

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE
“AMEDEO AVOGADRO”**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

***“Mesotelioma Pleurico Maligno:
dall'analisi del microambiente tumorale allo sviluppo di nuovi approcci
terapeutici”***

Relatore

Prof.ssa Chiara Porta

Candidata

Giulia Maria Hettinga

Anno Accademico 2022/2023

Sessione Straordinaria

*Ai miei genitori Anna Rita e Brad,
se sono arrivata qui è grazie a voi.*

Indice

Indice

| | |
|---|-----------|
| INTRODUZIONE | 9 |
| SINTOMI E DIAGNOSI | 12 |
| FATTORI PROGNOSTICI | 14 |
| SOTTOTIPI DI MESOTELIOMA PLEURICO MALIGNO | 15 |
| MESOTELIOMA EPITELIOIDE | 15 |
| MESOTELIOMA SARCOMATOIDE | 17 |
| MESOTELIOMA BIFASICO | 18 |
| EZIOLOGIA | 20 |
| AMIANTO | 21 |
| CARATTERISTICHE E PROPRIETÀ | 21 |
| CONTATTO E MECCANISMO D'AZIONE | 22 |
| PATOLOGIE CORRELATE ALL'ESPOSIZIONE DA AMIANTO | 22 |
| I DEPOSITI DI AMIANTO, IL LORO UTILIZZO E LE SUCCESSIVE RESTRIZIONI | 24 |
| ESPOSIZIONE ALL'AMIANTO IN ITALIA | 25 |
| MINERALI SIMILI ALL'AMIANTO | 32 |
| PATOGENESI | 35 |
| • CDKN2A | 37 |
| • BAP1 | 38 |
| • NF2 | 38 |
| • LATS1/2 E PD-L1 | 38 |
| • P14/ARF | 38 |
| • NF-κB | 39 |
| IL MICROAMBIENTE TUMORALE (TME) | 40 |

| | |
|--|-----------|
| CELLULE STAMINALI TUMORALI E CHEMIORESISTENZA | 42 |
| LO STROMA | 43 |
| I MACROFAGI | 46 |
| L'ADENOSINA | 48 |
| L'ANGIOGENESI NEL MESOTELIOMA | 50 |
| TERAPIA DI PRIMA LINEA | 51 |
| TERAPIA MULTIMODALE | 52 |
| CHIRURGIA | 52 |
| CHEMIOTERAPIA | 53 |
| RADIOTERAPIA | 53 |
| TERAPIA PALLIATIVA | 54 |
| NUOVI APPROCCI TERAPEUTICI | 57 |
| PD-1/PD-L1 | 58 |
| VACCINAZIONE CON CELLULE DENDRITICHE | 59 |
| CTLA4 | 59 |
| GROWTH FACTOR PATHWAYS | 60 |
| IL FATTORE DI CRESCITA DELL'ENDOTELIO VASCOLARE (VEGF) | 61 |
| IL FATTORE DI CRESCITA DERIVATO DALLE PIASTRINE (PDGF) | 63 |
| RECETTORE DEL FATTORE DI CRESCITA DELL'EPIDERMIDE (EGFR) | 64 |
| FATTORE DI CRESCITA DEI FIBROBLASTI (FGF) | 65 |
| IL FATTORE DI CRESCITA DEGLI EPATOCITI (HGF) E L'ASSE HGF/MET | 66 |
| INIBITORI MULTI-CHINASI | 67 |
| LA VIA PI3K/Akt/MTOR | 70 |
| LE MUTAZIONI GENOMICHE NEL MM COME TARGET | 70 |
| I SISTEMI CDKN2A/ARF E CDK4/6-CICLIN D1 | 71 |
| NF2 E FAK | 72 |
| BRCA1-ASSOCIATED PROTEIN 1 (BAP1) E IL SISTEMA DI DANNO AL DNA | 73 |
| LE ALTERAZIONI EPIGENETICHE NEL MM COME TARGET | 74 |
| INIBITORI DELLE ISTONE DEACETILASI | 74 |

| | |
|--|------------|
| ENHANCER DI ZESTE HOMOLOG 2 (EZH2) | 75 |
| MESOTELINA | 76 |
| CAR-T | 78 |
| ARGININA | 79 |
| POTENZIALI NUOVI TARGET | 81 |
| AXL | 82 |
| LATTATO DEIDROGENASI (LDH) | 82 |
| TRASPORTATORI DEL GLUCOSIO (GLUT) | 83 |
| CONCLUSIONI | 84 |
| BIBLIOGRAFIA | 86 |
| RINGRAZIAMENTI | 111 |

Abbreviazioni

AACR: American Association for Cancer Research
AC: Adoptive Cell Transfer
ADA: Anti-Drug Antibodies
ADAM: Arginine Deaminase and Mesothelioma
ADO: Adenosine
ADCC: Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity
ADI-PEG20: Arginine Deiminase Pegylated-20
ADP: Adenosine Diphosphate
Akt: protein kinase B
ARF: Alternative Reading Frame
ASCO: American Society of Clinical Oncology
ASS1: Argininosuccinate Synthase 1
BAP1: BRCA-1 Associated Protein-1
bc_r-abl: Breakpoint Cluster Region - Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1
BRCA1: Breast Cancer gene 1
CAR: Chimeric Antigen Receptor
CDK: Cyclin-Dependent Kinase
CDKN2A: Cyclin Dependent Kinase inhibitor 2A
DC: Dendritic Cells
DCR: Disease Control Rate
DM4: Derivative of Maytansine 4
EGF(R): Epidermal Growth Factor (Receptor)
EMT: Epithelial-Mesenchymal Transition
EZH2: Enhancer di Zeste Homolog 2
FAK: Focal Adhesion Kinase
FDA: Food and Drug Administration
FGF(R): Fibroblast Growth Factor (Receptor)
GAS6: Growth Arrest-Specific 6
GLUT: Glucose Transporters
IgG: Immunoglobulin G
IHC: Immunohistochemistry
LDH: Lattate Dehydrogenase
MAP: Mitogen-Activate Protein
MAPK: Mitogen-Activate Protein Kinase
MDM2: Mouse Double Minute 2 Homolog
MEK: Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase
MER: Mer Tyrosine Kinase
MHC: Major Histocompatibility Complex

MM: Malignant Mesothelioma
MSLN: Mesothelin
MTD: Maximum Tolerated Dose
NAE: Nedd8-Activating Enzyme
NCCN: National Comprehensive Cancer Network
NEDD8: Neural Precursor Cell Expressed, Developmentally Down-Regulated 8
NF2: Neurofibromatosis Type 2
NSCLC: Non-Small Cell Lung Cancer
ORR: Overall Response Rate
OS: Overall Survival
PARP: Poly (ADP-ribose) Polymerase
PD1: Programmed cell Death protein 1
PDGF(R): Platelet-Derived Growth Factor (Receptor)
PD-L1: Programmed Death Ligand 1
PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase
PLC: Phospholipase C
PRC2: Polycomb Repressive Complex 2
RB: Retinoblastoma Protein
RAS: Rat sarcoma
RAF: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription
TAM: Tumor Associated Macrophages
TGF(R): Transforming Growth Factor (Receptor)
TME: Tumor Microenvironment
TK: Tyrosine Kinase
VEGF(R): Vascular Endothelial Growth Factor (Receptor)
YAP: Yes-Associated Protein

Introduzione

Il mesotelioma maligno (MM) è un raro tipo di tumore associato all'esposizione professionale o ambientale all'amianto in circa l'80% dei casi¹, è un tumore che si sviluppa dalle membrane sierose che rivestono le cavità corporee, quali torace, addome e pericardio². La pleura è il sito più comune di origine del MM (73-85%), segue il peritoneo (7-18%)³, il pericardio e il testicolo. La prognosi è particolarmente sfavorevole, e la sopravvivenza media per la forma pleurica è di circa 9 mesi dalla diagnosi¹.

