



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE**

**“AMEDEO AVOGADRO”**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO**

**Corso di Laurea Magistrale in Farmacia**

**TESI DI LAUREA**

***Nuove frontiere di immunoterapia nel carcinoma coloretale:  
focus sui pazienti con instabilità dei microsatelliti.***

**Relatore**

**Prof. Fabrizio Condorelli**

**Candidato**

**Arianna Ertani**

**N° matricola: 20025485**

**ANNO ACCADEMICO 2024-25**

**Sessione straordinaria A.A. 2024/2025**

## INDICE

1. INTRODUZIONE .....	3
1.1 Epidemiologia e fattori di rischio del carcinoma del colon-retto .....	3
1.2 Screening primario e diagnosi .....	5
1.3 Espressione clinica del CRC.....	6
1.4 Trattamenti convenzionali .....	6
2. SCOPO DELL'ELABORATO .....	9
3. IMMUNOTERAPIE.....	10
3.1 L'immunoterapia oncologica: principi, sviluppo storico e applicazioni cliniche....	10
3.2 Patogenesi tumorale, interazione con il sistema immunitario e razionale biologico dell'immunoterapia nel carcinoma del colon-retto.....	12
3.3 Farmaci immunoterapici nel CRC dMMR/MSI-H.....	15
3.4 Pembrolizumab .....	16
3.4.1 Focus sul trattamento del CRC metastatico .....	22
3.5 Nivolumab .....	27
3.5.1 CheckMate 8HW.....	29
3.6 Dostarlimab.....	33
3.6.1 Dostarlimab e CRC .....	34
3.6.1.1 AZUR-1.....	34
3.6.1.2 AZUR-2.....	35
4. CONCLUSIONI.....	37
4.1 Sintesi dei risultati con pembrolizumab .....	37
4.2 Sintesi dei risultati con nivolumab .....	38
4.3 Sintesi dei risultati con dostarlimab.....	40
4.4 Confronto complessivo tra i farmaci .....	40
4.5 Criticità riscontrate .....	40
4.6 Prospettive future.....	40

## 1. INTRODUZIONE

### *1.1 Epidemiologia e fattori di rischio del carcinoma del colon-retto*

Il carcinoma del colon-retto (CRC) rappresenta una delle principali cause di morte per cancro a livello mondiale. È il terzo tumore più diagnosticato negli uomini e il secondo nelle donne, con circa 1,9 milioni di nuovi casi stimati nel 2020. [1-2-5] Nei Paesi ad alto indice di sviluppo umano (HDI) si registra un'alta incidenza di questo tumore, legata soprattutto a stili di vita occidentali e invecchiamento della popolazione; di contro, però, grazie alla diffusione dei programmi di screening, si osserva una graduale riduzione della mortalità. Tuttavia, un dato allarmante emerge negli ultimi anni: l'aumento dell'incidenza del CRC a esordio precoce, cioè in soggetti sotto i 50 anni, la cui causa appare multifattoriale. [3-4-8]

Tra i principali fattori di rischio non modificabili, l'età rimane determinante: la maggior parte dei casi viene diagnosticata oltre i 60 anni. [2] Altro elemento rilevante nell'aumentare il rischio di malattia è la storia familiare di CRC o di polipi adenomatosi mentre, nelle forme ereditarie quali, la sindrome di Lynch (mutazioni nei geni del mismatch repair, MMR) e la poliposi adenomatosa familiare (APC mutato), il rischio può arrivare fino all'80%. È bene però sottolineare che, proprio per la loro natura "genetica", queste sindromi, seppur responsabili solo del 5–10% dei casi totali, consentono, l'impiego di strategie di prevenzione mirate. [1-5-7]

Tra i fattori di rischio modificabili, invece, è l'alimentazione a rivestire un ruolo centrale. Una dieta ricca di carne rossa, carne lavorata e povera di fibre vegetali è correlata ad un aumento del rischio, mentre un consumo regolare di frutta, verdura e cereali integrali sembra avere un effetto protettivo. Anche l'obesità, in particolare l'accumulo di grasso viscerale, è un noto promotore tumorale, associato a meccanismi sia pro-infiammatori che legati all'insulino-resistenza. La sedentarietà rappresenta un ulteriore fattore di rischio: l'attività fisica regolare riduce infatti il rischio di sviluppare CRC fino al 20–30%. Altri fattori ambientali e comportamentali, come il consumo eccessivo di alcol e il fumo di sigaretta, contribuiscono ad aumentare l'incidenza del tumore. [1-5-7]

Recenti studi hanno inoltre approfondito il ruolo del microbiota intestinale, dimostrando come la presenza di alcune specie batteriche (ad esempio *Fusobacterium nucleatum*) sia associata a una maggiore infiammazione ed a un microambiente favorevole alla carcinogenesi. A tal

riguardo è stata postulata anche la possibilità che l'alimentazione, modificando il microbiota intestinale, possa attivare vie molecolari pro-tumorali. [6]

Dal punto di vista molecolare, si riconoscono tre principali meccanismi di trasformazione neoplastica, correlati a:

- Instabilità cromosomica (CIN), caratterizzata da mutazioni in geni oncosoppressori come APC, TP53 e oncogeni come KRAS; [5]
- Instabilità del DNA microsatellitare (MSI), legata a deficit nei geni del mismatch repair, tipica della sindrome di Lynch e di alcuni tumori sporadici; [5]
- Alterazioni epigenetiche, come nel caso del fenotipo CpG island methylator (CIMP), in cui l'ipermetilazione dei promotori genici porta al silenziamento di geni oncosoppressori. [9]

L'epidemiologia del CRC riflette quindi l'interazione complessa tra predisposizione genetica e fattori ambientali.

In sintesi, il carcinoma del colon-retto è una malattia multifattoriale: l'età, la genetica e le sindromi ereditarie restano fattori determinanti, ma la dieta, l'attività fisica, il microbiota e gli stili di vita hanno un ruolo cruciale e rappresentano le leve principali per la prevenzione primaria. Riguardo a ciò, si evidenzia come nei Paesi Occidentali, l'attuazione di *screening* diffusi come la colonscopia, la sigmoidoscopia e i test immunochimici fecali (FIT), consenta di diagnosticare molti tumori in fase precoce, riducendone la mortalità; al contrario, nei Paesi in via di sviluppo, la mancanza di programmi di screening porta a diagnosi più tardive e prognosi peggiori. [2-4-5-11] È da sottolineare, inoltre la crescente incidenza della malattia nei giovani adulti, un tema di grande attualità e oggetto di intensi studi epidemiologici per comprendere meglio le cause e definire nuove strategie preventive. [3-8]

Nel complesso, la diagnosi, la stadiazione accurata e i trattamenti convenzionali rivestono ruoli fondamentali nel miglioramento della prognosi del CRC, come descritto in diverse linee guida cliniche (NCI) e confermato in molte *review* presenti in letteratura. [9-10]

## 1.2 Screening primario e diagnosi

Lo *screening* del tumore del colon-retto è uno strumento di sanità pubblica fondamentale, perché permette di identificare la malattia in fase precoce, quando le possibilità di guarigione sono molto più alte, o addirittura di prevenirla individuando e rimuovendo polipi adenomatosi prima che diventino maligni. [5-11] Abitualmente, vengono utilizzati test non invasivi come il test immunochimico fecale (FIT) per la ricerca del sangue occulto nelle feci, seguiti da colonscopia in caso di positività. [2] Nella regione Lombardia (come in molte regioni italiane), esiste un programma gratuito di *screening* rivolto alla popolazione tra i 50 e i 74 anni, che rappresenta la fascia di età più a rischio. Il percorso prevede, a cadenza biennale, l'invito ad eseguire il test FIT, un esame semplice, non invasivo, che può essere fatto a casa. Se il test risulta positivo, la persona viene contattata e inserita in un percorso gratuito per eseguire una colonscopia di approfondimento, che permette di diagnosticare eventuali tumori o rimuovere polipi prima che possano trasformarsi in cancro. Il progetto, organizzato dal sistema sanitario regionale lombardo, garantisce un percorso di follow-up strutturato e gratuito, dimostrando negli anni di aumentare il numero di diagnosi precoci e ridurre l'incidenza di forme avanzate, contribuendo in modo concreto alla tutela della salute pubblica. Nel dettaglio giova citare qualche dato numerico: tra il 2020-2021, ha aderito il 41% dei 1,75 milioni di soggetti invitati allo screening, dei quali il 4,5% è risultato positivo. Ciò ha portato alla diagnosi precoce di 605 carcinomi, oltre 3.200 adenomi avanzati e circa 6.800 iniziali. Grazie alla diagnosi precoce, la sopravvivenza negli aderenti ha raggiunto il 90%, riducendo la mortalità del 25%. Tuttavia, nell'ambito dei programmi di *screening* persistono delle criticità quali: la bassa adesione, i ritardi tra test e colonscopia di conferma, nonché le disuguaglianze territoriali e sociali che limitano l'impatto del programma. [12]

La diagnosi del CRC parte da una valutazione clinica dei sintomi, anche se spesso i pazienti restano asintomatici nelle fasi iniziali. Segnali di allarme includono presenza di sangue occulto o macroscopico nelle feci, cambiamenti dell'alvo, anemia sideropenica e dolore addominale. [9-10] La colonscopia rimane l'esame di riferimento, poiché consente una visualizzazione diretta e la possibilità di prelevare biopsie per la conferma istologica del carcinoma. [11] D'altro canto, le metodiche di *imaging* giocano un ruolo essenziale nella stadiazione della malattia ai fini prognostici e terapeutici: nel carcinoma del colon si esegue generalmente TAC del torace, addome e pelvi per valutare eventuali metastasi, mentre nei tumori del retto la risonanza magnetica pelvica è lo strumento chiave per definire la profondità dell'infiltrazione e il

coinvolgimento dei linfonodi. L'inquadramento pre-trattamento di completa con la classificazione TNM, che distingue le forme localizzate, localmente avanzate o metastatiche, e con l'analisi molecolare (mutazioni KRAS, NRAS, BRAF, stato MSI) per orientare eventuali terapie. [9-10-11]

### ***1.3 Espressione clinica del CRC***

Dal punto di vista clinico, la presentazione del CRC varia in base alla sede del tumore: i tumori del colon destro tendono a manifestarsi con anemia e stanchezza, mentre quelli del colon sinistro o del retto più frequentemente causano alterazioni dell'alvo e sanguinamento visibile. Nei casi più avanzati possono comparire sintomi da occlusione o perforazione, oppure segni legati alla diffusione metastatica (es. epatica o polmonare). [2-5-10]

### ***1.4 Trattamenti convenzionali***

Il CRC richiede un approccio terapeutico multimodale, costruito in base a stadio, sede, caratteristiche del tumore e condizioni cliniche del paziente. La gestione del paziente è affidata a gruppi multidisciplinari composti da chirurghi, oncologi, gastroenterologi, radioterapisti, radiologi e anatomopatologi. Questo approccio permette di costruire un percorso terapeutico personalizzato, adattato allo stadio della malattia, alle caratteristiche biologiche del tumore, all'età e alle condizioni generali del paziente. [11-13-14]

Le terapie convenzionali comprendono principalmente chirurgia, chemioterapia e, per i tumori del retto, anche la radioterapia. Generalmente, nei tumori localizzati (stadio I e parte degli stadi II) la chirurgia rappresenta il trattamento principale, realizzato sempre più spesso con tecniche mini-invasive (laparoscopia o robotica) che garantiscono resezioni oncologiche radicali con ridotta morbilità. [11-13-14]

Per i pazienti in stadio II ad alto rischio (per esempio con caratteristiche istopatologiche sfavorevoli) e in stadio III (coinvolgimento linfonodale), la chirurgia è seguita da chemioterapia adiuvante, con l'obiettivo di ridurre il rischio di recidiva. [10-11-13-14]

Nei tumori del retto localmente avanzati, la combinazione di radioterapia e chemioterapia neoadiuvante prima della chirurgia è lo standard, in quanto consente di ridurre il volume

tumorale e aumentare la probabilità di resezione completa, oltre a diminuire il rischio di recidiva locale. Gli schemi più utilizzati sono:

- FOLFOX (5-fluorouracile + leucovorina + oxaliplatino)
- CAPOX/XELOX (capecitabina orale + oxaliplatino)

In alternativa, nei pazienti fragili o anziani, si può utilizzare la monochimioterapia con 5-FU/leucovorina o capecitabina. La durata standard è generalmente 6 mesi, anche se in casi selezionati può essere ridotta. [9-10-13-14-15]

Per la malattia metastatica il trattamento è più complesso e prevede una valutazione multidisciplinare. Nella malattia metastatica non resecabile la chemioterapia sistemica convenzionale ha lo scopo di: ridurre la massa tumorale; controllare i sintomi; prolungare la sopravvivenza. [10-11-13-14]

I regimi impiegati sono più intensivi, i più utilizzati risultano essere:

- FOLFOX (oxaliplatino + 5-FU)
- FOLFIRI (irinotecano + 5-FU)
- FOLFOXIRI (oxaliplatino + irinotecano + 5-FU)

Inoltre, se i pazienti risultano essere privi di mutazioni dei geni RAS e BRAF, è possibile utilizzare combinazioni con anticorpi monoclonali diretti contro EGFR (cetuximab, panitumumab). [9-10-13-14-15]

Nei pazienti con metastasi epatiche o polmonari potenzialmente resecabili, la chemioterapia viene somministrata in fase neoadiuvante, per ridurre le dimensioni delle lesioni e consentire un intervento chirurgico radicale.

In casi selezionati, dopo la risposta alla chemioterapia, è possibile eseguire una metastasectomia, aumentando le possibilità di sopravvivenza a lungo termine. [10-13-14]

Un capitolo a parte riguarda l'immunoterapia, che ha rivoluzionato il trattamento dei pazienti con tumori dMMR o MSI-H, nei quali l'uso di pembrolizumab come prima linea si è dimostrato superiore rispetto alla chemioterapia tradizionale, come evidenziato dallo studio KEYNOTE-177. [16]

Infine, il *follow-up* post-trattamento comprende controlli clinici, il dosaggio del CEA (*Carcinoembrionic antigen*), l'*imaging* periodico e le colonscopie per monitorare la recidiva.

Dopo la chirurgia, in base all'esame istologico, può essere indicata anche una chemioterapia adiuvante. [11-13-14]

In sintesi, le terapie convenzionali – chirurgia, chemioterapia e radioterapia – rappresentano ancora oggi la base del trattamento del carcinoma del colon-retto, con risultati significativi in termini di controllo della malattia e sopravvivenza, soprattutto se la diagnosi è precoce.

