jantz, M. Wallace, J. Vansteenkiste, G.A. Silvestri, and P. American College of Chest, *Invasive mediastinal staging of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition)*. Chest, 2007. **132**(3 Suppl): p. 202S-220S.
4. Barlesi, F., J. Mazieres, J.P. Merlio, D. Debieuvre, J. Mosser, H. Lena, L. Ouafik, B. Besse, I. Rouquette, V. Westeel, et al., *Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT)*. Lancet, 2016. **387**(10026): p. 1415-1426.
5. Vilman, P., P.F. Clementsen, S. Colella, M. Siemsen, P. De Leyn, J.M. Dumonceau, F.J. Herth, A. Larghi, E. Vazquez-Sequeiros, C. Hassan, et al., *Combined endobronchial and esophageal endosonography for the diagnosis and staging of lung cancer: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline, in cooperation with the European Respiratory Society (ERS) and the European Society of Thoracic Surgeons (ESTS)*. Endoscopy, 2015. **47**(6): p. c1.
6. Travis, W.D., E. Brambilla, A.P. Burke, A. Marx, and A.G. Nicholson, *Introduction to The 2015 World Health Organization Classification of*

Tumors of the Lung, Pleura, Thymus, and Heart. J Thorac Oncol, 2015. **10**(9): p. 1240-1242.

7. Amin, M.B., F.L. Greene, S.B. Edge, C.C. Compton, J.E. Gershenwald, R.K. Brookland, L. Meyer, D.M. Gress, D.R. Byrd, and D.P. Winchester, *The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging*. CA Cancer J Clin, 2017. **67**(2): p. 93-99.
8. Tan, A.C. and D.S.W. Tan, *Targeted Therapies for Lung Cancer Patients With Oncogenic Driver Molecular Alterations*. J Clin Oncol, 2022. **40**(6): p. 611-625.
9. Garon, E.B., N.A. Rizvi, R. Hui, N. Leighl, A.S. Balmanoukian, J.P. Eder, A. Patnaik, C. Aggarwal, M. Gubens, L. Horn, et al., *Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer*. N Engl J Med, 2015. **372**(21): p. 2018-28.
10. Nasir, B.S., M. Edwards, V. Tiffault, J. Kazakov, M. Khereba, P. Ferraro, and M. Liberman, *Transesophageal pulmonary nodule biopsy using endoscopic ultrasonography*. J Thorac Cardiovasc Surg, 2014. **148**(3): p. 850-5; discussion 855.
11. Zhou, J., T. Cai, D. Wu, X. Chen, and F. Wang, *The role of endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration/biopsy in the diagnosis of mediastinal lesions*. Front Surg, 2022. **9**: p. 1065070.
12. Sawhney, M.S., R.A. Kratzke, F.A. Lederle, A.M. Holmstrom, D.B. Nelson, and R.F. Kelly, *EUS-guided FNA for the diagnosis of advanced lung cancer*. Gastrointest Endosc, 2006. **63**(7): p. 959-65.
13. Kovacevic, B. and P. Vilman, *EUS tissue acquisition: From A to B*. Endosc Ultrasound, 2020. **9**(4): p. 225-231.

14. Cotton, P.B., G.M. Eisen, L. Aabakken, T.H. Baron, M.M. Hutter, B.C. Jacobson, K. Mergener, A. Nemcek, Jr., B.T. Petersen, J.L. Petrini, et al., *A lexicon for endoscopic adverse events: report of an ASGE workshop*. Gastrointest Endosc, 2010. **71**(3): p. 446-54.
15. Nass, K.J., L.W. Zwager, M. van der Vlugt, E. Dekker, P.M.M. Bossuyt, S. Ravindran, S. Thomas-Gibson, and P. Fockens, *Novel classification for adverse events in GI endoscopy: the AGREE classification*. Gastrointest Endosc, 2022. **95**(6): p. 1078-1085 e8.
16. Stigliano, S., V. Balassone, D. Biasutto, F. Covotta, M. Signoretti, and F.M. Di Matteo, *Accuracy of visual on-site evaluation (Vose) In predicting the adequacy of Eus-guided fine needle biopsy: A single center prospective study*. Pancreatology, 2021. **21**(1): p. 312-317.
17. Nakai, Y., H. Isayama, K.J. Chang, N. Yamamoto, T. Hamada, R. Uchino, S. Mizuno, K. Miyabayashi, K. Yamamoto, K. Kawakubo, et al., *Slow pull versus suction in endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic solid masses*. Dig Dis Sci, 2014. **59**(7): p. 1578-85.
18. Wani, S., V.R. Muthusamy, C.M. McGrath, A.R. Sepulveda, A. Das, W. Messersmith, M.L. Kochman, and J. Shah, *AGA White Paper: Optimizing Endoscopic Ultrasound-Guided Tissue Acquisition and Future Directions*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2018. **16**(3): p. 318-327.
19. Chen, C.K., H.T. Chang, Y.C. Chen, S.C. Chiang, H.P. Chou, and T.J. Chen, *Utilization and Safety of Percutaneous Lung Biopsy: A 10-Year Nationwide Population-Based Study*. Int J Environ Res Public Health, 2019. **16**(8).
20. Modi, P. and A. Uppe, *Lung Biopsy Techniques and Clinical Significance*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).