Il MM colpisce principalmente gli uomini (rapporto tra uomini e donne di 5:1) con una maggiore prevalenza nelle persone di età superiore a 65 anni⁴. Il rischio di sviluppare il MM aumenta in generale con l'età, a causa del lungo periodo di latenza che segue l'esposizione all'amianto⁵. È un tumore aggressivo che infiltra localmente la parete toracica e il tessuto polmonare. Nelle fasi avanzate della malattia, però si sviluppano anche metastasi a distanza. Infatti, gli studi autoptici hanno evidenziato la presenza di metastasi extrapleuriche in quasi il 90% dei pazienti⁶.

Circa il 70-90% dei casi di MM sono associati all'esposizione alle fibre di amianto⁷. A differenza dei carcinogeni chimici, l'amianto esercita i suoi effetti nel corso di un lungo periodo, il periodo di latenza tra l'esposizione e la diagnosi del MM va dai 10 ai 40 anni⁸. Per questo, nonostante molti paesi occidentali abbiano abolito l'utilizzo dell'amianto negli anni 90, considerando il suo ampio utilizzo nel periodo degli anni '50 - '80 il numero di nuovi casi registrati è in continuo aumento¹. Si stima che tra il 2005 e il 2050 saranno diagnosticati circa 94.000 casi di mesotelioma pleurico maligno e 15.000 casi di mesotelioma peritoneale negli Stati Uniti⁴. La nostra area geografica è considerata un hot spot per il MM. L'incidenza particolarmente elevata è riconducibile alla presenza a Casale Monferrato della ditta Eternit, che dall'inizio del 900 fino alla fine degli anni 80 è stata un grande centro di produzione del cemento-amianto.

La chemioterapia con cis- o carboplatino e pemetrexed è stata l'unica terapia standard approvata come trattamento di prima linea per circa 20 anni, sebbene sia associata a risultati di risposta modesti e a una sopravvivenza complessiva mediana leggermente superiore a 12 mesi⁹. Non è avvenuto alcun significativo avanzamento terapeutico fino all'introduzione dell'immunoterapia e in particolare degli inibitori dei checkpoint immunitari¹⁰. Una proporzione rilevante dei pazienti, però, non risponde all'immunoterapia e ad oggi, non esistono trattamenti approvati come seconda linea di terapia¹¹.

Purtroppo, pur conoscendo l'agendo eziologico, i progressi nella diagnosi e nella terapia del MM sono ancora insoddisfacenti. Il MM resta un tumore dall'esito fatale, per cui la ricerca di nuove linee terapeutiche è un bisogno urgente. Per queste ragioni, questo elaborato è focalizzato sul MM,

partendo dalle conoscenze acquisite in merito ai meccanismi patogenetici che ne guidano lo sviluppo, verranno descritte le linee terapeutiche attualmente disponibili, gli ultimi progressi compiuti e le sfide ancora aperte.

Sintomi e Diagnosi

Il MM solitamente si manifesta come un versamento pleurico persistente senza una evidente spiegazione. Segni che inclinano verso una malattia pleurica maligna anziché benigna comprendono:

- Dolore nella parete toracica;
- Versamento pleurico emorragico;
- Ispessimento pleurico circonflesso che coinvolge la pleura mediastinica, e ispessimento pleurico nodulare evidenziato tramite tomografia computerizzata (CT) con contrasto, la quale rappresenta la principale modalità per la diagnosi radiologica e la stadiazione del MM¹²;
- Noduli multifocali che ricoprono le superfici pleuriche;
- Riduzione del volume polmonare¹³.

Sfortunatamente, quando i sintomi si manifestano, è comune che la malattia sia già in uno stadio avanzato¹⁴.

L'esame citologico del liquido pleurico è spesso la prima, e talvolta l'unica, opportunità per identificare pazienti affetti da MM. La diagnosi citologica da sola è più limitata rispetto alle biopsie tessutali nel poter stabilire sottotipi istologici specifici o il grado del tumore. La sensibilità della citologia per il MM varia dal 30% al 75%, il che significa che una citologia negativa non esclude la patologia¹⁵.

Le caratteristiche citologiche del MM includono:

- Ipercellularità del campione;
- Presenza di frammenti di tessuto;
- Cellule mesoteliali ingrandite con nuclei ingranditi che risultano in rapporti nucleo-citoplasmatici elevati, macro-nucleoli;
- Matrice extracellulare acidofila.

È stato descritto anche il fenomeno della "cellula in una cellula" e protrusioni o bolle di membrana.

I campioni di effusione caratterizzati da cellule maligne spesso richiedono studi di immunocitochimica per confermare la diagnosi. In particolare la perdita di espressione della proteina associata a BRCA1 (BAP1) e della metil-tioadenosina fosforilasi (MTAP) o l'ibridazione fluorescente in situ (FISH) per la delezione del locus contenente CDKN2A, sono i marcatori molecolari più utilizzati per distinguere il MM dalla iperplasia reattiva delle cellule mesoteliali¹⁶.

Ulteriori studi sono però in corso per migliorare la specificità e la sensibilità della diagnosi molecolare e soprattutto, per identificare marcatori precoci capaci di anticipare la diagnosi allo stadio benigno

Fattori prognostici

Gli indicatori prognostici consolidati, come il sottotipo istologico, l'età e il sesso, possono fornire alcune informazioni per predire la sopravvivenza del paziente, ma non ci sono ancora indicatori prognostici molecolari affidabili e specifici per i singoli pazienti. L'Organizzazione Europea per la Ricerca e il Trattamento del Cancro (EORTC) suggerisce che uno stato di salute scadente, leucocitosi, sottotipo sarcomatoide e individui di sesso maschile sono associati a una prognosi peggiore¹⁷. Nel frattempo, lo score CALGB include l'età di 75 anni, l'istologia non epitelioide, LDH 500 UI/L, coinvolgimento pleurico, piastrine 400.000/mm³, dolore toracico e uno stato di salute scadente come fattori prognostici sfavorevoli¹⁸. Altri indici prognostici includono la perdita di peso, i livelli di emoglobina e albumina sierica, o il conteggio dei globuli bianchi¹⁹.

Oltre al suo coinvolgimento nella patogenesi, l'infiammazione sistemica è associata alla sopravvivenza complessiva e alla risposta al trattamento. I fattori associati alla risposta infiammatoria sono associati a una prognosi sfavorevole. Ad esempio, livelli elevati della proteina C-reattiva e dell'albumina, rapporto neutrofili-linfociti (NLR), e la combinazione di piastrine con conteggio dei linfociti sono associati a una sopravvivenza ridotta nei pazienti con vari tipi di tumore, compreso il MM²⁰.

Sottotipi di mesotelioma pleurico maligno

La classificazione OMS del 2021 dei tumori pleurici suddivide il MM in tre sottotipi istologici principali:

- Epitelioide (60%-80%);
- Sarcomatoide (<10%);
- Bifasico (10%-15%).

È fondamentale distinguere tra questi sottotipi a causa delle differenze dipendenti nelle strategie terapeutiche e nelle durate medie di sopravvivenza. Analisi retrospettive basate su ampi set di dati multi-istituzionali mostrano in modo costante che i pazienti con istologia epitelioide hanno le sopravvivenze complessive più lunghe, i pazienti con MM sarcomatoide hanno le sopravvivenze più brevi e i pazienti con MM bifasico presentano una sopravvivenza intermedia²¹.