## 2. SCOPO DELL'ELABORATO

Lo scopo della presente tesi è analizzare le nuove frontiere dell'immunoterapia nel trattamento del carcinoma del colon-retto, con particolare attenzione ai pazienti caratterizzati da instabilità dei microsatelliti (MSI) o deficit del sistema di *mismatch repair* (dMMR).

Il lavoro intende approfondire i meccanismi biologici e molecolari alla base dell'elevata immunogenicità di questi tumori, che li rende particolarmente sensibili alle terapie immunologiche, e descrivere come la scoperta di tali caratteristiche abbia determinato un cambiamento significativo negli approcci terapeutici rispetto alla chemioterapia convenzionale.

Verranno inoltre analizzate le principali evidenze cliniche derivanti da studi clinici recenti che hanno portato all'introduzione degli inibitori dei *checkpoint* immunitari nella pratica clinica, valutandone efficacia, sicurezza e impatto sulla prognosi.

### 3. IMMUNOTERAPIE

#### *3.1 L'immunoterapia oncologica: principi, sviluppo storico e applicazioni cliniche*

L'immunoterapia rappresenta una delle più importanti innovazioni terapeutiche in ambito oncologico degli ultimi decenni, introducendo un cambio di paradigma rispetto agli approcci tradizionali basati sulla distruzione diretta delle cellule tumorali. A differenza della chemioterapia e della radioterapia, che agiscono principalmente colpendo la cellula neoplastica attraverso meccanismi citotossici o citostatici, l'immunoterapia si fonda sul potenziamento o sul ripristino della capacità del sistema immunitario dell'ospite di riconoscere ed eliminare il tumore. Questo approccio si basa sull'idea che il sistema immunitario, se adeguatamente stimolato o liberato dai meccanismi di inibizione, sia in grado di esercitare un controllo efficace e duraturo sulla crescita neoplastica. [9,10]

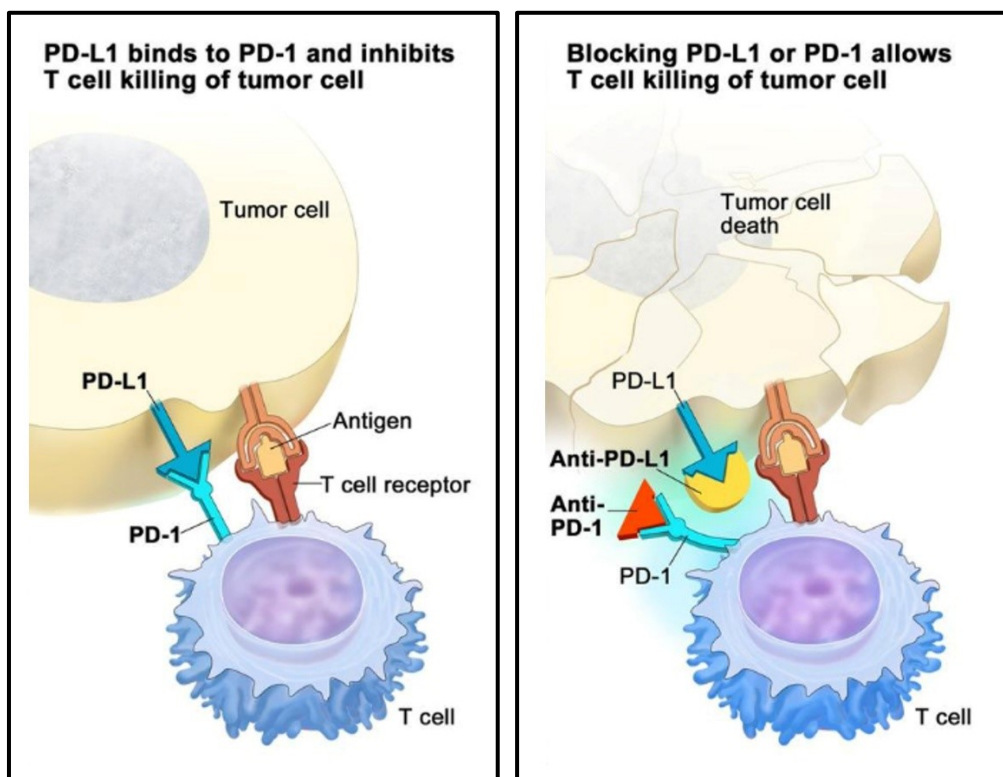
Le basi teoriche dell'immunoterapia oncologica affondano le radici all'inizio del XX secolo, quando venne ipotizzato per la prima volta il concetto di immunosorveglianza tumorale, secondo cui il sistema immunitario sarebbe in grado di riconoscere e distruggere cellule trasformate prima che esse possano dare origine a un tumore clinicamente manifesto. [8]

Sebbene tali ipotesi rimanessero per lungo tempo prive di solide conferme sperimentali, nel corso degli anni si è accumulata una crescente mole di evidenze che ha dimostrato il ruolo cruciale del sistema immunitario nella prevenzione e nel controllo delle neoplasie.

Parallelamente, si è compreso che la progressione tumorale è spesso il risultato di un fallimento dei meccanismi immunitari, dovuto alla capacità delle cellule neoplastiche di sviluppare strategie di evasione dalla risposta immune.

I primi tentativi di immunoterapia in oncologia risalgono agli anni '90 e si basavano principalmente sull'utilizzo di citochine immunostimolanti, come l'interleuchina-2 (IL-2) e l'interferone- $\alpha$ , con l'obiettivo di amplificare in modo aspecifico la risposta immune antitumorale. Sebbene tali approcci abbiano mostrato una certa efficacia in specifici contesti tumorali, il loro utilizzo era limitato da una tossicità elevata e da risultati clinici spesso modesti. Un avanzamento decisivo si è avuto con la comprensione dei meccanismi molecolari che regolano l'attivazione e l'inibizione della risposta immunitaria, in particolare il ruolo dei cosiddetti *checkpoint* immunitari (CI). [9,10]

I CI sono governati da molecole regolatorie espresse principalmente sui linfociti T e coinvolte nel mantenimento della tolleranza immunologica e nella prevenzione di risposte autoimmuni eccessive. Tra questi, l'asse PD-1/PD-L1 e il recettore CTLA-4 rappresentano i principali bersagli terapeutici attualmente sfruttati in oncologia. In condizioni fisiologiche, ad esempio, il recettore PD-1 (*Programmed Cell Death-1*) è espresso sui linfociti T attivati e, in seguito al legame con i suoi ligandi PD-L1 o PD-L2, trasmette un segnale inibitorio che riduce la proliferazione linfocitaria, la produzione di citochine e la funzione citotossica. Tuttavia, le cellule tumorali possono sfruttare questo asse per inibire l'attività dei linfociti T diretti contro il tumore, inducendo uno stato di anergia o di esaurimento funzionale. [9,10]



**FIGURA 1** Le proteine checkpoint, come PD-L1 espresso sulle cellule tumorali e PD-1 presente sui linfociti T, contribuiscono a mantenere sotto controllo le risposte immunitarie. Il legame di PD-L1 con PD-1 impedisce ai linfociti T di uccidere le cellule tumorali nell'organismo (figura a sinistra). Il blocco dell'interazione tra PD-L1 e PD-1 mediante un inibitore dei checkpoint immunitari (anti-PD-L1 o anti-PD-1) consente invece ai linfociti T di eliminare le cellule tumorali (figura a destra). [11]

L'introduzione degli inibitori dei CI (iCI) ha, dunque, segnato una svolta storica nel trattamento di numerose neoplasie solide, dimostrando che il blocco farmacologico di questi segnali

inibitori è in grado di ripristinare una risposta immunitaria efficace e di ottenere risposte cliniche durature. A differenza dei trattamenti convenzionali, infatti, l'immunoterapia è in grado, in alcuni casi, di indurre una memoria immunologica, consentendo un controllo prolungato della malattia anche dopo la sospensione del trattamento.

### ***3.2 Patogenesi tumorale, interazione con il sistema immunitario e razionale biologico dell'immunoterapia nel carcinoma del colon-retto***

Il carcinoma del colon-retto rappresenta un modello paradigmatico di neoplasia multifattoriale, in cui la trasformazione tumorale deriva dall'interazione complessa tra alterazioni genetiche ed epigenetiche delle cellule epiteliali intestinali e la risposta del sistema immunitario. [5]

In condizioni fisiologiche, il sistema immunitario è deputato al mantenimento dell'omeostasi tissutale e alla difesa dell'organismo contro agenti patogeni e cellule potenzialmente pericolose. Tra le sue funzioni fondamentali rientra l'immunosorveglianza tumorale, ovvero la capacità di riconoscere ed eliminare cellule che presentano alterazioni genetiche o fenotipiche compatibili con una trasformazione neoplastica. Questo processo è mediato dall'azione coordinata dell'immunità innata, che fornisce una risposta rapida e aspecifica, e dell'immunità adattativa, in particolare dei linfociti T citotossici CD8<sup>+</sup>, capaci di riconoscere antigeni specifici presentati dalle cellule alterate attraverso le molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). [10]

Nel contesto della malattia oncologica, tuttavia, la relazione tra tumore e sistema immunitario non è statica, ma evolve nel tempo secondo un modello concettuale noto come *immunoediting*, che comprende tre fasi distinte: eliminazione, equilibrio ed evasione. Nella fase di eliminazione, le cellule neoplastiche emergenti vengono riconosciute e distrutte dal sistema immunitario. Alcune cellule, tuttavia, possono sopravvivere e instaurare, appunto, una fase di equilibrio, durante la quale la crescita tumorale è contenuta ma non completamente soppressa. In questa fase, la pressione selettiva esercitata dal sistema immunitario favorisce la sopravvivenza di cloni tumorali progressivamente meno immunogenici. Infine, nella fase di evasione, le cellule tumorali acquisiscono meccanismi che consentono loro di sfuggire al controllo immunologico e di proliferare in modo incontrollato, determinando la manifestazione clinica della malattia. [8]

Un elemento chiave dell'interazione tra tumore e sistema immunitario è rappresentato dalla produzione di antigeni tumorali, ovvero molecole espresse dalle cellule neoplastiche che possono essere riconosciute dal sistema immunitario. Gli antigeni tumorali possono essere suddivisi in diverse categorie: antigeni di differenziazione, espressi anche nei tessuti normali di origine; antigeni sovraespressi o amplificati; antigeni associati a oncovirus; e, soprattutto, neoantigeni. Questi ultimi derivano da mutazioni somatiche specifiche del tumore e rappresentano bersagli immunologici di particolare interesse poiché non sono presenti nelle cellule sane dell'organismo. [3,5]

I neoantigeni risultano altamente immunogenici in quanto non soggetti ai meccanismi di tolleranza centrale e periferica che limitano la risposta immunitaria verso antigeni *self*. La loro presenza favorisce l'attivazione dei linfociti T e la generazione di una risposta immunitaria antitumorale robusta. Tuttavia, nonostante l'espressione di antigeni riconoscibili, molte neoplasie riescono a progredire grazie all'attivazione di sofisticati meccanismi di evasione immunitaria. [8]

Tra questi meccanismi assume particolare rilievo il concetto di immunomimetismo, ovvero la capacità delle cellule tumorali di sfruttare e imitare i normali processi di regolazione immunologica dell'organismo basati sull'attivazione dei CI. Le cellule tumorali, infatti, possono appropriarsi di questi circuiti regolatori e utilizzarli a proprio vantaggio, inducendo uno stato di tolleranza o di inattivazione funzionale delle cellule immunitarie effettrici. [9,10]

Come detto in precedenza, tra questi meccanismi, quello costituito dall'asse PD-1/PD-L1 sembrerebbe rivestire un ruolo di primaria importanza nello sviluppo dei tumori.

Per quanto concerne lo sviluppo dei carcinomi del colon-retto, le tre principali vie di carcinogenesi sono: 1) l'instabilità cromosomica (*Chromosomal Instability, CIN*), 2) l'instabilità dei microsatelliti (*Microsatellite Instability, MSI*) e il fenotipo CpG island methylator (CIMP). La MSI causata da un deficit del sistema di *mismatch repair* (dMMR), assume una rilevanza particolare nel contesto dell'immunoterapia. [1,5]

Il sistema di *mismatch repair* è, infatti, responsabile della correzione degli errori che si verificano durante la replicazione del DNA. Il malfunzionamento dei geni coinvolti in questo sistema, quali MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2, che può essere di origine ereditaria, (come nella sindrome di Lynch), o acquisita (es.: a seguito del silenziamento epigenetico del gene MLH1),

comporta il difetto di riparazione del DNA e l'accumulo di mutazioni, in particolare nelle regioni ripetute del genoma, note come microsatelliti, determinando un fenotipo ipermutato. [3]

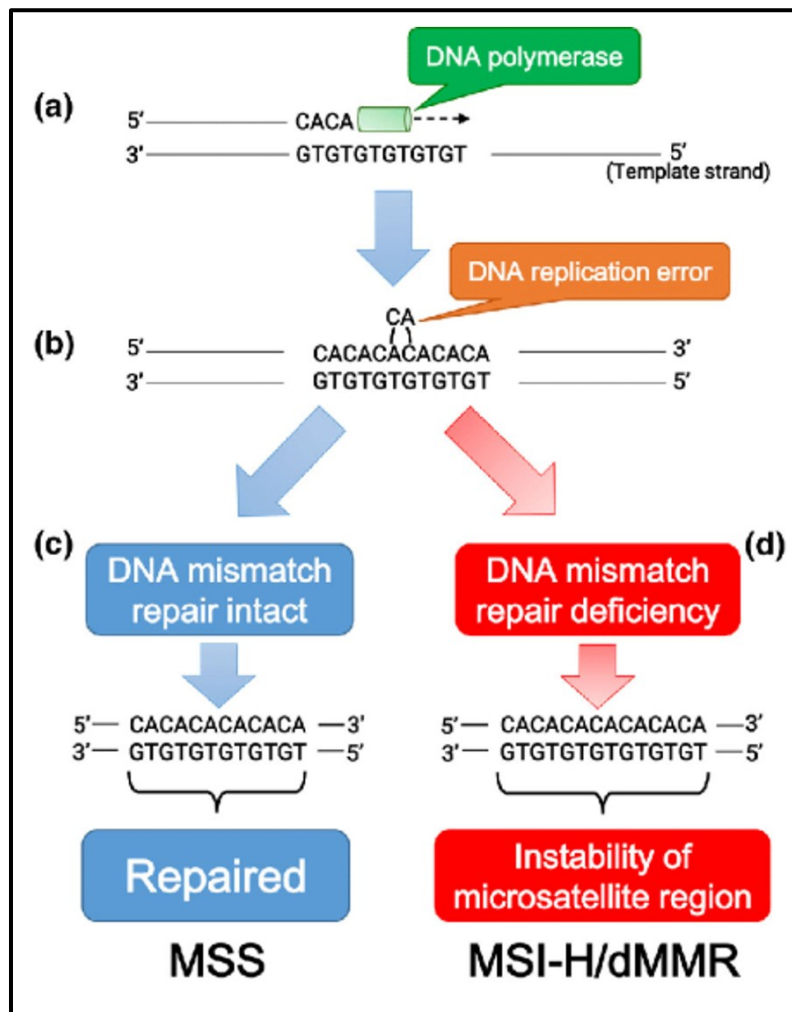


FIGURA 2 Difetto del sistema Mismatch Repair [17]