21. Fielding, D., F. Bashirzadeh, P. Nguyen, A. Hodgson, and D. James, *Review of the role of EBUS-TBNA for the pulmonologist, including lung cancer staging*. Thorac Cancer, 2010. **1**(1): p. 44-52.
22. Hasan, M.K., K.R. Gill, M.B. Wallace, and M. Raimondo, *Lung cancer staging by combined endobronchial ultrasound (EBUS) and endoscopic ultrasound (EUS): The gastroenterologist's perspective*. Dig Liver Dis, 2010. **42**(3): p. 157-62.
23. Adler, D.G., M. Gabr, L.J. Taylor, B. Witt, and D. Pleskow, *Initial report of transesophageal EUS-guided intraparenchymal lung mass core biopsy: Findings and outcomes in two cases*. Endosc Ultrasound, 2018. **7**(6): p. 413-417.
24. Varadarajulu, S., B.J. Hoffman, R.H. Hawes, and M.A. Eloubeidi, *EUS-guided FNA of lung masses adjacent to or abutting the esophagus after unrevealing CT-guided biopsy or bronchoscopy*. Gastrointest Endosc, 2004. **60**(2): p. 293-7.
25. Vazquez-Sequeiros, E., M.J. Levy, M. Van Domselaar, F. Gonzalez-Panizo, J.R. Foruny-Olcina, D. Boixeda-Miquel, D. Juzgado-Lucas, and A. Albillos, *Diagnostic yield and safety of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration of central mediastinal lung masses*. Diagn Ther Endosc, 2013. **2013**: p. 150492.
26. Annema, J.T., M. Veselic, and K.F. Rabe, *EUS-guided FNA of centrally located lung tumours following a non-diagnostic bronchoscopy*. Lung Cancer, 2005. **48**(3): p. 357-61; discussion 363-4.
27. Oki, M., H. Saka, M. Ando, R. Tsuboi, M. Nakahata, S. Oka, Y. Kogure, and C. Kitagawa, *Transbronchial vs transesophageal needle aspiration using an*

ultrasound bronchoscope for the diagnosis of mediastinal lesions: a randomized study. Chest, 2015. **147**(5): p. 1259-1266.

28. Giri, S., S. Angadi, S. Afzalpurkar, S.K. Nanjegowda, S. Bhrugumalla, and S. Sundaram, *Transesophageal endoscopic ultrasound-guided tissue acquisition of lung masses: a case series with systematic review and meta-analysis.* Ann Gastroenterol, 2023. **36**(2): p. 185-194.
29. Mangiavillano, B., F. Spatola, A. Facciorusso, G. De Nucci, D. Ligresti, L. Henry Eusebi, A. Lisotti, F. Auriemma, L. Lamonaca, D. Paduano, et al., *Transesophageal endoscopic ultrasound in the diagnosis of the lung masses: a multicenter experience with fine-needle aspiration and fine-needle biopsy needles.* Eur J Gastroenterol Hepatol, 2022. **34**(7): p. 757-762.
30. Christiansen, I.S., M.B.S. Svendsen, U. Bodtger, J.S. Sidhu, R. Nessar, G.N. Salih, A. Hoegholm, and P.F. Clementsen, *Characterization of Lung Tumors that the Pulmonologist can Biopsy from the Esophagus with Endosonography (EUS-B-FNA).* Respiration, 2021. **100**(2): p. 135-144.
31. Hernandez, A., M. Kahaleh, J. Olazagasti, D.R. Jones, T. Daniel, E. Stelow, G.E. White, and V.M. Shami, *EUS-FNA as the initial diagnostic modality in centrally located primary lung cancers.* J Clin Gastroenterol, 2007. **41**(7): p. 657-60.
32. Rizzo, G.E.M., M. Traina, L. Carrozza, D. Ligresti, A. Bertani, G. Tancredi, C. Vitiello, and I. Tarantino, *Successful multidisciplinary urgent management of life-threatening intra-procedural bleeding after endoscopic ultrasound with fine needle biopsy of a pulmonary mass.* VideoGIE, 2023.
33. Mondoni, M., S. Gasparini, F. Varone, R. Trisolini, L. Mancino, G. Rossi, P. Carlucci, M. Bonifazi, F. Mei, L. Zuccatosta, et al., *Accuracy and Predictors of Success of EUS-B-FNA in the Diagnosis of Pulmonary Malignant Lesions:*

A Prospective Multicenter Italian Study. Respiration, 2022. **101**(8): p. 775-783.