I MM veramente localizzati sono estremamente rari, mostrano la stessa gamma di sottotipi istologici e sono associati a una sopravvivenza migliore grazie alla possibilità di una completa asportazione chirurgica²².

Mesotelioma epitelioide

Il MM epitelioide è il sottotipo più comune (60%–70%) ed è associato a una prognosi migliore⁵. Dal punto di vista istologico, le cellule tumorali presentano un citoplasma abbondante con confini cellulari ben definiti e una morfologia simile alle cellule epiteliali. I nuclei sono spesso blandi e possono assomigliare a delle cellule mesoteliali reattive con una moderata atipia citologica. I modelli di crescita includono tubulo-papillare, micro-ghiandolare (adenomatoide), acinare e solido (Figure 1A-D)¹⁴. I corpi di psammomatosi sono visibili nelle aree di crescita tubulo-papillare. Le varianti morfologiche del MM epitelioide comprendono la morfologia a cellule chiare, a cellule piccole, deciduali, adenoidi cistici, linfangiomatoidi e a cellule ad anello sigillare, che sollevano ulteriori considerazioni diagnostiche come riassunto nella Tabella 1¹⁴.

Tabella 1: Tabella riassuntiva dei diversi sottotipi di MM e diagnosi differenziale¹⁴.

| Mesothelioma Subtype and Morphologic Variants | Differential Diagnosis |
|--|--|
| Epithelioid mesothelioma (tubulopapillary, acinar, adenomatoid, solid) | Adenocarcinoma, epithelioid hemangioendothelioma, benign mesothelial proliferation |
| Deciduoid | Squamous cell carcinoma |
| Clear cell | Metastatic clear cell renal cell carcinoma |
| Small cell | Small cell carcinoma |
| Lymphangiomatoid | Lymphangioma |
| Pleomorphic | Anaplastic large cell lymphoma |
| Biphasic mesothelioma | Synovial sarcoma, pulmonary blastoma, carcinosarcoma |
| Sarcomatoid mesothelioma | Fibrous pleuritis, sarcomatoid carcinoma, sarcoma, melanoma |
| Desmoplastic | Fibrous pleuritis |
| Lymphohistiocytic | Lymphoma, thymoma |

Il sottotipo pleomorfico del MM epitelioido è caratterizzato da anaplasia e cellule tumorali giganti ed è associato a una prognosi peggiore, simile al MM sarcomatoide²³. La diagnosi differenziale per il MM epitelioido include l'adenocarcinoma polmonare o metastatico, particolarmente quando sono presenti strutture pseudoghiandolari o pseudoacinari. Le caratteristiche istologiche che possono favorire l'adenocarcinoma includono nuclei eccentrici o sovrapposti, cromatina vescicolare, pleomorfismo nucleare aumentato e vacuoli citoplasmatici di mucina. La correlazione tra le manifestazioni cliniche, le peculiarità radiologiche e l'analisi immunohistochimica è importante per tale discriminazione¹⁴.

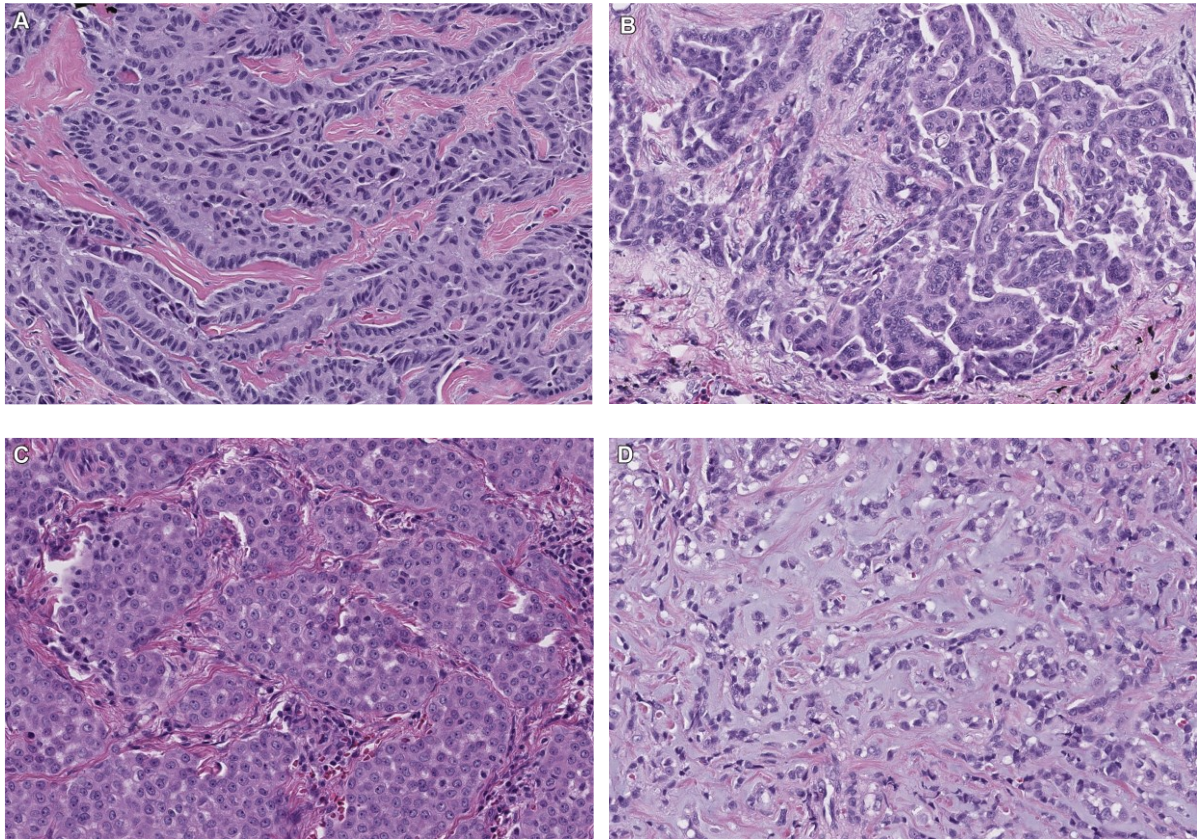


Figura 1: *MM epiteloide.*
 (A, B) *MM epiteloide con modello di crescita tubulopapillare.*
 (C) *MM epiteloide con modello di crescita solido.*
 (D) *MM epiteloide con stroma mixoide e vacuoli citoplasmatici¹⁴.*

Mesotelioma sarcomatoide

Il MM sarcomatoide è caratterizzato dalla proliferazione di cellule fusiformi che infiltrano uno stroma fibroso denso con un modello di crescita disorganizzato (Figure 2A-B). Le cellule fusiformi sono spesso blandamente simili a fibroblasti (Figura 2C), ma possono mostrare una marcata atipia nucleare e ipercromasia (Figura 2D)¹⁴. Le varianti del MM sarcomatoide includono i sottotipi desmoplastico e linfoistiocitico. Il MM desmoplastico è costituito da uno stroma denso, ialinizzato e ricco di collagene con poche cellule fusiformi in un modello di crescita storiforme. Nella variante linfoistiocitica, le cellule mesoteliali mostrano una morfologia simile a quella degli istiociti all'interno di uno stroma denso²⁴. Il MM sarcomatoide mostra una minore propensione al rilascio di cellule tumorali nella cavità pleurica, rendendo l'analisi citologica del versamento pleurico poco utile per la diagnosi. La diagnosi differenziale del MM sarcomatoide mira a escludere la pleurite fibrosa, il carcinoma sarcomatoide, i sarcomi primari e metastatici, e il melanoma metastatico. I fibroblasti possono colorarsi positivamente con le citocheratine nella pleurite fibrosa, il che rappresenta una

possibile insidia. Le caratteristiche che supportano il MM includono l'invasione nei tessuti molli profondi, noduli espansivi, modelli di crescita disorganizzati o storiformi, zonazione, necrosi, marcata atipia nucleare e mitosi atipiche¹⁴