L'elevato carico mutazionale tipico dei tumori dMMR/MSI-H si traduce nella produzione di un numero elevato di neoantigeni, rendendo queste neoplasie altamente immunogeniche. Di conseguenza, i tumori MSI-H sono caratterizzati da una marcata infiltrazione di cellule immunitarie, in particolare linfociti T, all'interno del microambiente tumorale. Questa intensa attivazione immunitaria, tuttavia, esercita una forte pressione selettiva che favorisce l'attivazione di meccanismi di immuno-evasione, tra cui la sovraregolazione di PD-L1 da parte delle cellule tumorali e delle cellule immunitarie infiltranti. [8]

L'interazione tra PD-L1 e PD-1 determina l'inibizione funzionale dei linfociti T, inducendo uno stato di esaurimento immunitario che consente al tumore di progredire nonostante la

presenza di una risposta immune potenzialmente efficace. Questo paradosso biologico (cioè un'elevata immunogenicità associata a progressione tumorale) rappresenta la base razionale per l'impiego dell'immunoterapia nei pazienti con CRC dMMR/MSI-H. [10]

Pertanto, la comprensione dei meccanismi patogenetici e immunologici alla base del CRC ha portato allo sviluppo delle immunoterapie basate sull'impiego degli inibitori dei *checkpoint* immunitari, che mirano a ripristinare la risposta antitumorale bloccando i segnali inibitori mediati dall'asse PD-1/PD-L1. In particolare, il blocco di PD-1 consente il recupero della funzione citotossica dei linfociti T, favorendo l'eliminazione delle cellule tumorali. [1]

I risultati ottenuti negli studi clinici hanno, infatti, confermato che i pazienti con CRC dMMR/MSI-H traggono un beneficio significativo dall'immunoterapia rispetto alla chemioterapia convenzionale, con un miglioramento degli outcome clinici e una riduzione della tossicità. Questi dati hanno segnato un cambiamento di paradigma nella gestione del carcinoma del colon-retto, decretando l'immunoterapia come una delle più promettenti frontiere terapeutiche nel carcinoma del colon-retto, in particolare nei pazienti MSI-H. [11,16]

Nonostante questi successi, infatti, l'immunoterapia nel carcinoma del colon-retto rimane limitata a una percentuale relativamente ridotta di pazienti, poiché la maggior parte dei tumori è caratterizzata da stabilità dei microsatelliti (MSS) e da un basso carico mutazionale, condizioni associate a una minore immunogenicità e a una ridotta risposta agli CI immunitari. Questo ha stimolato un'intensa attività di ricerca volta a identificare nuove strategie per ampliare l'efficacia dell'immunoterapia, attraverso combinazioni terapeutiche, nuovi biomarcatori predittivi di risposta e approcci personalizzati. [9,10]

Nei paragrafi successivi verranno approfondite le principali strategie immunoterapiche attualmente disponibili, i risultati degli studi clinici più rilevanti e le prospettive future della ricerca in questo ambito.

### ***3.3 Farmaci immunoterapici nel CRC dMMR/MSI-H***

Diverse molecole sono già utilizzate in clinica. Si tratta di anticorpi monoclonali, la cui efficacia è stata dimostrata da trial clinici (come KEYNOTE-177), che hanno evidenziato una superiore sopravvivenza libera da progressione rispetto alla chemioterapia convenzionale nei pazienti con CRC dMMR/MSI-H. [16]

Tra questi, il pembrolizumab e il nivolumab, entrambi anticorpi anti-PD-1, hanno dimostrato un'elevata efficacia nel trattamento del carcinoma coloretale dMMR/MSI-H, sia come monoterapia sia, nel caso del nivolumab, in associazione con l'anticorpo anti-CTLA-4 ipilimumab, che consente una stimolazione più ampia e sinergica della risposta immunitaria antitumorale. [16,18] Accanto a questi farmaci già consolidati nella pratica clinica, sono in fase di studio o di recente introduzione altre molecole immunoterapiche, come il dostarlimab, anch'esso inibitore di PD-1, valutato soprattutto in contesti neoadiuvanti e in stadi localizzati di malattia con profilo dMMR/MSI-H. [19] Inoltre, la ricerca clinica sta esplorando nuove strategie immunoterapiche basate sull'inibizione di checkpoint emergenti, quali LAG-3 e TIGIT, nonché combinazioni di immunoterapia con altri trattamenti sistemici o locoregionali, con l'obiettivo di migliorare ulteriormente l'efficacia e superare i meccanismi di resistenza. [20,21] Ciascuno di questi farmaci e approcci terapeutici verrà analizzato in modo più approfondito nei paragrafi successivi, con particolare attenzione al meccanismo d'azione, alle evidenze cliniche disponibili e alle principali indicazioni terapeutiche nel carcinoma del colon-retto dMMR/MSI-H.

### ***3.4 Pembrolizumab***

La storia di pembrolizumab si inserisce nel più ampio contesto dello sviluppo degli inibitori dei checkpoint immunitari come quello costituito da PD-1 e sui suoi ligandi PD-L1/PD-L2 che, come descritto nel precedente capitolo, svolge il ruolo di “freno” fisiologico della risposta immunitaria, contro i rischi di risposte autoimmunitarie, ma può essere sfruttato dalle cellule tumorali per sfuggire al controllo immunitario.

Su questo razionale, tra il 2006 ed il 2009, fu sviluppato il primo anticorpo monoclonale anti-PD-1 poi denominato pembrolizumab.

Il primo studio sugli effetti terapeutici di pembrolizumab sull'uomo è stato il KEYNOTE-001, un trial di Fase I, adattativo, in pazienti con neoplasie solide avanzate (inizialmente soprattutto melanoma e NSCLC), in cui venivano esplorati diversi schemi posologici (1-10 mg/kg ogni 2 o 3 settimane), definendo il profilo di sicurezza e la finestra terapeutica del farmaco. [23] Le risposte durature osservate nei pazienti coinvolti in questa sperimentazione portarono all'accelerazione del programma di sviluppo clinico attraverso la creazione di nuovi *trial* della serie KEYNOTE.

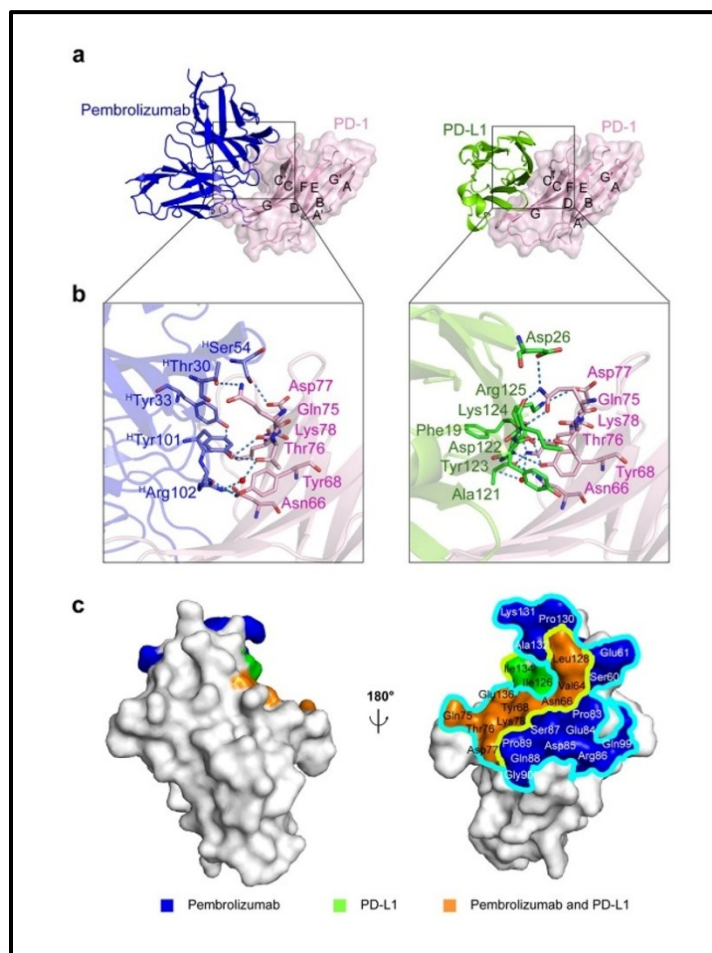
In definitiva, il 4 settembre del 2014, FDA decreta la prima approvazione all'uso del pembrolizumab per il trattamento del melanoma avanzato refrattario ad ipilimumab, cui faranno seguito, nel giro di pochi anni, nuove indicazioni quali tumori polmonari del tipo "Non-Small Cell Lung Cancer" (NSCLC), i carcinomi uroteliali, i tumori testa-collo, il linfoma di Hodgkin e altri tumori solidi. [24]

Per quanto concerne però la storia "regolatoria" di questo farmaco, una tappa storica è stata l'approvazione, da parte sia di FDA che di EMA, del suo impiego "tissue-agnostic", primo caso nella storia, ovvero per il trattamento di qualunque tumore solido, indipendentemente dalla sua istologia, sulla sola base della refrattarietà alle terapie standard e della condizione di deficit del *Mismatch Repair* (dMMR)/elevata instabilità del DNA MicroSatellitare (MSI-H). A tal proposito, relativamente alla terapia del carcinoma coloretale (CRC), i dati dei *trial* di Fase II (KEYNOTE-164), su pazienti pretrattati e, soprattutto, dello studio di Fase III (KEYNOTE-177), in prima linea, hanno consolidato il ruolo di pembrolizumab come terapia di riferimento nei tumori dMMR/MSI-H. [16]

Il farmaco nasce dal "grafting" delle regioni variabili di un anticorpo murino ad alta affinità per PD-1 su una struttura di immunoglobulina umana di sottoclasse IgG4- $\kappa$ , modificata nella regione del ponte disolfuro (mutazione S228P) per evitarne l'instabilità tipica di questa sottoclasse. [22]

Più nello specifico, dal punto di vista strutturale l'anticorpo risulta essere costituito da:

- due catene pesanti e due catene leggere  $\kappa$ , con la tipica architettura delle immunoglobuline.
- 32 residui di cisteina che formano legami disolfuro: quattro intercatena (che uniscono le catene tra loro) e numerosi intracatena, essenziali per stabilizzare la conformazione tridimensionale.
- La regione Fc, modificata con una mutazione S228P nel ponte disolfuro della sottoclasse IgG4. Questa mutazione impedisce il fenomeno del "Fab-arm exchange" (scambio di bracci Fab tra anticorpi diversi), tipico delle IgG4, che potrebbe generare anticorpi funzionalmente monovalenti o misti.



**FIGURA 3** Struttura cristallografica ad alta risoluzione dell'anticorpo terapeutico pembrolizumab in complesso con il recettore PD-1 umano. Adattata da Lee JH et al., Sci Rep. 2016 [32]

Studi di cristallografia a raggi X hanno risolto la struttura dell'anticorpo a 2,3 Å di risoluzione, mostrando una molecola relativamente compatta con un hinge corto, caratteristica delle IgG4. Le regioni variabili (Fab) sono state progettate per legare con alta affinità il dominio extracellulare di PD-1, con un'interazione che coinvolge residui chiave del sito di legame ai ligandi PD-L1 e PD-L2, in modo da bloccarne efficacemente l'interazione. [24, 25]

Dal punto di vista biochimico, pembrolizumab presenta i tipici pattern di glicosilazione a livello di Asn297 della catena pesante, con un profilo di glicoforme compatibile con una buona stabilità e un ridotto potenziale di citotossicità anticorpo-dipendente (ADCC), coerente con la scelta di una IgG4 orientata più a modulare la funzione dei linfociti T che a mediare citotossicità diretta. [22]

Pembrolizumab si lega selettivamente al dominio extracellulare di PD-1, impedendo l'interazione con PD-L1 e PD-L2.

Di conseguenza:

- viene bloccato il reclutamento delle fosfatasi inibitorie a valle di PD-1;
- si ripristinano proliferazione e funzione effettrice dei linfociti T specifici per gli antigeni tumorali;
- aumenta la produzione di citochine pro-infiammatorie (es. IFN- $\gamma$ ) e la capacità di uccidere le cellule tumorali che esprimono gli antigeni riconosciuti. [16]

In altre parole, pembrolizumab non agisce direttamente sulle cellule neoplastiche, ma rimuove un freno chiave del sistema immunitario, permettendo ai linfociti T di esercitare nuovamente un controllo antitumorale.

Per quanto concerne l'efficacia di pembrolizumab nel trattamento dei tumori dMMR/MSI-H, come già detto nel precedente capitolo, questo tipo di tumori si caratterizza per la presenza di numerose mutazioni geniche *frameshift* nelle regioni di DNA microsatellitare, cui consegue la produzione di neoantigeni immunogenici, configurando quello che viene definito un elevato *Tumor Mutational Burden* (TMB).

Questo porta spesso a un microambiente tumorale ricco di linfociti T infiltranti. Tuttavia, tali tumori esprimono frequentemente PD-L1 e altri *checkpoint*, instaurando una condizione di tolleranza immunitaria locale. [16]

Il blocco di PD-1 con pembrolizumab è particolarmente efficace in questo contesto perché "riattiva" linfociti T già presenti e specifici per molti neoantigeni e dà luogo a risposte profondamente durature, come appunto dimostrato nei trial KEYNOTE-164 e KEYNOTE-177 di cui si è parlato in precedenza. [16, 27]

Il farmaco viene somministrato per via endovenosa in infusione. Gli schemi approvati nelle principali indicazioni, incluso il CRC dMMR/MSI-H, sono:

- 200 mg ogni 3 settimane (Q3W)
- 400 mg ogni 6 settimane (Q6W)

La durata massima della terapia, nei *trial* registrativi, è generalmente di 24 mesi nei pazienti in risposta o con malattia stabile, mentre in caso di progressione o tossicità non gestibile il trattamento viene interrotto. [16, 26]

Nel trial KEYNOTE-177, i pazienti ricevevano 200 mg Q3W fino a un massimo di 35 cicli (circa 2 anni) o fino a progressione/tossicità inaccettabile. [16]

Pembrolizumab mostra una farmacocinetica tipica di un anticorpo monoclonale:

- Biodisponibilità del 100% com'è ovvio data la somministrazione e.v..
- Volume di distribuzione relativamente basso, principalmente nel compartimento intravascolare e interstiziale.
- Emivita terminale di circa 22–26 giorni, che giustifica gli intervalli di somministrazione di 3–6 settimane.
- Metabolismo per degradazione proteolitica in piccoli peptidi e aminoacidi; non coinvolge il sistema del citocromo P450.
- Eliminazione, principalmente tramite catabolismo cellulare e reticoloendoteliale; la clearance non è significativamente influenzata da età, sesso, etnia o lieve-moderata compromissione renale o epatica.