34. Schneider, F., M.A. Smith, M.C. Lane, L. Pantanowitz, S. Dacic, and N.P. Ohori, *Adequacy of core needle biopsy specimens and fine-needle aspirates for molecular testing of lung adenocarcinomas*. Am J Clin Pathol, 2015. **143**(2): p. 193-200; quiz 306.
35. Li, Q., W. Wu, and D. Hu, *EUS-guided ethanol ablation for management of lung carcinoma (with video)*. Gastrointest Endosc, 2023. **97**(6): p. 1158-1159.

Scientific products of the candidate during PhD program

Bibliometric indicators (Scopus):

Citations: 423

Publications: 43

H-index: 10

(Updated on October 31st, 2024)

Publications

1. Cabibbo G, Rizzo GEM, Stornello C, Craxì A. SARS-CoV-2 infection in patients with a normal or abnormal liver. *Journal of Viral Hepatitis*. 2021 Jan;28(1):4–11.
2. Celsa C, Cabibbo G, Enea M, Battaglia S, Rizzo GEM, Busacca A, et al. Progression-free survival is a robust surrogate endpoint of overall survival in immunotherapy trials of hepatocellular carcinoma. *Digestive and Liver Disease*. 2021 Mar;53:S35.
3. Celsa C, Cabibbo G, Enea M, Battaglia S, Rizzo GEM, Busacca A, et al. Are radiological endpoints surrogate outcomes of overall survival in hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization? *Liver International*. 2021 May;41(5):1105–16.
4. Celsa C, Giuffrida P, Stornello C, Grova M, Spatola F, Rizzo GEM, et al. Systemic therapies for hepatocellular carcinoma: the present and the future. *Recenti Prog Med*. 2021 Feb;112(2):110–6.

5. D'Amico G, Perricone G, Morabito A, Latteri F, Filì D, Affronti A, et al. Model for end stage liver disease for prediction of mortality in people with cirrhosis. Cochrane Hepato-Biliary Group, editor. Cochrane Database of Systematic Reviews [Internet]. 2021 Jan 17 [cited 2023 Aug 7]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD013849>
6. Granata A, Martucci G, Rizzo GEM, Ligresti D, Stornello C, Panarello G, et al. Endoscopy at Bedside in Isolated Patients with Severe COVID-19: Our Approach during the Pandemic. *Applied Sciences*. 2021 Oct 18;11(20):9704.
7. Rizzo GEM, Rizzo G, Di Carlo G, Corbo G, Ferro G, Sciumè C. Mirizzi syndrome type V complicated with both cholecystobiliary and cholecystocolic fistula: a case report. *J Surg Case Rep*. 2021 Jun;2021(6):rjab239.
8. Tarantino I, Rizzo GEM. Biliopancreatic Endoscopy in Altered Anatomy. *Medicina*. 2021 Sep 25;57(10):1014.
9. Cabibbo G, Reig M, Celsa C, Torres F, Battaglia S, Enea M, et al. First-Line Immune Checkpoint Inhibitor-Based Sequential Therapies for Advanced Hepatocellular Carcinoma: Rationale for Future Trials. *Liver Cancer*. 2022;11(1):75–84.
10. Granata A, Martucci G, Rizzo GEM, Arcadipane A, Traina M. Combined endoscopical treatments for tracheo-esophageal fistula developed during V-V ECMO for severe COVID-19: A case series. *Artificial Organs*. 2022 Mar;46(3):506–8.
11. Granata A, Martucci G, Rizzo GEM, Ligresti D, Arcadipane A, Traina M. Endoscopic percutaneous drainage in a COVID-19 patient with iatrogenic gastric perforation. *Endoscopy*. 2022 Dec;54(12):E686–8.