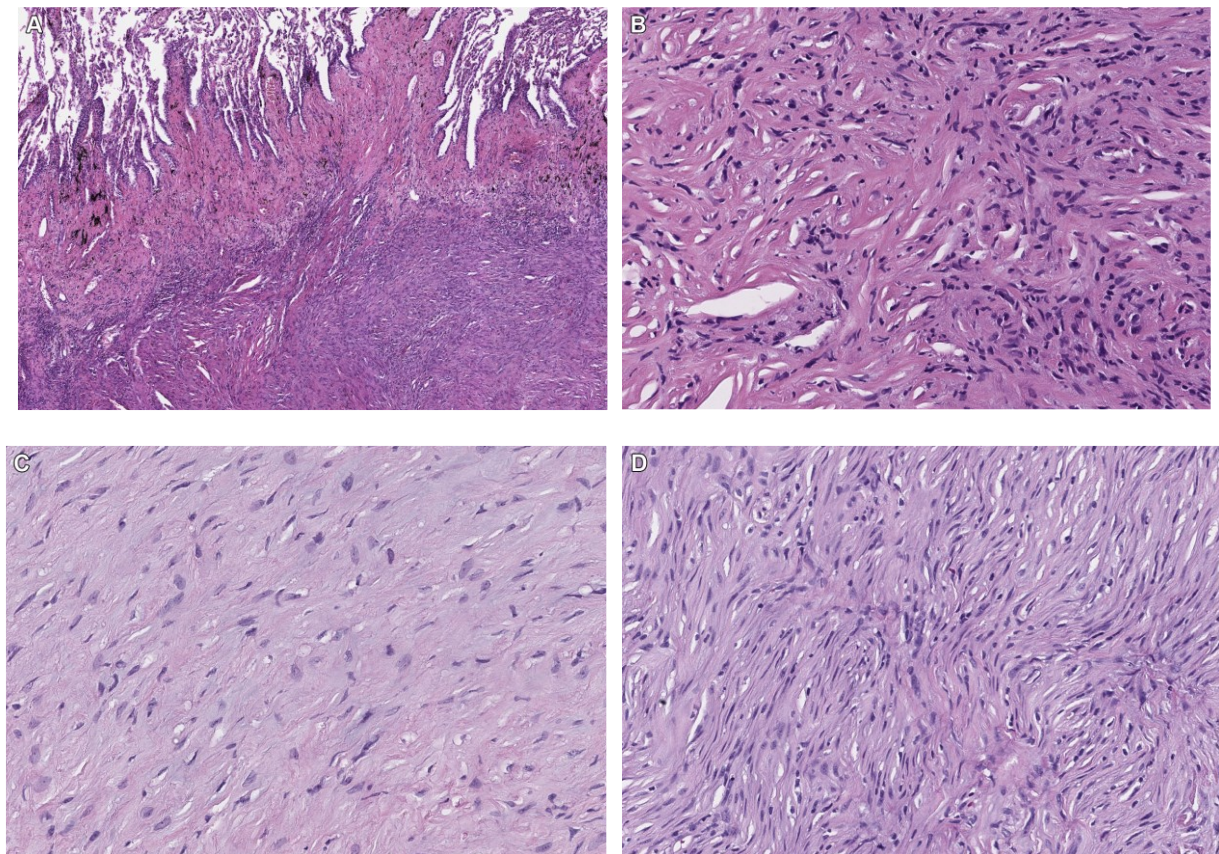


Figura 2: MM sarcomatoide.

- (A) Marcato ispessimento pleurico con polmone aderente.
- (B) Cellule fusate atipiche che infiltrano uno stroma fibroso denso con un modello di crescita disorganizzato.
- (C) Cellule fusate incolori con bassa cellularità le quali vengono spesso confuse per fibroblasti.
- (D) MM sarcomatoide con elevata cellularità e atipia nucleare¹⁴.

Mesotelioma bifasico

Il MM bifasico viene definito come contenente oltre il 10% di entrambi i componenti epitelioide e sarcomatoide (Figure 3A-E), la sopravvivenza può quindi essere correlata con la quantità di componente sarcomatoide presente nel tumore²⁵. Questa diagnosi è di rilevanza clinica, poiché la selezione dei pazienti per l'intervento chirurgico dipende dall'assenza di una componente sarcomatoide, dal volume e dalla possibilità di poter rimuovere completamente il tumore chirurgicamente. Tuttavia, in alcuni casi distinguere un vero componente sarcomatoide da una florida reazione stromale è impegnativo; in altri casi, le caratteristiche sono di transizione tra il MM epitelioide e sarcomatoide. In quest'ultimo scenario si sostiene che i casi ambigui con caratteristiche

di transizione tra il MM epitelioide e sarcomatoide dovrebbero essere considerati un sottotipo distintivo "transizionale". Un panel di 14 patologi ha valutato 42 biopsie di MM bifasico con una moderata concordanza, e le caratteristiche di transizione (focali o diffuse) sono state identificate nel 40% di tutte le diagnosi. Il modello di transizione era associato a una prognosi peggiore (sopravvivenza media, 6 mesi) rispetto al MM bifasico senza caratteristiche di transizione (sopravvivenza media, 12 mesi). Ulteriori validazioni e riproducibilità sono necessarie, ma questi dati rappresentano una prova convincente per definire e stratificare meglio i gruppi a rischio all'interno del sottotipo di MM bifasico¹⁴.