Gli studi di fase I (KEYNOTE-001) hanno mostrato una farmacocinetica lineare nel range di dosaggio clinico e hanno supportato l'uso di dosi fisse piuttosto che basate sul peso corporeo. [23, 26]

In pratica clinica l'infusione avviene generalmente in 30 minuti, non è richiesta premedicazione standard (se non in pazienti che abbiano già presentato reazioni da infusione) e la valutazione radiologica di risposta viene eseguita in genere ogni 8–12 settimane, con attenzione alla possibilità di “pseudoprogressione” (iniziale aumento delle dimensioni lesionali prima di una successiva risposta, dovuta all'infiltrato infiammatorio). [27]

Il profilo di tossicità di pembrolizumab riflette il suo meccanismo d'azione: la riattivazione del sistema immunitario può portare a fenomeni di autoimmunità con danno infiammatorio a carico di vari organi, definiti *immune-related Adverse Events* (irAE).

Eventi avversi più frequenti:

- Tossicità cutanee, quali rash maculo-papulare, prurito, vitiligine; più raramente dermatite esfoliativa, sindrome di Stevens-Johnson, necrolisi epidermica tossica.
- Tossicità gastrointestinali, ossia diarrea, colite immuno-mediata (che può presentarsi con dolore addominale, sangue nelle feci e rischio di perforazione se non trattata).
- Tossicità epatiche come l'epatite autoimmune (con aumento di ALT/AST e bilirubina).
- Tossicità polmonari, in particolare la polmonite interstiziale, che può manifestarsi con tosse secca, dispnea e infiltrati radiologici diffusi.
- Endocrinopatie, quali l'ipotiroidismo o l'ipertiroidismo, tiroiditi, ipofisite, diabete mellito tipo 1 a esordio improvviso, insufficienza surrenalica.
- Tossicità renali, ossia la nefrite interstiziale (con incremento della creatinina); sono descritti casi di tubulopatia e acidosi tubulare.
- Altre tossicità rare ma gravi possono essere la miocardite, miastenia gravis, sindrome di Guillain-Barré e la Capillary Leak Syndrome (CLS).

Gli eventi avversi di grado 1–2 sono spesso gestibili con terapia sintomatica o brevi cicli di corticosteroidi; quelli di grado  $\geq 3$  richiedono in genere sospensione temporanea o definitiva del farmaco e immunosoppressione sistemica (metilprednisolone ad alte dosi, eventualmente associato ad altri immunosoppressori nei casi refrattari). [26]

Nei pazienti con CRC dMMR/MSI-H trattati con pembrolizumab (KEYNOTE-164 e KEYNOTE-177), il profilo di sicurezza è risultato globalmente favorevole, con frequenza degli eventi avversi immuno-correlati simile a quella osservata in altre neoplasie, percentuale di eventi di grado  $\geq 3$  significativamente inferiore rispetto alla chemioterapia standard. Nel trial KEYNOTE-177, eventi correlati al trattamento di grado  $\geq 3$  si sono verificati nel 22% dei pazienti nel braccio pembrolizumab contro il 66% nel braccio chemioterapia, dove gli eventi più frequenti erano neutropenia, diarrea e fatigue severa. [16, 27]

Gli anticorpi monoclonali come pembrolizumab hanno un profilo di interazioni molto diverso rispetto ai farmaci di sintesi chimica, inquanto:

- non sono substrati, inibitori o induttori degli enzimi del citocromo P450;
- non vengono eliminati per via renale o biliare in forma intatta;
- non competono in modo significativo con trasportatori di membrana.

Di conseguenza, il rischio di interazioni farmacocinetiche con altri farmaci è considerato minimo. Tuttavia, esistono alcuni aspetti pratici importanti:

- Corticosteroidi e immunosoppressori: l'uso cronico a dosi immunosoppressive può teoricamente ridurre l'efficacia di pembrolizumab. Nella pratica clinica, si cerca di evitare steroidi sistemici ad alte dosi prima dell'inizio della terapia, mentre il loro impiego per gestire irAE non sembra compromettere in modo significativo la risposta, sebbene il tema sia ancora oggetto di studio.
- Vaccini: i vaccini vivi attenuati sono generalmente sconsigliati durante il trattamento con *checkpoint inhibitors*, come gli anti-PD1/PD-L1 o anti-CTLA4, data la possibile alterazione della risposta immunitaria e il rischio teorico di infezioni disseminate. I vaccini inattivati (es. anti-influenzale) sono invece considerati sicuri.
- Associazione con altri antitumorali: in alcuni setting (es. NSCLC) pembrolizumab viene somministrato in combinazione con chemioterapia. Nel CRC dMMR/MSI-H, il regime standard in prima linea è la monoterapia, mentre le combinazioni con altri immunoterapici (es. anti-CTLA-4) sono più tipiche di altri farmaci (nivolumab + ipilimumab) che di pembrolizumab.

Nel complesso, non sono descritte interazioni clinicamente rilevanti tali da richiedere aggiustamenti sistematici di dose di pembrolizumab per co-somministrazione di altri farmaci. Il monitoraggio clinico e laboratoristico rimane comunque essenziale, soprattutto in pazienti con politerapia complessa. [26, 27]

#### 3.4.1 Focus sul trattamento del CRC metastatico

Il trial di Fase III KEYNOTE-177 rappresenta lo studio cardine che ha definito pembrolizumab come nuovo standard di cura in prima linea per i pazienti con CRC metastatico dMMR/MSI-H.

- Randomizzazione 1:1 pembrolizumab 200 mg e.v. ogni 3 settimane (fino a 35 cicli) o chemioterapia standard a scelta dello sperimentatore (FOLFOX o FOLFIRI, con o senza bevacizumab o cetuximab).
- Endpoint primari: *Progression-Free Survival* (PFS) secondo RECIST v1.1, valutata da revisione centrale indipendente; *Overall Survival* (OS) nella popolazione *Intention-To-Treat* (ITT).
- Endpoint secondari: *Overall Response Rate* (ORR), *Duration of Response* (DoR), sicurezza e tollerabilità; analisi esplorative su tempo dalla randomizzazione alla progressione o morte sul trattamento successivo (PFS2), *Health-Related Quality of Life* (HRQoL) e analisi economiche Q-TWiST.

Un aspetto cruciale del disegno era inoltre la possibilità di *crossover*, ossia l'opportunità di iniziare il trattamento con pembrolizumab per quei pazienti del braccio chemioterapia in caso di progressione della malattia. A tal proposito, a completamento dello studio, risultava infatti che circa il 60% dei pazienti in trattamento con chemioterapia passava all'uso di pembrolizumab o altra immunoterapia *off-study*. [16]

I principali criteri di inclusione comprendevano:

- età  $\geq 18$  anni;
- diagnosi confermata di CRC metastatico dMMR/MSI-H;
- assenza di terapia sistemica precedente per malattia metastatica;
- ECOG performance status 0–1;
- adeguata funzionalità d'organo.

Nel corso dello studio, tra febbraio 2016 e febbraio 2018, sono stati sottoposti a *screening* 852 pazienti, di cui 307 sono risultati idonei alla randomizzazione: 153 nel braccio pembrolizumab; 154 nel braccio chemioterapia. [16]

Le caratteristiche basali risultavano ben bilanciate tra i due bracci per età mediana (circa 63 anni), sesso, sede del tumore primitivo (con una prevalenza di colon destro, tipica del fenotipo dMMR/MSI-H), stato mutazionale RAS e BRAF, numero di sedi metastatiche e precedente chirurgia del tumore primitivo. [16]

L'analisi dei dati sperimentali mostrava una chiara superiorità di pembrolizumab rispetto alla chemioterapia per l'endpoint PFS.

PFS mediana:

- Pembrolizumab: 16,5 mesi (IC 95% 8,3–NR).
- Chemioterapia: 8,2 mesi (IC 95% 6,1–10,2).

*Hazard ratio* (HR) per progressione o morte: 0,60 (IC 95% 0,45–0,80;  $p \approx 0,0002$ ). [16]

Le curve di PFS mostrano, inoltre, un tipico “plateau” immunologico nel braccio pembrolizumab, con una quota consistente di pazienti in risposta o malattia stabile a lungo termine. Il plateau immunologico è il fenomeno per cui, dopo una fase iniziale in cui una parte dei pazienti va incontro a progressione, la curva di sopravvivenza nei trial di immunoterapia tende a stabilizzarsi nel tempo. Questo andamento suggerisce che una quota di pazienti ottiene un controllo di malattia molto prolungato, sostenuto anche dalla persistenza dell’attivazione immunitaria e dalla formazione di memoria immunologica antitumorale, con un rischio di evento che diventa progressivamente basso e stabile nel lungo periodo. [16]

Per quanto riguarda l’ORR: ~43,8% nel braccio pembrolizumab vs 33,1% nel braccio chemioterapia, con un tasso di *Complete Response* (CR) dell’ 11,1% con pembrolizumab e del 3,9% con la chemioterapia.

Ancora più impressionante risultava il dato relativo alla DoR mediana, non raggiunta con pembrolizumab alla prima analisi, ed attestatosi, intorno 10,6 mesi circa nel braccio trattato con chemioterapia standard. [28]

In definitiva, l’analisi dei dati clinici testimoniava, non solo che più pazienti rispondono meglio al trattamento con pembrolizumab, ma che le risposte sono molto più durature rispetto a quelle ottenute con la chemioterapia.

L’analisi finale dei tassi di sopravvivenza, pubblicata nel 2022 da Diaz et al. su *Lancet Oncology*, con un *follow-up* mediano di circa 44,5 mesi, mostrava che l’OS mediana non era raggiunta nel braccio in trattamento con pembrolizumab a fronte di un valore di 36,7 mesi (IC 95% 27,6–NR).

HR per decesso di 0,74 (IC 95% 0,53–1,03;  $p = 0,036$ ).

Un aspetto fondamentale, soprattutto in un setting metastatico, è l’impatto sulla qualità di vita correlata alla salute (HRQoL).

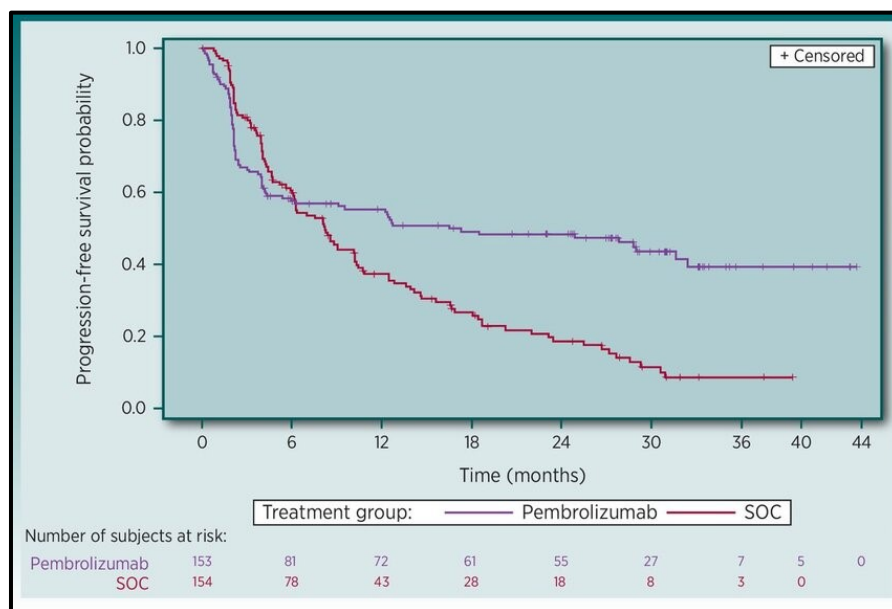
Un'analisi specifica della HRQoL in KEYNOTE-177 ha mostrato che:

- con pembrolizumab si osservano miglioramenti clinicamente significativi della qualità di vita globale (questionari EORTC QLQ-C30) rispetto alla chemioterapia;
- la mediana del tempo alla deteriorazione di parametri chiave (salute globale, funzione fisica, funzione sociale, fatigue) è più lunga con pembrolizumab;
- la terapia immunologica riduce gli effetti collaterali classici della chemioterapia (alopecia, nausea persistente, neuropatia), con riflessi positivi sulle attività quotidiane.

Analisi successive hanno valutato anche:

- la PFS2, che risulta favorevole a pembrolizumab;
- la Q-TWiST (*quality-adjusted time without symptoms of disease or toxicity*), indicatore composito che integra quantità e qualità di sopravvivenza: anche qui pembrolizumab risulta superiore, con più tempo trascorso senza sintomi di malattia o tossicità significativa. [29, 30]

Questi dati confermano che il beneficio clinico di pembrolizumab non è solo numerico (PFS/ORR), ma si traduce in un miglior vissuto del paziente durante il trattamento.



**FIGURA 4** Curve di Kaplan–Meier della sopravvivenza libera da progressione (PFS) nel trial di fase III KEYNOTE-177, che confronta pembrolizumab con la chemioterapia standard in prima linea nei pazienti con carcinoma del colon-retto metastatico dMMR/MSI-H.

Nel trial KEYNOTE-177, il profilo di sicurezza di pembrolizumab è risultato coerente con quanto atteso per gli inibitori di PD-1, con una riduzione significativa della tossicità severa rispetto alla chemioterapia (22% vs 66%).

Eventi severi con pembrolizumab più frequenti: colite, epatite, endocrinopatie, pneumonite (in linea con gli irAE tipici). Eventi severi con chemioterapia: neutropenia, anemia, vomito e diarrea severi, neuropatia periferica legata a oxaliplatino, complicanze infettive.

È importante sottolineare che, pur essendo gli irAE potenzialmente gravi, la loro incidenza assoluta è relativamente bassa, e con riconoscimento precoce e terapia immunosoppressiva adeguata la maggior parte è reversibile. Il rischio cumulativo di tossicità è quindi considerato accettabile, soprattutto alla luce del beneficio in termini di efficacia e qualità di vita.