12. Rizzo GEM, Cabibbo G, Craxì A. Hepatitis B Virus-Associated Hepatocellular Carcinoma. *Viruses*. 2022 May 7;14(5):986.
13. Rizzo GEM, Ferro G, Rizzo G, Carlo GD, Cantone A, Vita GGD, et al. Endoscopic Treatment of Iatrogenic Perforation of Sigmoid Diverticulum: A Case Report of Multidisciplinary Management. *Clin Endosc*. 2022 Mar 31;55(2):292–6.
14. Rizzo GEM, Maruzzelli L, Liotta R, Miraglia R, Gruttadauria S, Traina M, et al. A surprising case of a biliary tumor-like lesion. *Endoscopy*. 2022 Dec;54(12):E717–8.
15. Sapena V, Enea M, Torres F, Celsa C, Rios J, Rizzo GEM, et al. Hepatocellular carcinoma recurrence after direct-acting antiviral therapy: an individual patient data meta-analysis. *Gut*. 2022 Mar;71(3):593–604.
16. Tarantino I, Rizzo GEM, Ligresti D, Jukna A, Maruzzelli L, Gruttadauria S, et al. Hemosuccus pancreaticus: an in-motion endoscopic ultrasound view. *Endoscopy*. 2022 Dec;54(S 02):E1038–40.
17. Celsa C, Cabibbo G, Pinato DJ, Di Maria G, Enea M, Vaccaro M, et al. Balancing Efficacy and Tolerability of First-Line Systemic Therapies for Advanced Hepatocellular Carcinoma: A Network Meta-Analysis. *Liver Cancer*. 2023 Jul 25;1–12.
18. Granata A, Rizzo GEM, Nicosia G, Licari L, Callari C, Traina M. Fix it and feel free to work: endoscopy beside the stent. *Endoscopy*. 2023 Dec;55(S 01):E16–7.
19. Ligresti D, Quintini D, Tarantino I, Bertani A, Jukna A, Rizzo GEM, et al. Contrast-enhanced endoscopic ultrasound and fine-needle biopsy of a rare mediastinal mass: a mediastinal schwannoma. *Endoscopy*. 2023 Dec;55(S 01):E1071–2.

20. Rizzo GEM, Carrozza L, Quintini D, Ligresti D, Traina M, Tarantino I. A Systematic Review of Endoscopic Treatments for Concomitant Malignant Biliary Obstruction and Malignant Gastric Outlet Obstruction and the Outstanding Role of Endoscopic Ultrasound-Guided Therapies. *Cancers*. 2023 Apr 30;15(9):2585.
21. Rizzo GEM, Carrozza L, Rancatore G, Binda C, Fabbri C, Anderloni A, et al. The Role of Endoscopy in the Palliation of Pancreatico-Biliary Cancers: Biliary Drainage, Management of Gastrointestinal Obstruction, and Role in Relief of Oncologic Pain. *Cancers (Basel)*. 2023 Nov 10;15(22):5367.
22. Rizzo GEM, Carrozza L, Tammaro S, Ligresti D, Traina M, Tarantino I. Complete intraperitoneal maldeployment of a lumen-apposing metal stent during EUS-guided gastroenteroanastomosis for malignant gastric outlet obstruction: rescue retrieval with peritoneoscopy through natural orifice transluminal endoscopic surgery. *VideoGIE*. 2023 Aug;8(8):310–2.
23. Rizzo GEM, Carrozza L, Tammaro S, Ligresti D, Tarantino I, Traina M. Endoscopic treatment of a post-surgical dehiscence of an esophageal-ileal-colonic reconstruction: when endoscopy reaches its limit. *Endoscopy*. 2023 Dec;55(S 01):E773–4.
24. Rizzo GEM, Ligresti D, Carrozza L, Tammaro S, Traina M, Tarantino I. Hemostatic matrix for treating intracollection bleeding after endoscopic ultrasound-guided drainage and endoscopic necrosectomy of walled-off pancreatic necrosis in a patient with cirrhosis. *Endoscopy*. 2023 Dec;55(S 01):E767–8.
25. Rizzo GEM, Ligresti D, Tarantino I, Barbaccia M, Traina M. A rare case of pedunculated ampulloma: EUS view and resection. *VideoGIE*. 2023 Sep;8(9):367–9.