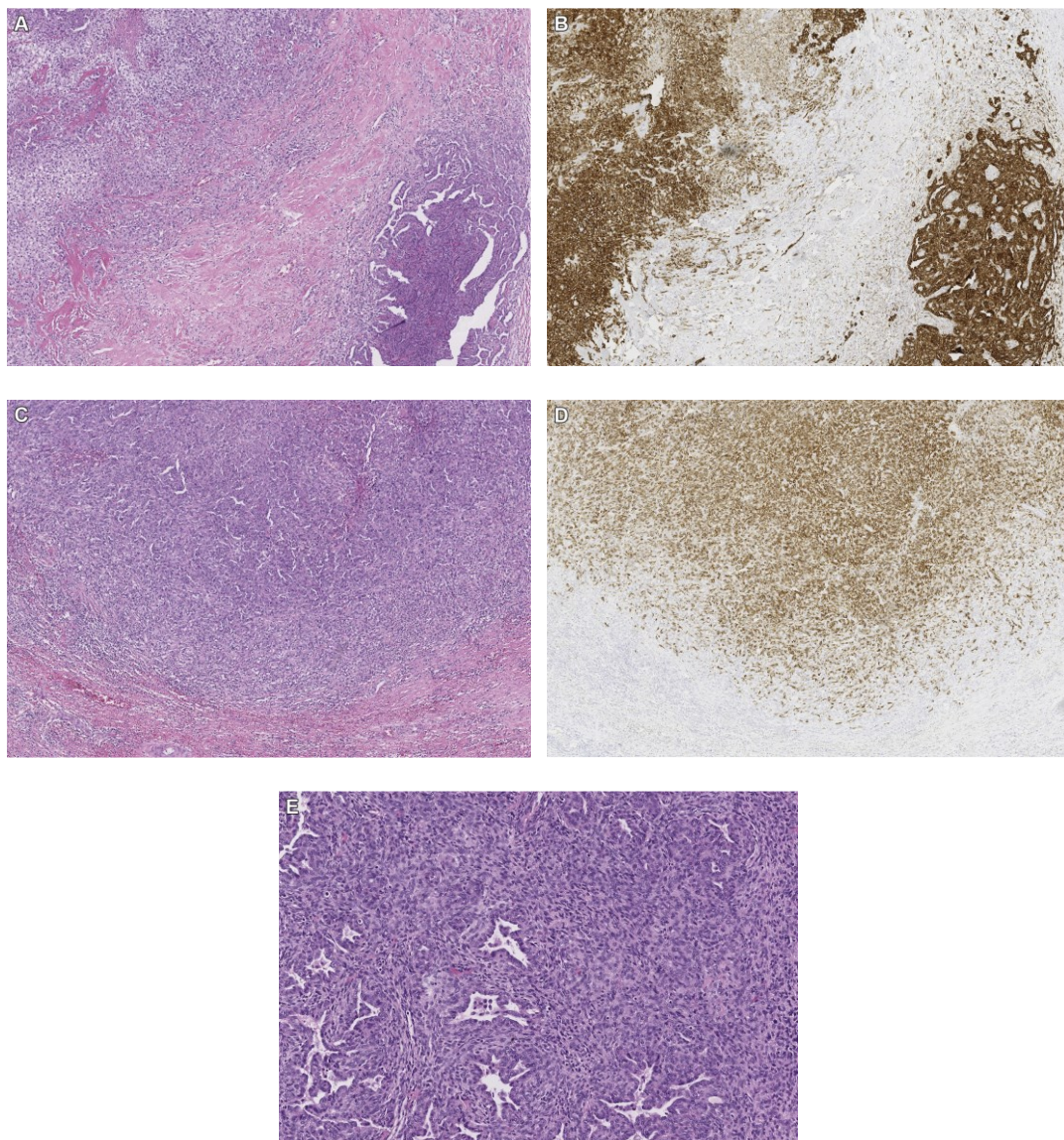


Figura 3: MM bifasico.

(A) MM bifasico con un componente epitelioide con morfologia tubulo-papillare in basso a destra e un componente solido con caratteristiche epitelioide e sarcomatoide in alto a sinistra, e (B) immunostain con pancitocheratina.

(C) Area sarcomatoide dello stesso caso e (D) immunostain con pancitocheratina.

(E) MM bifasico con morfologia intercalata epitelioide e sarcomatoide¹⁴.

Eziologia

Amianto

Amianto è un termine generico utilizzato per indicare diversi minerali silicati capaci di produrre fibre lunghe, sottili e flessibili con elevata resistenza alla trazione, al calore e agli agenti chimici, Quando vengono schiacciate, queste fibre possono poi separarsi in maniera longitudinale, creando fibre più sottili: questa particolare caratteristica distingue l'amianto da altri tipi di minerali silicati ed è responsabile delle sue pericolose proprietà²⁶. Come silicati fibrosi, i minerali di amianto vengono suddivisi in due gruppi principali:

- Il gruppo delle serpentinite: crisotilo;
- Il gruppo degli anfiboli: crocidolite, amosite, tremolite, antofillite, actinolite.

Entrambi questi gruppi possono includere anche forme non fibrose, ma simili o identiche nella composizione chimica, che non sono dannose per gli esseri umani²⁷. Il crisotilo, la crocidolite e l'amosite, sono stati i più ampiamente utilizzati a livello commerciale²⁸. Il crisotilo, noto anche come amianto bianco, è un silicato di magnesio, è il tipo più comune (costituendo circa il 95% di tutto l'amianto utilizzato)²⁶. Le restrizioni sull'uso dell'amianto si applicano specificamente a queste sei varietà di fibre minerali, ma esistono anche circa altre 400 tipologie di silicati la cui regolamentazione d'uso non è stata stabilita a livello globale²⁹, infatti si è scoperto che alcune varietà di anfiboli fibrosi, precedentemente non considerate amianto e non regolamentate come tali (come winchite e richterite), sono state coinvolte nell'insorgenza di gravi malattie a causa della loro presenza in abbondante quantità come contaminanti naturali della vermiculite, un minerale silicato utilizzato commercialmente e non fibroso.

Anche se vengono generalmente raggruppati e regolamentati come amianto, i gruppi di serpentinite e anfiboli hanno origini geologiche diverse e, soprattutto, presentano significative differenze nelle strutture cristalline e composizioni chimiche. Queste differenze influenzano la struttura e le dimensioni delle fibre e la loro biopersistenza, portando a notevoli differenze nella loro capacità di causare malattie nell'uomo²⁷.

Caratteristiche e proprietà

Come precedentemente accennato, il termine amianto si riferisce generalmente a sei tipi di fibre minerali naturali che erano precedentemente sfruttate commercialmente. Questi minerali fibrosi condividono diverse caratteristiche tipiche:

- Si presentano in fasci di fibre che possono essere facilmente divisi in fibre più sottili. Le fibre hanno un'elevata resistenza alla trazione e un elevato rapporto lunghezza-diametro (da 20 fino a oltre 1000);
- Sono sufficientemente flessibili da poter essere filati e assomigliano macroscopicamente a fibre organiche come la cellulosa;
- Essendo silicati, mostrano altre proprietà comuni come la stabilità termica, resistenza alla biodegradazione, inerzia chimica verso la maggior parte delle sostanze chimiche, bassa conducibilità elettrica, inoltre non sono infiammabili, questi fattori hanno reso il loro utilizzo industriale molto vantaggioso³⁰.

Contatto e meccanismo d'azione

Il contatto con l'amianto può avvenire in tre modi diversi:

- Tramite l'inalazione;
- Ingestione
- Contatto diretto con la pelle.

Tuttavia, l'inalazione è la modalità più comune e di maggiore importanza clinica attraverso cui avviene l'esposizione all'amianto³¹. Ci sono diversi meccanismi attraverso i quali l'amianto può portare a malattie maligne. Questi includono:

- Alterazioni a livello cromosomico;
- Attivazione di oncogeni;
- Perdita oncosoppressori;
- Alterazioni nelle vie di segnalazione cellulare;
- Generazione di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto;
- Danni meccanici diretti alle cellule dalle fibre di amianto.

Meccanismi fisiopatologici simile possono essere scatenati anche da altre fibre che possono, quindi, essere altrettanto dannose³¹.

Patologie correlate all'esposizione da amianto

Si ritiene che le fibre di amianto provochino una vasta gamma di effetti cellulari e molecolari che portano a diverse malattie polmonari che coinvolgono sia il tessuto polmonare che la pleura. L'amianto è stato identificato come agente causale sia di malattie polmonari non cancerogene che cancerogene.

Malattie benigne:

- Fibrosi polmonare e pleurica;
- Placche pleuriche;
- Asbestosi;
- Effusione pleurica benigna da amianto (BAPE);

Malattie maligne:

- Carcinoma polmonare a piccole cellule (SCLC);
- Carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC);
- Mesotelioma maligno (MM)³¹.

Tra gli individui esposti all'amianto, le placche pleuriche e la fibrosi costituiscono più del 90% delle anomalie pleuriche correlate all'amianto³². La comparsa della fibrosi pleurica dipende dalla quantità totale di amianto a cui si è stati esposti e dal tempo trascorso dall'esposizione iniziale³³. Le placche pleuriche sono depositi circoscritti di collagene privi di cellule che interessano la pleura parietale. Sono generalmente presenti su entrambi i lati del torace, in modo simmetrico³¹. La fibrosi pleurica diffusa invece è un ispessimento pleurico che, solitamente, interessa la pleura viscerale, è unilaterale e coinvolge l'angolo costofrenico. A volte è preceduta dall'accumulo di liquido pleurico³¹.