Le analisi di sottogruppo di KEYNOTE-177 mostrano inoltre che il beneficio in termini di PFS con pembrolizumab è consistente nella maggior parte dei sottogruppi esaminati: età (<65 vs ≥65 anni); sesso; sede del tumore primitivo (colon destro vs sinistro/retto); stato mutazionale RAS (mutato vs wild type); stato mutazionale BRAF (mutato vs wild type). [28]

Questo supporta l'idea che, nel contesto dMMR/MSI-H, il biomcatore superi in importanza le singole variabili cliniche tradizionali.

Sulla base di questi risultati, le principali linee guida internazionali (NCCN, ESMO, AIOM, ecc.) raccomandano oggi:

- il test di MMR/MSI in tutti i pazienti con CRC metastatico;
- l'uso di pembrolizumab in monoterapia come trattamento di prima linea standard per i pazienti dMMR/MSI-H, in assenza di controindicazioni all'immunoterapia.

Restano aperte alcune questioni: la gestione ottimale dei pazienti che non rispondono primariamente a pembrolizumab (resistenza primaria); il ruolo delle combinazioni (es. pembrolizumab + chemioterapia, pembrolizumab + altri *checkpoint inhibitor* o *targeted therapies*) nel CRC dMMR/MSI-H e in altri sottogruppi molecolari; la possibile integrazione in setting neoadiuvante per tumori localmente avanzati, dove studi emergenti suggeriscono tassi molto elevati di risposta patologica completa. [31]

Le sfide future includono la comprensione dei meccanismi di resistenza primaria e acquisita, l'identificazione di biomcatore aggiuntivi predittivi di risposta, l'ottimizzazione dei regimi di dosaggio e l'esplorazione di combinazioni razionali con altre terapie. Tuttavia, il paradigma

inaugurato da pembrolizumab nel CRC dMMR/MSI-H costituisce già oggi un punto di svolta nella terapia del tumore del colon-retto e un modello per lo sviluppo di strategie immunoterapiche in altri tumori solidi. [49]

### ***3.5 Nivolumab***

Nivolumab è stato il primo anticorpo anti-PD-1 ad ottenere l'approvazione, nel 2014, con un'indicazione al trattamento del melanoma e nel 2015 per il trattamento del tumore polmonare "non a piccole cellule" (NSCLC).

Si tratta di un anticorpo monoclonale "fully-human" diretto contro PD-1, appartenente alla sottoclasse IgG4, con una mutazione S228P nella regione hinge (ovvero la sostituzione dell'amminoacido serina (S) con una prolina (P) in posizione 228), realizzata per evitare il Fab-arm exchange, un fenomeno tipico in cui due anticorpi si scambiano una delle loro regioni Fab generando molecole con ridotta attività effettrice. In definitiva, questa modifica si è resa necessaria per stabilizzare l'anticorpo IgG4 ed ottenere un'azione terapeutica più controllata e affidabile. Inoltre, la scelta dell'isotipo IgG4 è stata compiuta per evitare il tipico effetto *Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity* (ADCC), mediato dalla porzione Fc, che finirebbe col contrastare la riattivazione dei linfociti T legati da questo anticorpo. [33]

Fin dalle fasi iniziali della sperimentazione questo farmaco si è mostrato di una buona tollerabilità ed efficacia antitumorale in pazienti con tumori solidi avanzati, già pretrattati con chemioterapia classica, consentendo così l'avvio di programmi di sviluppo clinico in diverse neoplasie. [33]

Come già evidenziato in precedenza, l'interesse per i farmaci anti-PD-1 è cresciuto in seguito alla scoperta che i tumori con una condizione dMMR/MSI-H presentano un elevato carico mutazionale e, dunque, una maggiore immunogenicità. In tal senso, lo studio cardine di Fase II, *open label*, che ha analizzato l'efficacia di nivolumab in pazienti con CRC dMMR/MSI-H metastatico, precedentemente trattati, è stato il CheckMate 142. In questo studio, i pazienti hanno ricevuto nivolumab in monoterapia e hanno mostrato un tasso significativo di risposte positive, un controllo della malattia duraturo e una sopravvivenza prolungata, con un profilo di tossicità nel complesso gestibili. [18]

Successivamente, lo sviluppo clinico è proseguito con uno studio randomizzato di Fase III (CheckMate 8HW) in cui è stato valutato nivolumab, in monoterapia, quale trattamento di riferimento per la terapia del CRC metastatico dMMR/MSI-H e per confrontarne l'efficacia rispetto alla chemioterapia classica. [35]

Sebbene in origine la somministrazione di questo farmaco prevedesse l'utilizzo a dosaggi ponderati sulla base del peso corporeo (es. 3 mg/kg), attualmente è preferito l'uso di dosi fisse per maggiore semplicità e uniformità. Infatti, gli schemi di somministrazione endovenosa di nivolumab prevedono l'impiego di 240 mg ogni 2 settimane (Q2W) o di 480 mg ogni 4 settimane (Q4W).

Come è di comune riscontro per tutti gli anticorpi terapeutici, il volume di distribuzione di nivolumab (8 L) è limitato al plasma e, in parte, ai liquidi extracellulari. Per quanto concerne il metabolismo, data la sua natura polipeptidica, nivolumab può essere degradato per proteolisi, senza coinvolgere il sistema dei citocromi epatici; per tale ragione le interazioni farmacocinetiche con altre terapie concomitanti sono da escludere. Dato il metabolismo e la clearance sistemica limitata, l'emivita è di circa 25 giorni, ciò consentendo intervalli di somministrazione di 2-4 settimane. [33]

Anche nel caso della terapia con nivolumab è essenziale il monitoraggio dei pazienti per individuare precocemente eventuali tossicità immuno-mediate. In particolar modo, come per pembrolizumab, vi è un rischio di "pseudoprogressione", ovvero un apparente incremento delle lesioni neoplastiche, cui seguirà però la risposta terapeutica, motivo per cui bisogna interpretare la valutazione radiologica nel contesto clinico complessivo.

Nel complesso gli eventi avversi sono quelli tipicamente osservati nei pazienti trattati con immunoterapie e definiti *immune-related Adverse Events* (irAE). In monoterapia il profilo è generalmente più favorevole rispetto alle combinazioni, per esempio con anti-CTLA-4.

Gli eventi avversi più comuni sono:

- A livello cutaneo, rash cutaneo, prurito, vitiligine.
- A livello gastrointestinale, diarrea, colite immuno-mediata.
- A livello epatobiliare, epatite autoimmune con aumento di transaminasi.
- A livello polmonare, in particolare polmonite.

- A livello endocrino, disfunzioni tiroidee, ipofisite (meno comune con PD-1 rispetto a CTLA-4), insufficienza surrenalica, raramente diabete.
- A livello renale, in particolare nefrite interstiziale.

Le reazioni avverse vengono gestite in base alla gravità, seguendo le linee guida cliniche. Nei casi medio-gravi è prevista la sospensione del trattamento e l'utilizzo di corticosteroidi; nei casi refrattari, invece vengono utilizzati immunosoppressori aggiuntivi. [33]

Va sottolineato però che lo studio CheckMate 142 ha evidenziato che l'uso in monoterapia si caratterizza per una quota contenuta di effetti avversi gravi e per una bassa percentuale di interruzione del trattamento per tossicità. [18]

Se le interazioni farmacocinetiche sono poco probabili, come spiegato in precedenza in rapporto al metabolismo del farmaco, le interazioni di tipo farmacodinamico più rilevanti sono con i farmaci corticosteroidi/immunosoppressori e vaccini, con modalità analoghe a quelle già esplicitate nei paragrafi dedicati a pembrolizumab. [33, 44]

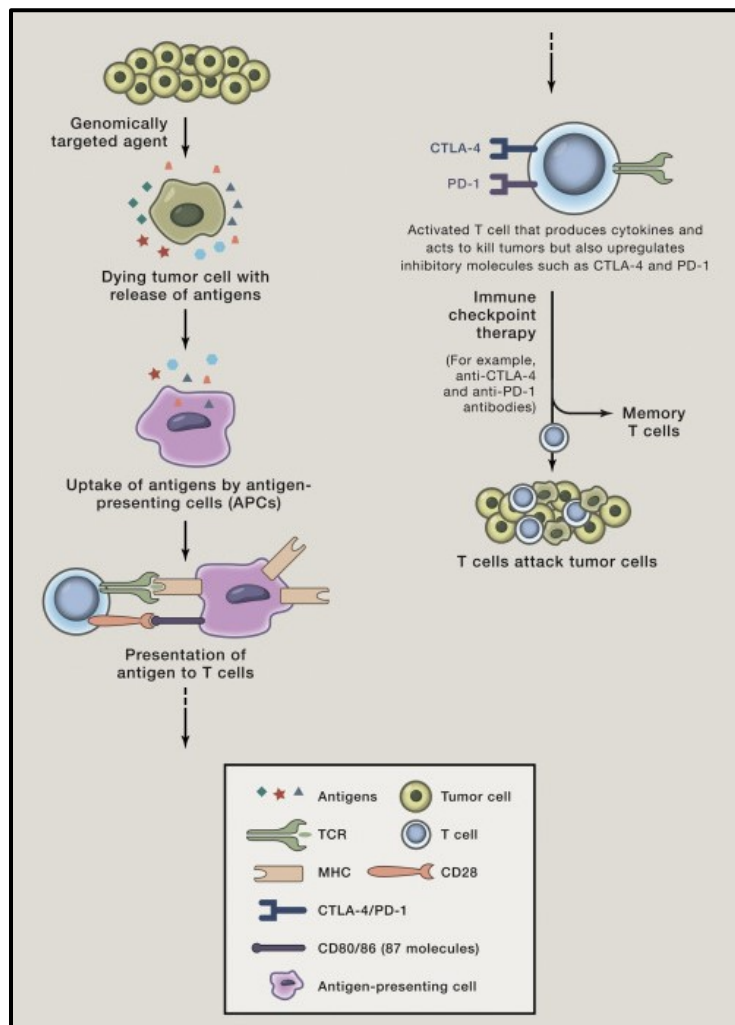
Di seguito si procederà ad una descrizione più dettagliata del disegno sperimentale e dei risultati dello studio di Fase III, Checkmate 8HW, incentrato sulla valutazione della sicurezza ed efficacia di nivolumab nel paziente CRC dMMR/MSI-H.

### 3.5.1 CheckMate 8HW

Si tratta di uno studio randomizzato di Fase III volto a definire l'efficacia terapeutica e la sicurezza dell'associazione ipilimumab + nivolumab al confronto con la monoterapia anti-PD-1 e con la chemioterapia standard in pazienti CRC dMMR/MSI-H. Alla stessa stregua del nivolumab, l'ipilimumab è in grado di agire sui *checkpoint* immunitari, sebbene su un altro asse, ossia quello B7/CTLA-4. Quest'ultima molecola, infatti, è espressa sui linfociti T, soprattutto dopo la loro attivazione negli organi linfoidi secondari. Il blocco di CTLA-4 comporta l'espansione clonale dei linfociti T e riduce l'attività delle cellule Treg, che servono a limitare le risposte immunitarie per evitare che quest'ultime si trasformino in un'aggressione autoimmune. [36, 38]

Il razionale dell'associazione dei due anticorpi monoclonali, dunque, risiede nella complementarità dei due bersagli, infatti CTLA-4 regola la fase iniziale dell'attivazione immunitaria, mentre PD-1 è coinvolto nella fase effettrice. Il doppio blocco permetterebbe di

aumentare sia la quantità sia la qualità della risposta antitumorale dei linfociti T, favorendo una risposta più intensa e potenzialmente duratura. [38, 40]



**FIGURA 5** Razionale biologico del doppio blocco dei *checkpoint* immunitari. Questa associazione consente una risposta immunitaria antitumorale più ampia e duratura. Adattata da: Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. Cell. 2015;161(2):205-214. [45]

Sulla scorta dei risultati positivi forniti dallo studio di Fase II, CheckMate 142, lo studio CheckMate 8HW, è stato disegnato per essere *open-label* con una randomizzazione dei pazienti a tre diverse strategie terapeutiche: doppia immunoterapia con nivolumab più ipilimumab, nivolumab in monoterapia oppure chemioterapia a scelta del ricercatore (con o senza *target therapy*). [35]

Il rapporto di randomizzazione risultava essere di 2:2:1, per i pazienti con nessuna o con una precedente linea di terapia per malattia metastatica, oppure di 1:1, con abolizione del braccio di “chemioterapia”, per i pazienti pretrattati con due o più linee precedenti. [35] Inoltre, la randomizzazione è stata realizzata mediante *permuted block randomization (block size of 5)*, cioè all’interno di ogni “blocco” di 5 pazienti, 2 venivano assegnati al braccio nivolumab + ipilimumab, 2 al braccio nivolumab in monoterapia e 1 al braccio con chemioterapia con o senza *target therapy*. [35]

Lo schema di trattamento prevedeva, nel braccio combinato, una fase di induzione con somministrazione di 240 mg di nivolumab associato a 1 mg/kg di ipilimumab ogni 3 settimane per quattro somministrazioni, seguita da una fase di mantenimento con 480 mg di nivolumab ogni 4 settimane; nel braccio di monoterapia i pazienti ricevevano 240 mg di nivolumab ogni 2 settimane per le prime 12 settimane e successivamente 480 mg ogni 4 settimane; mentre la chemioterapia veniva somministrata rispettando gli standard terapeutici previsti dal protocollo scelto. [35]

Nella valutazione degli *endpoint* bisogna poi ricordare che, per i pazienti assegnati al braccio chemioterapico era previsto un *crossover* all’associazione nivolumab + ipilimumab in caso di progressione di malattia.

L’aspetto fondamentale è stato quello di prevedere un gruppo di pazienti trattati solo con nivolumab, usato come termine di confronto con altri gruppi di pazienti trattati con un anti-CTLA-4. In questo modo è stato possibile capire quanto del beneficio clinico sia dipeso effettivamente dal solo blocco di PD-1 e quanto miglioramento in più si possa ottenere bloccando anche CTLA-4.

Inoltre, tale disegno permette sia di confrontare l’immunoterapia con la chemioterapia convenzionale, sia di valutare il rapporto rischio-beneficio tra monoterapia e associazioni. [35]

Gli *endpoint* primari dello studio includono la *Progression-Free Survival* (PFS), che viene valutata in tutti e tre i bracci.

Lo studio è stato condotto con un disegno *open-label*, ma la valutazione della PFS è stata eseguita tramite *blinded independent central review* (BICR), cioè le immagini radiologiche venivano inviate ad un comitato indipendente, che non era a conoscenza del trattamento assegnato al paziente (in cieco).