26. Rizzo GEM, Tarantino I. Trans-cavity lumen-apposing metal stent removal: an alternative safe modality. *Clin Endosc.* 2023 Jan 30;56(1):129–31.
27. Rizzo GEM, Traina M, Carrozza L, Ligresti D, Bertani A, Tancredi G, et al. Successful multidisciplinary urgent management of life-threatening intraprocedural bleeding after EUS-guided fine-needle biopsy of a pulmonary mass. *VideoGIE.* 2023 Dec;8(12):479–82.
28. Tarantino I, Carrozza L, Rizzo GEM, Tammaro S, Maruzzelli L, Ligresti D, et al. Radiologic and endoscopic treatment for a disconnected pancreatic duct syndrome associated with percutaneous pancreatic fistula: achieving the ‘internalization of the fistula’. *Endoscopy.* 2023 Dec;55(S 01):E777–8.
29. Capurso G, Coluccio C, Rizzo GEM, Crinò SF, Cucchetti A, Facciorusso A, et al. The 1st i-EUS consensus on the management of pancreatic fluid collections – Part 2. *Digestive and Liver Disease.* 2024 Jul;S1590865824008144.
30. Capurso G, Rizzo GEM, Coluccio C, Crinò SF, Cucchetti A, Facciorusso A, et al. The i-EUS consensus on the management of pancreatic fluid collections – Part 1. *Digestive and Liver Disease.* 2024 Jul;S1590865824008405.
31. Celsa C, Rizzo GEM, Di Maria G, Enea M, Vaccaro M, Rancatore G, et al. What is the benefit of prophylaxis to prevent HBV reactivation in HBsAg - negative anti- HbC -positive patients? Meta-analysis and decision curve analysis. *Liver International.* 2024 Aug 29;liv.16064.
32. De Ponthaud C, Bozkirli B, Rizzo GEM, Robinson S, Vilas-Boas F, Capurso G, et al. Management of malignant Gastric Outlet Obstruction (mGOO) due to pancreatic cancer in the era of EUS-Gastrojejunostomy: an international practice survey and case vignette study by Pancreas 2000 from the European Pancreatic Club. *Surg Endosc.* 2024 Apr 22;

33. Rizzo GEM, Mandalà L, Carrozza L, Saffioti MC, Traina M, Mezzatesta P, et al. A novel approach for managing post-surgical colonic leak: proximal stent fixation with a novel suturing system. VideoGIE. 2024 Oct;S2468448124001851.
34. Marzioni M, Crinò SF, Lisotti A, Fuccio L, Vanella G, Amato A, et al. Biliary drainage in patients with malignant distal biliary obstruction: results of an Italian consensus conference. Surg Endosc [Internet]. 2024 Sep 25 [cited 2024 Sep 26]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00464-024-11245-4>
35. Quintini D, Rizzo GEM, Tarantino I, Sarzo G, Fantin A, Miraglia R, et al. Endoscopic or combined management of post-surgical biliary leaks: a two-center recent experience. Surg Endosc [Internet]. 2024 Oct 9 [cited 2024 Oct 12]; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00464-024-11243-6>
36. Rancatore G, Ligresti D, Rizzo GEM, Carrozza L, Traina M, Tarantino I. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Biopsy of Focal Liver Lesions: An Effective Mini-Invasive Alternative to the Percutaneous Approach. Diagnostics (Basel). 2024;
37. Rizzo GEM, Tarantino I. Commentary. Endoscopy. 2024 May;56(5):389.
38. Rizzo GEM, Carrozza L, Gruttadauria S, Bertani A, Miraglia R, Tarantino I, et al. A swirl ERCP during combined endoscopic-radiological-surgical management of a late-onset post-traumatic obstructive jaundice. Endoscopy. 2024 Dec;56(S 01):E430–1.
39. Rizzo GEM, Caruso S, Tarantino I. Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (ERCP) for Suspected Mirizzi Syndrome Type IV

as Both a Diagnostic and Bridge-to-Surgery Procedure. *Diagnostics*. 2024 Apr 22;14(8):855.

40. Rizzo GEM, Tarantino I, Carrozza L, Ligresti D, Rancatore G, Giacchetto M, et al. The sword in the wall: managing biliary stents embedded in the duodenal wall following ERCP for biliary strictures after liver transplantation in an adult and a pediatric patient. *Endoscopy*. 2024 Dec;56(S 01):E486–8.
41. Rizzo GEM, Traina M, Ligresti D, Carrozza L, Rancatore G, Ranucci G, et al. Endoscopic ultrasound-guided mediastinal mass biopsy in an undiagnosed pediatric liver transplant recipient. *Endoscopy*. 2024 Dec;56(S 01):E528–9.
42. Rizzo GEM, Traina M, Tarantino I. The impact of a graphic novel on anxiety and stress in patients undergoing endoscopic ultrasound with fine needle biopsy for pancreatic lesions: a pilot study protocol. *Front Gastroenterol*. 2024 Apr 2;3:1359002.
43. Vilas-Boas F, Rizzo GEM, De Ponthaud C, Robinson S, Gaujoux S, Capurso G, et al. Unveiling hidden outcomes in malignant gastric outlet obstruction research – insights from a ‘Pancreas 2000’ review. *World J Gastrointest Endosc*. 2024 Aug 16;16(8):451–61.