L'asbestosi è una malattia polmonare interstiziale bilaterale caratterizzata da fibrosi diffusa del tessuto interstiziale polmonare. Come nel caso della fibrosi pleurica, vi è una relazione tra la quantità di amianto a cui si è stati esposti e il rischio di sviluppare l'asbestosi. Il periodo di latenza tra l'esposizione iniziale e l'insorgenza della malattia di solito è di 15-20 anni³¹.

L'asbestosi, le placche pleuriche e la fibrosi pleurica sono condizioni benigne la cui evoluzione naturale è tipicamente una progressione lenta della malattia. La progressione della malattia si manifesta tipicamente con una compromissione progressiva della funzionalità polmonare e della capacità di diffusione del monossido di carbonio nei test di funzionalità polmonare³¹. Al momento attuale, non esiste una terapia farmacologica specifica per le placche pleuriche, la fibrosi pleurica o l'asbestosi. Non sono stati condotti studi clinici per valutare il ruolo di terapie specifiche per queste malattie. Le attuali strategie terapeutiche comprendono la cessazione del fumo di tabacco, l'identificazione precoce della malattia per prevenire ulteriore esposizione professionale all'amianto, l'uso di ossigeno supplementare se è presente ipossiemia, il trattamento precoce delle infezioni respiratorie e la vaccinazione contro l'influenza e la polmonite pneumococcica³¹.

I versamenti pleurici benigni da amianto (BAPE) sono tipicamente unilaterali e di piccole dimensioni. I sintomi del BAPE sono aspecifici e possono includere dispnea, tosse, dolore toracico pleurico e, raramente, febbre. È stato segnalato che il 66% dei casi sono asintomatici. Di solito precedono l'insorgenza di malattie interstiziali di alcuni anni. Non esiste una chiara correlazione dose-risposta tra esposizione all'amianto e BAPE. L'analisi del liquido pleurico nei BAPE solitamente rivela un versamento di tipo essudativo³⁴.

Le malattie maligne associate all'amianto invece includono il carcinoma polmonare a piccole cellule, il carcinoma polmonare a non piccole cellule il MM³¹.

I depositi di amianto, il loro utilizzo e le successive restrizioni

L'amianto è stato conosciuto ed utilizzato per molti secoli, ma il suo utilizzo su vasta scala nell'industria è iniziato principalmente verso la fine del XIX secolo. Durante la Seconda Guerra Mondiale e fino agli anni '70, è stato ampiamente utilizzato in varie applicazioni industriali. Tuttavia, a partire dagli anni '80, sono state introdotte misure restrittive per vietare l'uso dell'amianto²⁹.

L'amianto è stato ampiamente utilizzato grazie alle sue numerose proprietà, essendo insolubile in acqua e solventi organici le sue fibre sottili possono essere filate e intrecciate in tessuti e integrate in una vasta gamma di materiali, risultando quindi essenziale in innumerevoli applicazioni industriali²⁷. Un esempio è stato l'amianto-cemento (Eternit®) che veniva utilizzato in numerose applicazioni industriali: lastre o tubi di amianto (con una percentuale di amianto fino al 40%), piastrelle per pavimenti, nell'isolamento termico di caldaie, tessuti di amianto, ecc. Tra questi materiali, in particolare un soffitto di eternit rappresenta un grave carico ambientale. La radiazione solare, la pioggia, il gelo, così come i danni meccanici, causano il rilascio delle fibre di amianto nell'area circostante. Allo stesso modo, qualsiasi manipolazione dei materiali di cemento con amianto può liberarne le fibre.³⁵ In Italia la produzione di cemento-amianto ha costituito il principale uso della fibra di amianto in termini quantitativi ed è stata l'attività industriale che ha determinato il maggior numero di lavoratori esposti³⁶.

Diversi paesi e regioni hanno avuto estrazioni di amianto estensive, tra cui il Sud Africa, l'Australia, il Canada, gli Stati Uniti, la Russia, la Finlandia, l'Inghilterra, la Germania e l'Italia²⁶. Man mano che la consapevolezza degli effetti nocivi dell'amianto sulla salute umana è cresciuta, sempre più paesi hanno vietato la lavorazione e l'utilizzo di questo materiale. Ad oggi, più di 60 paesi nel mondo hanno imposto il divieto di lavorazione dell'amianto.

Nonostante i rischi noti per la salute, alcune nazioni continuano ancora ad estrarre amianto, in particolare in Russia, Cina, Brasile e Kazakistan. Questo comporta ulteriori preoccupazioni riguardo alla salute e alla sicurezza dei lavoratori coinvolti nell'estrazione e nell'utilizzo di questo materiale pericoloso³⁷.

Esposizione all'amianto in Italia

Fino alla fine degli anni '80, l'Italia è stata il secondo maggior produttore di amianto in Europa, dopo l'Unione Sovietica, e il primo all'interno della Comunità Europea. Tra la fine della Seconda Guerra Mondiale e il divieto dell'amianto nel 1992, in Italia sono state prodotte più di 3,5 milioni di tonnellate di amianto grezzo, con un picco di produzione tra il 1976 e il 1980 di circa 160.000 tonnellate all'anno. A causa del suo elevato consumo passato, dell'ampio coinvolgimento in diverse industrie e del numero di lavoratori e non lavoratori esposti, l'Italia è attualmente tra i paesi con la più alta frequenza di MM nel mondo³⁸ ed è uno dei paesi più attenti alla prevenzione e al controllo delle malattie correlate all'amianto, disponendo di un sistema specifico di sorveglianza epidemiologica del MM³⁹.

Nel 2002 è stato istituito il Registro Nazionale Mesoteliomi (ReNaM), organizzato come una rete di registri regionali, alcune regioni avevano istituito registri simili in precedenza⁴⁰. In Lombardia è stato istituito nel 2000 un registro regionale dei mesoteliomi, il Registro Mesoteliomi Lombardia (RML). Questi registri svolgono un ruolo cruciale nel documentare continuamente l'impatto dell'uso dell'amianto sull'incidenza del MM. Grazie all'esistenza del RML, abbiamo a disposizione dati che vanno a constatare un alto numero di casi di MM nella regione, riflettendo una vasta esposizione all'amianto sia occupazionale (soprattutto negli uomini) che non occupazionale (principalmente nelle donne) nel passato. Sono stati registrati oltre 4000 casi nei primi 13 anni di attività del registro (2000-2012). Contrariamente ad altri paesi, dove il numero di uomini diagnosticati con MM era molto più elevato, in Lombardia (come anche in tutta l'Italia) il numero di donne colpite è piuttosto rilevante⁴¹.

Sono stati registrati 4.442 soggetti con MM:

- 2.850 uomini (64,2%);
- 1.592 donne (35,8%) (Tabella 2)⁴¹.