L'interpretazione dei risultati evidenzia che nivolumab è in grado di determinare un controllo significativo della malattia quando usato in monoterapia su pazienti con CRC dMMR/MSI-H; nello stesso setting, inoltre, la combinazione con altri immunoterapici può portare ad ulteriore incremento nell'efficacia, sebbene a fronte di un aumento dell'incidenza e della severità degli eventi avversi. [35, 41]

I dati pubblicati, infatti, mostrano in termini di PFS una superiorità della combinazione nivolumab in associazione a ipilimumab sia rispetto alla chemioterapia classica sia rispetto a nivolumab in monoterapia, che rimane comunque una strategia efficace e caratterizzata da una migliore tollerabilità complessiva.

Nel CRC dMMR/MSI-H, l'utilizzo di nivolumab + ipilimumab è diventato una strategia in grado di massimizzare la capacità del tumore di stimolare una risposta immunitaria, che diventa più ampia e più diversificata. [42]

Accanto ai benefici, sono da evidenziare anche i notevoli svantaggi, legati soprattutto al profilo di sicurezza. Il doppio blocco immunitario è infatti associato ad un aumento dell'incidenza e della gravità degli effetti avversi immuno-mediati, rispetto alla monoterapia anti-PD-1. [37]

Le tossicità più frequenti e significative riscontrate includono colite, epatite autoimmune, endocrinopatie (in particolare ipofisite e disfunzioni tiroidee), polmonite e manifestazioni cutanee severe. Questi eventi possono richiedere l'utilizzo di una terapia corticosteroidea, in alcuni casi l'utilizzo di ulteriori immunosoppressori, fino ad arrivare, nei casi più gravi, alla sospensione del trattamento. La gestione delle tossicità richiede quindi un attento monitoraggio del paziente. [37, 54]

È inoltre necessario selezionare in modo attento i pazienti a cui somministrare questa associazione; infatti, non tutti i pazienti con tumori immunogenici traggono un beneficio tale da giustificare l'aumento del rischio tossicologico. In particolare, nei pazienti che presentano comorbidità autoimmuni, o che sono clinicamente fragili, oppure dove la necessità principale è quella di mantenere una buona qualità di vita nel lungo periodo, la scelta più appropriata rimane la monoterapia con anti-PD-1. [43]

Per questi motivi è necessario, oltre che tenere conto delle caratteristiche biologiche del tumore, valutare anche le condizioni generali del paziente.

Nella valutazione del rapporto rischio-beneficio, la terapia che prevede l'associazione dei due anticorpi monoclonali non mira a sostituire la monoterapia, ma è intesa come uno strumento strategico per arrivare ad un trattamento sempre più personalizzato. [39]

La monoterapia con nivolumab rimane lo standard terapeutico per quanto riguarda lo studio Checkmate 8HW, facendo da riferimento per la valutazione di approcci più intensivi. [35]

La monoterapia emerge quindi come un'opzione terapeutica solida, efficace e relativamente ben tollerata ed è particolarmente indicata nei pazienti in cui il profilo di rischio, le comorbidità o la necessità di minimizzare le tossicità rendono meno appropriato l'utilizzo di combinazioni immunoterapeutiche. [51]

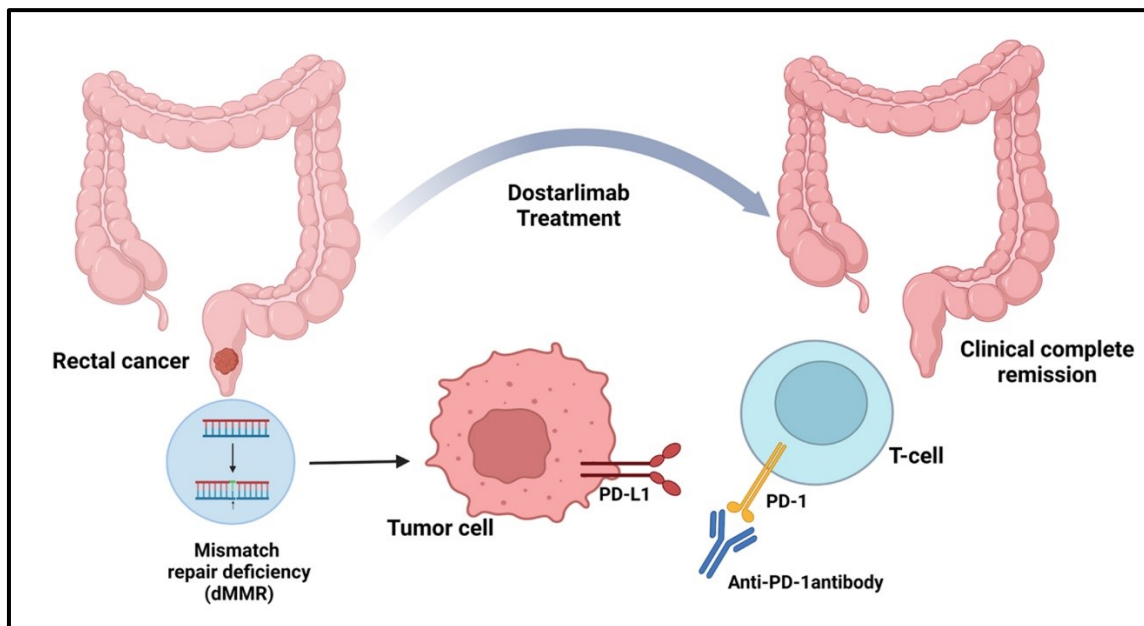
### ***3.6 Dostarlimab***

Analogamente al nivolumab, il dostarlimab è un anticorpo monoclonale di classe IgG4 diretto contro il recettore PD-1, approvato da FDA ed EMA, nel 2021, per il trattamento del carcinoma endometriale dMMR/MSI-H, in seguito ai risultati ottenuti dallo studio clinico GARNET. [46, 55]

Esso condivide le caratteristiche funzionali e il meccanismo d'azione con gli altri inibitori del *checkpoint* immunitario anti-PD-1 analizzati in precedenza [47], sebbene, al contrario di questi, sia fin dall'inizio pensato e sviluppato per essere utilizzato nel trattamento di tumori dMMR/MSI-H. [50]

Il dostarlimab viene somministrato per via endovenosa e presenta un'emivita plasmatica di circa 25 giorni, consentendo schemi di somministrazione distanziati nel tempo. Questo aspetto è fondamentale perché riduce l'impatto della terapia sulla vita quotidiana del paziente. [48, 52]

Anche in questo caso la clearance avviene attraverso il catabolismo proteico, quindi c'è un basso rischio di interazioni. Il concomitante uso di immunosoppressori può, comunque, ridurre l'efficacia, interferendo con l'attivazione della risposta immunitaria. Il profilo di sicurezza è sovrapponibile a quello di altri inibitori anti-PD-1 e gli eventi avversi più comuni sono affaticamento, nausea, diarrea, rash cutaneo e alterazioni della funzione tiroidea. [53]



**FIGURA 6** Blocco di PD-1 come terapia neoadiuvante nei carcinomi coloretali dMMR. Adattata da Mi M et al., *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022;7:361. doi:10.1038/s41392-022-01216-3. [58]

### 3.6.1 Dostarlimab e CRC

Sulla scorta degli ottimi risultati ottenuti nel trattamento del carcinoma endometriale, si è pensato di estendere l'utilizzo del dostarlimab nel trattamento di altri tumori solidi dMMR/MSI-H. In tal senso, nel 2019 veniva aperto uno studio di Fase II (NCT04165772), a singolo braccio, non randomizzato che valutava dostarlimab in pazienti con varie patologie tumorali del tipo dMMR/MSI-H, tra i quali 12 erano affetti da CRC. [19]

Le analisi pubblicate da Cercek et al. nel 2022 dimostravano che dostarlimab fosse in grado di indurre risposte cliniche complete nel CRC dMMR/MSI-H, aprendo così la possibilità della preservazione dell'organo, evitando quindi la chirurgia e la radioterapia. Vengono così poste le basi per lo sviluppo di studi randomizzati successivi, quali l'AZUR-1 e l'AZUR-2, che verranno descritti di seguito. [19]

#### 3.6.1.1 AZUR-1

Il trial AZUR-1, tutt'ora in corso, è stato progettato per confermare i risultati osservati nello studio NCT04165772, quindi si tratta di uno studio confirmatorio. Nello specifico AZUR-1 è un trial internazionale di Fase II, a braccio singolo, *open label*, non randomizzato che valuta

l'utilizzo di dostarlimab in monoterapia in pazienti non trattati in precedenza. Circa 150 pazienti, in 10 diversi paesi, ricevono 500 mg di dostarlimab per via endovenosa ogni 3 settimane, per un totale di 9 cicli, oppure fino a progressione o tossicità inaccettabile. L'*endpoint* primario è cCR12 (*clinical Complete Response*), cioè l'ottenimento di una risposta clinica completa mantenuta per 12 mesi. Tra gli *endpoint* secondari figura invece *Overall Survival* a cinque anni, cCR a 24 e 36 mesi. È inoltre previsto un *follow-up* prolungato fino a 5 anni. [59]

### 3.6.1.2 AZUR-2

È uno studio clinico di Fase III, ancora in corso d'opera, caratterizzato da un disegno, randomizzato ed *open-label*, progettato per valutare l'efficacia della monoterapia perioperatoria con dostarlimab nei pazienti CRC dMMR/MSI-H. Il razionale per l'utilizzo di dostarlimab in queste condizioni deriva dai risultati ottenuti negli studi precedenti, ovvero nel trial GARNET (in cui il farmaco ha mostrato un tasso di risposta del 43,5% nei tumori solidi dMMR avanzati [55]), e nel trial NCT04165772 in cui sono state riportate risposte cliniche complete nel 100% dei pazienti trattati, con sopravvivenza libera da recidiva del 96% a due anni senza la necessità di ricorrere a chemioterapia, radioterapia o chirurgia. [19]

Lo studio prevede l'arruolamento di circa 711 pazienti, randomizzati con rapporto 2:1 tra trattamento perioperatorio con dostarlimab e terapia standard (protocollo FOLFOX). Nel braccio sperimentale, i pazienti ricevono 500 mg di dostarlimab ogni 3 settimane per 4 cicli, seguito da chirurgia e successivamente 1000 mg di dostarlimab ogni 6 settimane per 6 cicli. Nel braccio di controllo, invece, i pazienti sono sottoposti a chirurgia immediata, seguita da chemioterapia adiuvante con schema FOLFOX. [60]

L'*endpoint* primario è l'*Event-Free Survival* (EFS), definito come il tempo intercorrente fino alla comparsa di recidiva, il tempo intercorrente alla progressione che renda non eseguibile l'intervento chirurgico e il tempo intercorrente a tossicità tali da impedire l'esecuzione della chirurgia oppure il tempo intercorrente alla morte per qualsiasi causa. [60]

L'analisi primaria è prevista dopo circa tre anni di *follow-up*, mentre il completamento dello studio è atteso nel 2030.

Al momento della stesura di questo elaborato, i risultati degli studi AZUR-1 e AZUR-2 non sono ancora disponibili. Di conseguenza, qualsiasi affermazione sull'efficacia del dostarlimab rispetto alla terapia standard dev'essere intesa in termini prospettici e non definitivi. [56]

In attesa dei risultati degli studi di Fase II e di Fase III, il dostarlimab può essere considerato come una terapia molto promettente ma ancora in fase di consolidamento, motivo per cui la sua integrazione definitiva nei protocolli di trattamento del CRC richiede ancora conferme. [57]

## 4. CONCLUSIONI

Il CRC rappresenta una delle principali sfide nell'oncologia moderna, sia per la sua elevata incidenza a livello globale, sia per la complessità biologica che lo caratterizza. Per anni la gestione terapeutica si è basata sull'utilizzo di strategie che prevedevano chirurgia, chemioterapia e radioterapia, che hanno consentito miglioramenti della patologia, anche se spesso limitati, ma che avevano un impatto significativo sulla qualità di vita dei pazienti. Prima dell'introduzione degli inibitori di PD-1, la prima linea di trattamento del carcinoma colorettales metastatico era dominata dalla chemioterapia combinata con farmaci biologici anti-EGFR o anti-VEGF. Sebbene tali approcci abbiano migliorato la sopravvivenza, la malattia metastatica rimaneva sostanzialmente incurabile nella maggior parte dei casi. [4,5]

Negli ultimi anni, però, la comprensione di meccanismi molecolari alla base della cancerogenesi colorettales ha permesso di identificare sottogruppi biologicamente distinti, tra cui tumori caratterizzati da deficit del sistema di *mismatch repair* (dMMR) e da instabilità dei microsatelliti (MSI-H). Questa scoperta è stata fondamentale per lo sviluppo dell'immunoterapia oncologica, che è diventata, nell'ultimo periodo, il modello terapeutico di riferimento. [17]

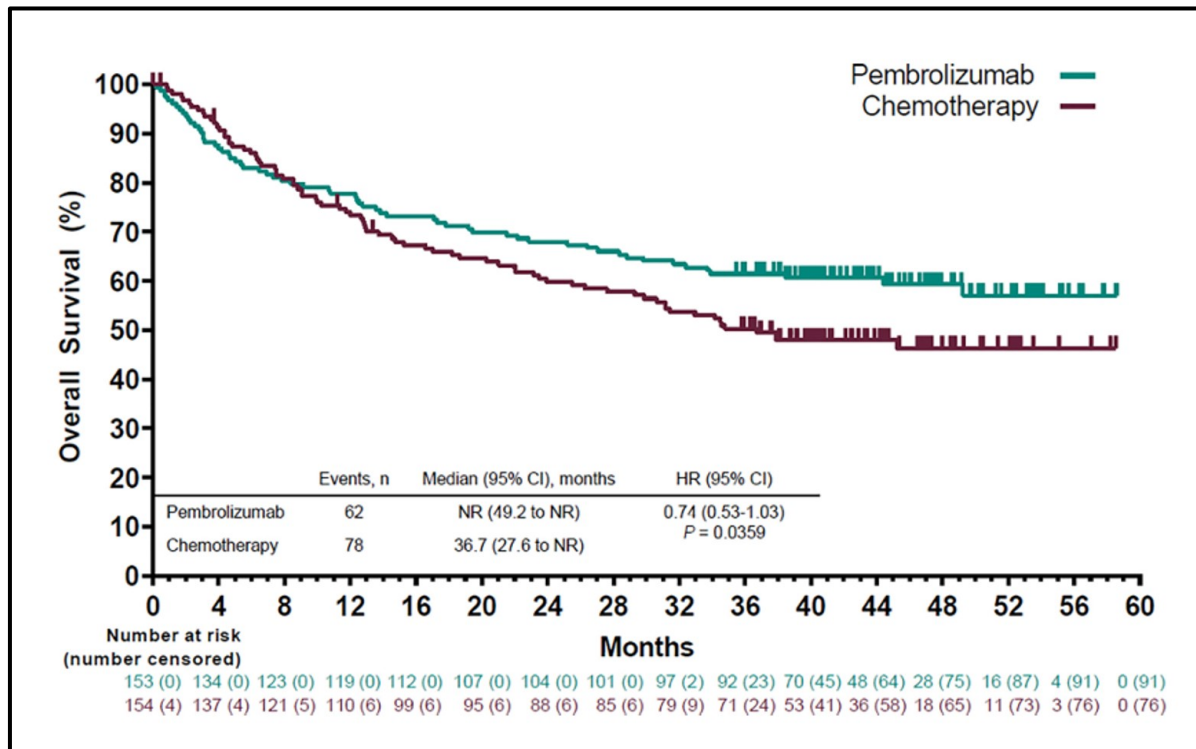
L'obiettivo, nella stesura di questo elaborato, era quello di analizzare criticamente il ruolo degli inibitori dei *checkpoint immunitari* nel trattamento del CRC dMMR/MSI-H, prestando particolare attenzione ai principali farmaci ad oggi disponibili o in fase avanzata di studio, ovvero pembrolizumab, nivolumab, nivolumab in associazione a ipilimumab e il più recente dostarlimab. L'analisi delle evidenze cliniche disponibili permette di delineare un quadro molto positivo, anche se complesso e ancora in evoluzione, che sta progressivamente ridefinendo le strategie terapeutiche nel CRC dMMR/MSI-H.

### ***4.1 Sintesi dei risultati con pembrolizumab***

Tra le molecole analizzate, pembrolizumab rappresenta quella che ha determinato il cambiamento più radicale nella pratica clinica.

Lo studio KEYNOTE-177 ha segnato una svolta storica, dimostrando per la prima volta la superiorità dell'immunoterapia rispetto alla chemioterapia classica in pazienti con CRC dMMR/MSI-H. Tale risultato ha avuto enormi implicazioni cliniche, dal momento che ha modificato lo standard terapeutico.

I primi risultati ottenuti con pembrolizumab possono essere riassunti in alcuni punti chiave: il beneficio in termini di PFS; l'incremento della DoR; il miglior profilo di tossicità rispetto alla chemioterapia; il miglioramento della qualità di vita.



**FIGURA 7 Overall Survival stimata con metodo Kaplan-Meyer nello studio KEYNOTE-177: pembrolizumab confrontato con chemioterapia in prima linea nel CRC metastatico dMMR/MSI-H. [28]**

Si può quindi affermare che pembrolizumab ha trasformato la strategia terapeutica passando da un approccio citotossico ad uno immunomodulante. [28]

#### **4.2 Sintesi dei risultati con nivolumab**

Nivolumab ha permesso di ampliare le opzioni terapeutiche nella prospettiva di un maggior utilizzo degli anticorpi monoclonali anti-PD-1.

I dati degli studi clinici hanno evidenziato le risposte clinicamente significative ottenute da nivolumab, anche in pazienti pretrattati. Questo ha permesso di estendere l'immunoterapia all'utilizzo anche in pazienti già sottoposti a trattamenti precedenti e non solo in prima linea.

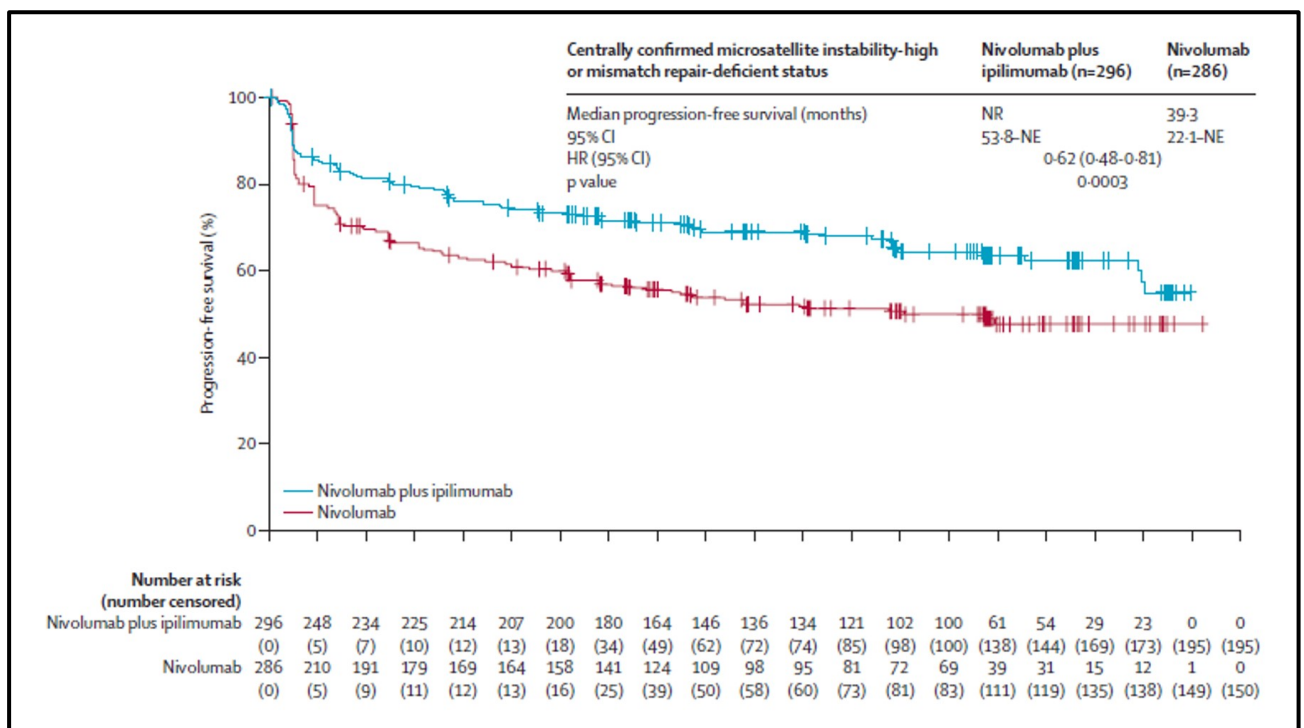
Tra gli aspetti più rilevanti emergono le risposte durature nel tempo, il beneficio clinico in pazienti pretrattati e il profilo di sicurezza.

Nivolumab si è quindi consolidato come opzione efficace nelle linee successive alla prima, contribuendo a ridefinire l'iter terapeutico. [34]

È stata poi analizzata l'associazione di nivolumab con ipilimumab (anti-CTLA-4), che diventa una strategia di doppio blocco dei *checkpoint* immunitari che mira a potenziare ulteriormente la risposta. Ipilimumab agisce nelle fasi precoci dell'attivazione linfocitaria (contro CTLA-4), mentre nivolumab agisce nelle fasi effettrici (contro PD-1). Questa sinergia consente un'attivazione più ampia e profonda della risposta immunitaria. [35]

I risultati clinici che emergono da tale combinazione di farmaci indicano un aumento dell'ORR, una maggiore DoR, una migliore PFS rispetto che a nivolumab in monoterapia.

Questi benefici clinici sono però accompagnati da un aumento della tossicità immuno-correlata, che rende necessaria un'accurata selezione dei pazienti a cui poter somministrare l'associazione. [35]



**FIGURA 8** PFS stimata con metodo Kaplan-Meier nello studio CheckMate 8HW: nivolumab + ipilimumab confrontato con nivolumab in monoterapia in pazienti con CRC metastatico dMMR/MSI-H. [35]

### ***4.3 Sintesi dei risultati con dostarlimab***

Dostarlimab rappresenta la frontiera più recente dell'immunoterapia del CRC. I risultati riportati negli studi di Fase I sono straordinari e suggeriscono la possibilità di evitare strategie chirurgiche in pazienti selezionati. Questo rappresenta un cambiamento potenzialmente rivoluzionario ed è una delle prospettive più innovative. Rimane il fatto che le evidenze di tali risultati emergono da studi preliminari e sono ancora in corso *trial* di Fase II e di Fase III.

### ***4.4 Confronto complessivo tra i farmaci***

Dall'analisi comparativa dei farmaci citati sopra si può affermare che l'immunoterapia si sta progressivamente estendendo lungo le diverse fasi della malattia: dalla prima linea metastatica con pembrolizumab, alle linee successive con nivolumab, alle strategie di intensificazione con l'associazione nivolumab + ipilimumab, fino alle prospettive future con dostarlimab.

In tutti i farmaci sono emersi aspetti incoraggianti per quanto riguarda la DoR, una miglior tollerabilità rispetto alla chemioterapia, il miglioramento della qualità di vita e la possibilità di avere una cronicizzazione della malattia, dato che in alcuni pazienti è stato osservato un controllo prolungato della patologia.

### ***4.5 Criticità riscontrate***

Nonostante gli ottimi e incoraggianti risultati persistono alcune criticità che riguardano la quota di pazienti che non risponde al trattamento, meccanismi di resistenza non completamente chiari, tossicità immuno-correlate, la mancanza di biomarcatori addizionali predittivi di risposta, dal momento che anche se dMMR/MSI-H è un ottimo biomarcatore non è sufficiente a spiegare tutta la variabilità di risposta.

### ***4.6 Prospettive future***

È evidente quindi che l'immunoterapia abbia trasformato profondamente la gestione del carcinoma del colon-retto dMMR/MSI-H e che i risultati ottenuti negli ultimi anni rappresentino importanti rivoluzioni dell'oncologia moderna.

Le principali prospettive della ricerca sono volte all'identificazione di nuovi biomarcatori predittivi, all'individuazione di nuove ed efficaci combinazioni terapeutiche e alla scoperta di nuovi *checkpoint* immunitari.

Il futuro sarà quindi orientato verso strategie sempre più personalizzate, con l'obiettivo di ampliare ulteriormente i benefici dell'immunoterapia e di migliorare la prognosi dei pazienti.

## BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. Roshandel G, Ghasemi-Kebria F, Malekzadeh R. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers (Basel)*. 2024 Apr 17;16(8):1530. doi: 10.3390/cancers16081530. PMID: 38672612; PMCID: PMC11049480.
2. Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*. 2019;14(2):89-103. doi: 10.5114/pg.2018.81072. Epub 2019 Jan 6. PMID: 31616522; PMCID: PMC6791134.
3. Venugopal A, Carethers JM. Epidemiology and biology of early onset colorectal cancer. *EXCLI J*. 2022 Jan 7;21:162-182. doi: 10.17179/excli2021-4456. PMID: 35221839; PMCID: PMC8859644.
4. Matsuda T, Fujimoto A, Igarashi Y. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Public Health Strategies. *Digestion*. 2025;106(2):91-99. doi: 10.1159/000543921. Epub 2025 Feb 12. PMID: 39938491.
5. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers (Basel)*. 2021 Apr 22;13(9):2025. doi: 10.3390/cancers13092025. PMID: 33922197; PMCID: PMC8122718.
6. Abdullah M, Sukartini N, Nursyirwan SA, Pribadi RR, Maulahela H, Utari AP, Muzellina VN, Wiraatmadja A, Renaldi K. Gut Microbiota Profiles in Early- and Late-Onset Colorectal Cancer: A Potential Diagnostic Biomarker in the Future. *Digestion*. 2021;102(6):823-832. doi: 10.1159/000516689. Epub 2021 Aug 25. PMID: 34433172.
7. Lewandowska A, Rudzki G, Lewandowski T, Strykowska-Góra A, Rudzki S. Risk Factors for the Diagnosis of Colorectal Cancer. *Cancer Control*. 2022 Jan-Dec;29:10732748211056692. doi: 10.1177/10732748211056692. PMID: 35000418; PMCID: PMC8753079.
8. Akimoto N, Ugai T, Zhong R, Hamada T, Fujiyoshi K, Giannakis M, Wu K, Cao Y, Ng K, Ogino S. Rising incidence of early-onset colorectal cancer - a call to action. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021 Apr;18(4):230-243. doi: 10.1038/s41571-020-00445-1. Epub 2020 Nov 20. PMID: 33219329; PMCID: PMC7994182.
9. Abedizadeh R, Majidi F, Khorasani HR, Abedi H, Sabour D. Colorectal cancer: a comprehensive review of carcinogenesis, diagnosis, and novel strategies for classified treatments. *Cancer Metastasis Rev*. 2024 Jun;43(2):729-753. doi: 10.1007/s10555-023-10158-3. Epub 2023 Dec 19. PMID: 38112903.
10. Biller LH, Schrag D. Diagnosis and Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: A Review. *JAMA*. 2021 Feb 16;325(7):669-685. doi: 10.1001/jama.2021.0106. PMID: 33591350.
11. National Cancer Institute. Colon cancer treatment (PDQ®)—health professional version [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute; [cited 2025 Oct 8]. Available from: <https://www.cancer.gov/types/colorectal/hp/colon-treatment-pdq>
12. AIGO Lombardia. Solo il 40% degli invitati effettua lo screening salvavita per il tumore del colon-retto. *Gazzetta della Lombardia*. Available from: <https://www.gazzettadellalombardia.com/aigo-in-lombardia-solo-il-40-degli-invitati-effettua-lo-screening-salvavita> Accessed 2025 Oct 8
13. Benson AB, et al. Colon Cancer, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19(3):329–359.
14. Van Cutsem E, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(8):1386–1422.