Tabella 2: Caratteristiche dei soggetti affetti da MM per genere, Registro Mesoteliomi della Regione Lombardia (RML), 2000-2012⁴¹

| | Men | | Women | |
|---|------|------|-------|------|
| | N | % | N | % |
| Total | 2850 | 100 | 1592 | 100 |
| Age at diagnosis | | | | |
| 20-49 | 113 | 4.0 | 49 | 3.1 |
| 50-54 | 118 | 4.1 | 45 | 2.8 |
| 55-59 | 212 | 7.4 | 91 | 5.7 |
| 60-64 | 396 | 13.9 | 150 | 9.4 |
| 65-69 | 523 | 18.4 | 238 | 15.0 |
| 70-74 | 608 | 21.3 | 295 | 18.5 |
| 75-79 | 461 | 16.2 | 311 | 19.5 |
| 80-84 | 257 | 9.0 | 247 | 15.5 |
| 85+ | 162 | 5.7 | 166 | 10.4 |
| Site | | | | |
| Pleura | 2693 | 94.5 | 1462 | 91.8 |
| Peritoneum | 134 | 4.7 | 125 | 7.9 |
| Pericardium | 6 | 0.2 | 5 | 0.3 |
| Tunica vaginalis testis | 17 | 0.6 | - | - |
| Diagnosis | | | | |
| Definite | 2340 | 82.1 | 1203 | 75.6 |
| Probable | 245 | 8.6 | 157 | 9.9 |
| Possible | 265 | 9.3 | 232 | 14.6 |
| Morphology (ICD-O code) | | | | |
| MM not otherwise specified (90503) | 169 | 5.9 | 107 | 6.7 |
| Fibrous/sarcomatoid/desmoplastic MM (90513) | 241 | 8.5 | 76 | 4.8 |
| Epithelioid MM (90523) | 1707 | 59.9 | 967 | 60.7 |
| Biphasic MM (90533) | 391 | 13.7 | 152 | 9.6 |
| Unknown | 342 | 12.0 | 290 | 18.2 |
| Presence of pleural plaques | 394 | 13.8 | 127 | 8.0 |
| Interview | | | | |
| Patient | 1658 | 58.2 | 706 | 44.4 |
| Relative | 1061 | 37.2 | 771 | 48.4 |
| Not performed | 131 | 4.6 | 115 | 7.2 |

Abbreviations: ICD-O, International Classification of Diseases for Oncology, Third Edition

Osservando questa tabella ricaviamo dei dati importanti:

- L'età media alla diagnosi era di 70,4 anni negli uomini e 73,8 anni nelle donne;
- La pleura era il sito di origine del MM in oltre il 90% dei casi. Il numero di MM pleurici era molto più elevato negli uomini rispetto alle donne, mentre il numero di MM peritoneali era simile;
- La diagnosi di MM è stata valutata come definitiva nel 75-80% dei casi;
- La morfologia era disponibile per oltre l'80% dei pazienti;

- La forma più comune di MM era quella epitelioidica;
- Le placche pleuriche sono state riscontrate nel 13,8% degli uomini e nell'8,0% delle donne.

Per ottenere questi dati sono state intervistate più del 90% delle persone colpite, ottenendo informazioni sia direttamente dai pazienti stessi che dai loro parenti⁴¹.

In totale, il 77,2% degli uomini aveva avuto esperienze di esposizione all'amianto durante l'arco della loro vita (Tabella 3)⁴¹. Di questi:

- Il 73,6% erano stati esposti all'amianto sul posto di lavoro, con le province di Lodi e la città di Milano che mostravano le percentuali più basse di esposizione occupazionale;
- Si sono riscontrati 31 casi di MM (10,8%) con esposizione ambientale all'amianto a Pavia;
- In 493 uomini (17,3%), non è stata identificata alcuna esposizione all'amianto durante le interviste, con le percentuali più alte registrate a Lodi e nella città di Milano. Inoltre, la città di Milano presenta anche la percentuale più elevata di casi di MM in cui le informazioni sull'esposizione all'amianto erano incomplete o mancanti⁴¹.

Tabella 3: Numero di casi (%) di MM negli uomini per provincia di residenza alla diagnosi e esposizione all'amianto, Registro Mesoteliomi della Regione Lombardia (RML), 2000-2012⁴¹.

| Province | Occupational | Para-occupational | Home-related | Environmental | Unknown* | No information/not classified** | Total |
|------------------------|----------------|-------------------|--------------|---------------|---------------|---------------------------------|---------------|
| Lombardy region | 2099 (73.6) | 16 (0.6) | 24 (0.8) | 62 (2.2) | 493 (17.3) | 156 (5.5) | 2850 (100) |
| Bergamo (BG) | 270 (84.1) | 2 (0.6) | 2 (0.6) | 1 (0.3) | 38 (11.98) | 8 (2.5) | 321 (100) |
| Brescia (BS) | 193 (81.8) | 2 (0.8) | 0 (0.0) | 1 (0.4) | 37 (15.7) | 3 (1.3) | 236 (100) |
| Como (CO) | 104 (74.8) | 2 (1.4) | 1 (0.7) | 3 (2.2) | 21 (15.1) | 8 (5.8) | 139 (100) |
| Cremona (CR) | 70 (76.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 4 (4.3) | 16 (16.3) | 3 (3.3) | 93 (100) |
| Lecco (LC) | 77 (72.6) | 0 (0.0) | 2 (1.9) | 3 (2.8) | 23 (21.7) | 1 (0.9) | 106 (100) |
| Lodi (LO) | 41 (62.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 21 (31.8) | 4 (6.1) | 66 (100) |
| Monza and Brianza (MB) | 171 (73.1) | 1 (0.4) | 1 (0.4) | 1 (0.4) | 44 (18.8) | 16 (6.8) | 234 (100) |
| City of Milan (MIC) | 210 (56.8) | 2 (0.5) | 4 (1.1) | 9 (2.4) | 103 (27.8) | 42 (11.4) | 370 (100) |
| Milan (MIP)*** | 435 (77.3) | 1 (0.2) | 4 (0.7) | 5 (0.9) | 82 (14.6) | 36 (6.4) | 563 (100) |
| Mantua (MN) | 78 (83.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 15 (16.0) | 1 (1.1) | 94 (100) |
| Pavia (PV) | 194 (67.8) | 5 (1.7) | 6 (2.1) | 31 (10.8) | 38 (13.3) | 12 (4.2) | 286 (100) |
| Sondrio (SO) | 30 (69.8) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 9 (20.9) | 4 (9.3) | 43 (100) |
| Varese (VA) | 225 (75.2) | 1 (0.3) | 4 (1.3) | 4 (1.3) | 46 (15.4) | 19 (6.4) | 299 (100) |

*Subjects without any identified asbestos exposure

**Not interviewed or with insufficient information at interview

***Excluding the city of Milan

Per quanto riguarda le donne, il 51,8% aveva avuto esperienze di esposizione all'amianto (Tabella 4). Delle donne affette da MM:

- Il 38,2% era stato esposto all'amianto sul posto di lavoro, con percentuali che variavano dal 19,5% a Lodi al 61,4% a Bergamo;
- In 63 donne (4,0%), è stata riscontrata esposizione para-occupazionale, con 26 casi (13,9%) registrati a Pavia, dove sono stati riscontrati anche 47 casi di MM (25,1%) con esposizione ambientale all'amianto;

- In 624 donne (39,2%), durante le interviste non è stata identificata alcuna esposizione all'amianto, con percentuali che variavano dal 26,5% a Bergamo al 68,6% a Mantova;
- In 144 donne (9,0%), mancavano informazioni utili riguardo all'esposizione all'amianto⁴¹.