15. André T, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med.* 2004;350(23):2343–2351.
16. André T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, Smith D, Garcia-Carbonero R, Benavides M, Gibbs P, de la Fouchardiere C, Rivera F, Elez E, Bendell J, Le DT, Yoshino T, Van Cutsem E, Yang P, Farooqui MZH, Marinello P, Diaz LA Jr; KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *N Engl J Med.* 2020 Dec 3;383(23):2207-2218. doi: 10.1056/NEJMoa2017699. PMID: 33264544.
17. Eso Y, Shimizu T, Takeda H, Takai A, Marusawa H. Microsatellite instability and immune checkpoint inhibitors: toward precision medicine against gastrointestinal and hepatobiliary cancers. *J Gastroenterol.* 2019.
18. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz HJ, Morse MA et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2017 Sep;18(9):1182-1191. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30422-9. Epub 2017 Jul 19. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2017 Sep;18(9):510. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30638-1. PMID: 28734759; PMCID: PMC6207072.
19. Cercek A, Lumish M, Sinopoli J, Weiss J, Shia J, Lamendola-Essel M et al. PD-1 Blockade in Mismatch Repair-Deficient, Locally Advanced Rectal Cancer. *N Engl J Med.* 2022 Jun 23;386(25):2363-2376. doi: 10.1056/NEJMoa2201445. Epub 2022 Jun 5. PMID: 35660797; PMCID: PMC9492301.
20. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunol Rev.* 2017 Mar;276(1):80-96. doi: 10.1111/imr.12519. PMID: 28258692; PMCID: PMC5338468.
21. Yeo J, Ko M, Lee DH, Park Y, Jin HS. TIGIT/CD226 Axis Regulates Anti-Tumor Immunity. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021 Feb 28;14(3):200. doi: 10.3390/ph14030200. PMID: 33670993; PMCID: PMC7997242.
22. European Medicines Agency. Keytruda (pembrolizumab): European public assessment report (EPAR) [Internet]. Amsterdam: European Medicines Agency; [cited 2025 Nov 10]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/keytruda>
23. Kang SP, Gergich K, Lubiniecki GM, de Alwis DP, Chen C, Tice MAB, Rubin EH. Pembrolizumab KEYNOTE-001: an adaptive study leading to accelerated approval for two indications and a companion diagnostic. *Ann Oncol.* 2017 Jun 1;28(6):1388-1398. doi: 10.1093/annonc/mdx076. PMID: 30052728; PMCID: PMC5452070.
24. DrugBank Online. Pembrolizumab (DB09037) [Internet]. Edmonton (AB): DrugBank; [cited 2025 Nov 11]. Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09037>
25. Scapin G, Yang X, Prosis WW, McCoy M, Reichert P, Johnston JM, Kashi RS, Strickland C. Structure of full-length human anti-PD1 therapeutic IgG4 antibody pembrolizumab. *Nat Struct Mol Biol.* 2015 Dec;22(12):953-8. doi: 10.1038/nsmb.3129. Epub 2015 Nov 23. PMID: 26595420.
26. StatPearls Publishing. Pembrolizumab [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cited 2025 Nov 11]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538173/>
27. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2020 Jan

- 1;38(1):11-19. doi: 10.1200/JCO.19.02107. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31725351; PMCID: PMC7031958.
28. Diaz LA Jr, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C et al. KEYNOTE-177 Investigators. Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer (KEYNOTE-177): final analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2022 May;23(5):659-670. doi: 10.1016/S1470-2045(22)00197-8. Epub 2022 Apr 12. PMID: 35427471; PMCID: PMC9533375.
  29. Andre T, Shiu KK, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt CJA, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy in microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: 5-year follow-up from the randomized phase III KEYNOTE-177 study. *Ann Oncol.* 2025 Mar;36(3):277–284. doi:10.1016/j.annonc.2024.11.012.
  30. Elez E, Popova N, McCarthy G, Massaad R, et al. Quality-adjusted time without symptoms of disease or toxicity (Q-TWiST) analysis of pembrolizumab (pembro) versus chemotherapy (chemo) in microsatellite instability–high (MSI-H)/mismatch repair–deficient (dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC) in the KEYNOTE-177 trial. *J Clin Oncol.* 2025;43(16\_suppl):3631. doi:10.1200/JCO.2025.43.16\_suppl.3631.
  31. Hawi G, Kim PS, Lee PP. Optimisation of neoadjuvant pembrolizumab therapy for locally advanced MSI-H/dMMR colorectal cancer using data-driven delay integro-differential equations. arXiv [Preprint]. 2024 Nov 18; arXiv:2411.12123. doi:10.48550/arXiv.2411.12123.
  32. Lee JH, Liu L, Hsu JJ, et al. High-resolution crystal structure of pembrolizumab bound to PD-1. *Sci Rep.* 2016;6:35297.
  33. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010 Jul 1;28(19):3167-75. doi: 10.1200/JCO.2009.26.7609. Epub 2010 Jun 1. PMID: 20516446; PMCID: PMC4834717.
  34. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(8):773-779. doi:10.1200/JCO.2017.76.9901. PMID: 29355075.
  35. André T, Elez E, Lenz HJ, Jensen LH, Toucheffeu Y, Van Cutsem E et al. Nivolumab plus ipilimumab versus nivolumab in microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer (CheckMate 8HW): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2025 Feb 1;405(10476):383-395. doi: 10.1016/S0140-6736(24)02848-4. Epub 2025 Jan 25. Erratum in: *Lancet.* 2025 Mar 1;405(10480):700. doi: 10.1016/S0140-6736(25)00352-6. PMID: 39874977.
  36. Torrente-López A, Hermosilla J, Salmerón-García A, Cabeza J, Navas N. Comprehensive Analysis of Nivolumab, A Therapeutic Anti-Pd-1 Monoclonal Antibody: Impact of Handling and Stress. *Pharmaceutics.* 2022 Mar 23;14(4):692. doi: 10.3390/pharmaceutics14040692. PMID: 35456527; PMCID: PMC9025134.
  37. Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade. *N Engl J Med.* 2018 Jan 11;378(2):158-168. doi: 10.1056/NEJMra1703481. PMID: 29320654.

38. Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med*. 1995 Aug 1;182(2):459-65. doi: 10.1084/jem.182.2.459. PMID: 7543139; PMCID: PMC2192127.
39. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 2018 Mar 23;359(6382):1350-1355. doi: 10.1126/science.aar4060. Epub 2018 Mar 22. PMID: 29567705; PMCID: PMC7391259.
40. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob JJ, Cowey Clet al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med*. 2017 Oct 5;377(14):1345-1356. doi: 10.1056/NEJMoa1709684. Epub 2017 Sep 11. Erratum in: *N Engl J Med*. 2018 Nov 29;379(22):2185. doi: 10.1056/NEJMx180040. PMID: 28889792; PMCID: PMC5706778.
41. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):56-61. doi: 10.1126/science.aaa8172. PMID: 25838373.
42. Llosa NJ, Cruise M, Tam A, Wicks EC, Hechenbleikner EM, Taube JM et al. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints. *Cancer Discov*. 2015 Jan;5(1):43-51. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0863. Epub 2014 Oct 30. PMID: 25358689; PMCID: PMC4293246.
43. Tison A, Quéré G, Misery L, Funck-Brentano E, Danlos FX, Routier E, et al. Safety and Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Patients With Cancer and Preexisting Autoimmune Disease: A Nationwide, Multicenter Cohort Study. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Dec;71(12):2100-2111. doi: 10.1002/art.41068. Epub 2019 Oct 21. PMID: 31379105.
44. Brahmer JR, Lacchetti C, Schneider BJ, Atkins MB, Brassil KJ, Caterino JM et al. Management of Immune-Related Adverse Events in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2018 Jun 10;36(17):1714-1768. doi: 10.1200/JCO.2017.77.6385. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29442540; PMCID: PMC6481621.
45. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell*. 2015 Apr 9;161(2):205-14. doi: 10.1016/j.cell.2015.03.030. PMID: 25860605; PMCID: PMC5905674.
46. Costa B, Vale N. Dostarlimab: A Review. *Biomolecules*. 2022 Jul 26;12(8):1031. doi: 10.3390/biom12081031. PMID: 35892341; PMCID: PMC9331682.
47. Wang M, Wang J, Wang R, Jiao S, Wang S, Zhang J, Zhang M. Identification of a monoclonal antibody that targets PD-1 in a manner requiring PD-1 Asn58 glycosylation. *Commun Biol*. 2019 Oct 25;2:392. doi: 10.1038/s42003-019-0642-9. PMID: 31667366; PMCID: PMC6814707.
48. Oaknin A, Tinker AV, Gilbert L, Samouëlian V, Mathews C, Brown J et al. Clinical Activity and Safety of the Anti-Programmed Death 1 Monoclonal Antibody Dostarlimab for Patients With Recurrent or Advanced Mismatch Repair-Deficient Endometrial Cancer: A Nonrandomized Phase 1 Clinical Trial. *JAMA Oncol*. 2020 Nov 1;6(11):1766-1772. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.4515. PMID: 33001143; PMCID: PMC7530821.
49. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 2017 Jul 28;357(6349):409-413. doi: 10.1126/science.aan6733. Epub 2017 Jun 8. PMID: 28596308; PMCID: PMC5576142.
50. Gatalica Z, Vranic S, Xiu J, Swensen J, Reddy S. High microsatellite instability (MSI-H) colorectal carcinoma: a brief review of predictive biomarkers in the era of personalized

- medicine. *Fam Cancer*. 2016 Jul;15(3):405-12. doi: 10.1007/s10689-016-9884-6. PMID: 26875156; PMCID: PMC4901118.
51. Bai Z, Zhou Y, Ye Z, Xiong J, Lan H, Wang F. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Colorectal Cancer: The Fundamental Indication and Application on Immunotherapy. *Front Immunol*. 2022 Jan 14;12:808964. doi: 10.3389/fimmu.2021.808964. PMID: 35095898; PMCID: PMC8795622.
  52. Geraud A, Gougis P, Vozy A, Anquetil C, Allenbach Y, Romano E et al. Clinical Pharmacology and Interplay of Immune Checkpoint Agents: A Yin-Yang Balance. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2021 Jan 6;61:85-112. doi: 10.1146/annurev-pharmtox-022820-093805. Epub 2020 Sep 1. PMID: 32871087.
  53. Oaknin A, Tinker AV, Gilbert L, Samouëlian V, Mathews C, Brown J et al. Clinical activity and safety of the anti-PD-1 monoclonal antibody dostarlimab for patients with recurrent or advanced dMMR endometrial cancer. *Future Oncol*. 2021 Oct 1;17(29):3781-3785. doi: 10.2217/fon-2021-0598. Epub 2021 Aug 24. PMID: 34427115.
  54. Champiat S, Lambotte O, Barreau E, Belkhir R, Berdelou A, Carbonnel F et al. Management of immune checkpoint blockade dysimmune toxicities: a collaborative position paper. *Ann Oncol*. 2016 Apr;27(4):559-74. doi: 10.1093/annonc/mdv623. Epub 2015 Dec 28. PMID: 26715621.
  55. Oaknin A, Gilbert L, Tinker AV, Brown J, Mathews C, Press J et al. Safety and antitumor activity of dostarlimab in patients with advanced or recurrent DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability-high (dMMR/MSI-H) or proficient/stable (MMRp/MSS) endometrial cancer: interim results from GARNET-a phase I, single-arm study. *J Immunother Cancer*. 2022 Jan;10(1):e003777. doi: 10.1136/jitc-2021-003777. PMID: 35064011; PMCID: PMC8785197.
  56. Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK, Van den Berg JG, Aalbers AG, Sikorska K et al. Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers. *Nat Med*. 2020 Apr;26(4):566-576. doi: 10.1038/s41591-020-0805-8. Epub 2020 Apr 6. PMID: 32251400.
  57. Sanmamed MF, Chen L. A Paradigm Shift in Cancer Immunotherapy: From Enhancement to Normalization. *Cell*. 2018 Oct 4;175(2):313-326. doi: 10.1016/j.cell.2018.09.035.
  58. Mi M, Ye C, Yuan Y. Neoadjuvant PD-1 blockade: a promising nonoperative strategy for mismatch repair-deficient, locally advanced rectal cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7:361. doi:10.1038/s41392-022-01216-3.
  59. Cercek A, Bachet JB, Capdevila J, Starling N, Chen E, Salvatore L et al. A Phase Two, Single-Arm, Open-Label Study With Dostarlimab Monotherapy in Participants With Untreated Stage II/III dMMR/MSI-H Locally Advanced Rectal Cancer (AZUR-1). *Clin Colorectal Cancer*. 2025 Jun;24(2):325-330. doi: 10.1016/j.clcc.2025.02.003. Epub 2025 Feb 21. PMID: 40107952.
  60. Starling N, Elez E, Strickler JH, Benson A, Oki E, Mendez G et al. A Phase III study of perioperative dostarlimab in patients with dMMR/MSI-H resectable colon cancer: AZUR-2 study design. *Future Oncol*. 2026 Jan;22(2):137-145. doi: 10.1080/14796694.2025.2606910. Epub 2026 Jan 6. PMID: 41492912; PMCID: PMC12802981.

## RINGRAZIAMENTI

*Siamo finalmente giunti alla fine di questo percorso, e dico “siamo”, perché questo traguardo non lo taglio da sola, ma insieme a chi mi ha accompagnato e sostenuto lungo il cammino. È doveroso quindi ricordare e ringraziare tutti coloro che mi sono stati accanto.*

*Il primo ringraziamento è per i miei genitori. Grazie perché, se sono arrivata fino a qui, lo devo a voi e ai vostri sacrifici. Se oggi ho il privilegio di sentirmi una persona realizzata è grazie all'amore e al sostegno che mi avete sempre donato, spesso in silenzio e con discrezione, ma con una presenza autentica, la più importante. Grazie per avermi cresciuta libera e indipendente e per aver sempre compreso e rispettato le mie decisioni, che, anche se non sempre convenzionali, mi hanno portato a diventare la persona che sono oggi. Vi voglio bene.*

*A Silvia, la mia compagna in questa grande avventura universitaria. Tu il blu e io il rosa, tu la notte e io il giorno, due opposti che si completano e che, insieme, fanno anche sempre un gran casino. Grazie per essere stata al mio fianco fin dal primo giorno, per le risate condivise, per le sessioni di studio insieme, per essere stata la spalla su cui piangere e per avermi spronato nei momenti più difficili. Ma soprattutto, grazie per essere diventata un'amica per la vita. Non ce l'avrei mai fatta senza di te.*

*A Elena, Fabio e Guido, ormai non più semplici colleghi ma veri amici. Grazie per avermi mostrato cosa significhi davvero essere un farmacista, con le difficoltà ma soprattutto con le soddisfazioni di questa professione. Grazie per aver riconosciuto in me le qualità per diventare una brava farmacista e perché tutto ciò che ho imparato di questo lavoro lo devo a voi.*

*Grazie a Beatrice, compagna di studio e di tanti viaggi in treno, per le ore passate sui libri, per gli audio infiniti e per i tuoi immancabili aggiornamenti sull'oroscopo. Condividere con te questo percorso universitario lo ha reso ancora più speciale e decisamente più leggero.*

*Tanta gratitudine va agli amici di una vita, Erika, Simona, Gianluca e Massimiliano, per la vostra presenza costante e per tutti i momenti condivisi in questa meravigliosa avventura che è la vita.*

*Ultimo, ma assolutamente non per importanza, il ringraziamento più sentito va a Francesco. Grazie per avermi supportato, ma soprattutto sopportato, in questi anni. In te ho trovato il mio più grande sostenitore: hai gioito con me nei momenti felici e asciugato le mie lacrime nei momenti di crisi. Mi hai sempre spronato a dare il meglio di me e senza di te questo risultato non sarebbe stato lo stesso. Ti sono infinitamente grata. Sei la mia casa, la mia famiglia, il mio porto sicuro. Non vedo l'ora di scoprire cosa ha in serbo la vita per noi.*