Tabella 4: Numero di casi (%) di MM nelle donne per provincia di residenza alla diagnosi e esposizione all'amianto, Registro Mesoteliomi della Regione Lombardia (RML), 2000-2012⁴¹

| Province | Occupational | Para-occupational | Home-related | Environmental | Unknown* | No information/ not classified** | Total |
|------------------------|---------------|-------------------|--------------|---------------|---------------|-------------------------------------|---------------|
| Lombardy region | 608 (38.2) | 63 (4.0) | 75 (4.7) | 78 (4.9) | 624 (39.2) | 144 (9.0) | 1592 (100) |
| Bergamo (BG) | 102 (61.4) | 7 (4.2) | 3 (1.8) | 0 (0.0) | 44 (26.5) | 10 (6.0) | 166 (100) |
| Brescia (BS) | 51 (38.9) | 2 (1.5) | 3 (2.3) | 1 (0.8) | 67 (51.1) | 7 (5.3) | 131 (100) |
| Como (CO) | 51 (54.3) | 4 (4.3) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 31 (33.0) | 8 (8.5) | 94 (100) |
| Cremona (CR) | 21 (4.4) | 4 (7.7) | 0 (0.0) | 2 (3.9) | 21 (40.4) | 4 (7.7) | 52 (100) |
| Lecco (LC) | 20 (40.0) | 3 (6.0) | 6 (12.0) | 1 (2.0) | 15 (30.0) | 5 (10.0) | 50 (100) |
| Lodi (LO) | 8 (19.5) | 0 (0.0) | 1 (2.4) | 1 (2.4) | 21 (51.2) | 10 (24.4) | 41 (100) |
| Monza and Brianza (MB) | 72 (48.3) | 2 (1.3) | 11 (7.4) | 2 (1.2) | 46 (30.9) | 16 (10.7) | 149 (100) |
| City of Milan (MIC) | 53 (20.8) | 5 (2.0) | 22 (8.6) | 15 (5.9) | 126 (49.4) | 34 (13.3) | 255 (100) |
| Milan (MIP)*** | 105 (41.0) | 5 (2.0) | 16 (6.3) | 3 (1.2) | 101 (39.5) | 26 (10.1) | 256 (100) |
| Mantua (MN) | 7 (20.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (2.9) | 24 (68.6) | 3 (8.6) | 35 (100) |
| Pavia (PV) | 38 (20.3) | 26 (13.9) | 8 (4.3) | 47 (25.1) | 59 (31.5) | 9 (4.8) | 187 (100) |
| Sondrio (SO) | 9 (24.3) | 0 (0.0) | 2 (5.4) | 0 (0.0) | 24 (64.9) | 2 (5.4) | 37 (100) |
| Varese (VA) | 71 (51.1) | 5 (3.6) | 3 (2.2) | 5 (3.6) | 45 (32.4) | 10 (7.2) | 139 (100) |

*Subjects without any identified asbestos exposure

**Not interviewed or with insufficient information at interview

***Excluding the city of Milan

Tra gli uomini affetti da MM:

- Il 34,8% dei casi era stato esposto all'amianto nel settore delle industrie meccaniche e metallurgiche;
- Il 33,6% stato esposto durante il lavoro nel campo delle costruzioni edilizie;
- E la restante percentuale in vari settori (meno dell'10% ciascuno) (Tabella 5)⁴¹.

Tabella 5: Numero di casi (%) MM tra 2099 uomini con esposizione professionale all'amianto per provincia di residenza alla diagnosi e esposizione all'amianto nelle principali industrie, Registro Mesoteliomi della Regione Lombardia (RML), 2000-2012⁴¹.

| Province | MMM | BC | TC | MVPR | CP | FB | M | T | R | AC | RPM | EP | HSS |
|------------------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| Lombardy region | 731 (34.8) | 705 (33.6) | 188 (9.0) | 136 (6.5) | 122 (3.5) | 98 (4.7) | 87 (4.2) | 76 (3.6) | 71 (3.4) | 65 (3.1) | 51 (2.4) | 51 (2.4) | 39 (1.9) |
| Bergamo (BG) | 116 (43.0) | 93 (34.4) | 30 (11.1) | 23 (8.5) | 15 (5.6) | 10 (3.7) | 8 (3.0) | 5 (1.8) | 11 (4.1) | 8 (3.0) | 2 (0.7) | 3 (1.1) | 5 (1.9) |
| Brescia (BS) | 77 (39.9) | 76 (39.4) | 15 (7.8) | 15 (7.8) | 5 (2.6) | 10 (5.2) | 4 (2.1) | 5 (2.6) | 2 (1.0) | 3 (1.5) | 1 (0.5) | 5 (2.6) | 4 (2.1) |
| Como (CO) | 18 (17.3) | 34 (32.7) | 31 (29.8) | 4 (3.9) | 1 (1.0) | 4 (3.9) | 7 (6.8) | 4 (3.9) | 7 (6.8) | 1 (1.0) | 2 (1.9) | 2 (1.9) | 4 (3.9) |
| Cremona (CR) | 19 (27.1) | 33 (47.1) | 4 (5.7) | 1 (1.4) | 2 (2.9) | 6 (8.6) | 6 (8.6) | 3 (4.3) | 2 (2.9) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Lecco (LC) | 29 (37.7) | 18 (23.4) | 5 (6.5) | 2 (2.6) | 3 (3.9) | 3 (3.9) | 3 (3.9) | 5 (6.5) | 1 (1.3) | 4 (5.2) | 5 (6.5) | 3 (3.9) | 2 (2.6) |
| Lodi (LO) | 16 (39.0) | 13 (31.7) | 2 (4.9) | 1 (2.4) | 8 (19.5) | 1 (2.4) | 7 (7.3) | 2 (4.9) | 1 (2.4) | 0 (0.0) | 1 (2.4) | 3 (7.3) | 0 (0.0) |
| Monza and Brianza (MB) | 60 (35.1) | 70 (40.9) | 18 (10.5) | 9 (5.3) | 7 (4.1) | 5 (2.9) | 3 (1.8) | 3 (1.8) | 12 (7.0) | 1 (0.6) | 3 (1.8) | 3 (1.8) | 1 (0.6) |
| City of Milan (MIC) | 67 (31.9) | 46 (21.9) | 4 (1.9) | 15 (7.1) | 15 (7.1) | 6 (2.9) | 12 (5.7) | 4 (1.9) | 11 (5.2) | 3 (1.4) | 11 (5.2) | 3 (1.4) | 8 (3.8) |
| Milan (MIP)** | 202 (46.4) | 129 (29.7) | 27 (6.2) | 35 (8.0) | 30 (6.9) | 18 (4.1) | 24 (5.5) | 18 (4.1) | 18 (4.1) | 4 (0.9) | 13 (3.0) | 10 (2.3) | 4 (0.9) |
| Mantua (MN) | 28 (35.4) | 30 (38.0) | 0 (0.0) | 4 (5.1) | 4 (5.1) | 10 (12.7) | 1 (1.3) | 3 (3.9) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 2 (2.6) | 2 (2.6) |
| Pavia (PV) | 31 (16.0) | 73 (37.6) | 5 (2.6) | 11 (5.7) | 3 (1.6) | 13 (6.7) | 9 (4.6) | 16 (8.3) | 5 (2.6) | 39 (20.1) | 9 (4.6) | 4 (2.1) | 4 (2.1) |
| Sondrio (SO) | 1 (3.3) | 19 (63.3) | 6 (20.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (3.3) | 0 (0.0) | 2 (6.7) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 3 (10.0) | 1 (3.3) |
| Varese (VA) | 67 (29.8) | 71 (31.6) | 41 (18.2) | 16 (7.1) | 29 (12.9) | 11 (4.9) | 7 (3.1) | 6 (2.7) | 1 (0.4) | 2 (0.9) | 4 (1.8) | 10 (4.4) | 4 (1.8) |

Abbreviations: AC, asbestos-cement; BC, building construction, CP, chemical and plastics; EP, energy production; FB, food and beverage; HSS, health and social services; M, military; MMM, metal mechanic and metallurgy; MVPR, motor vehicle production and repair; R, rubber; RPM, railroad production and maintenance; T, transport; TC, textile and clothing production.

*Only industries with at least 30 cases are listed in decreasing order; a subject may have been exposed to asbestos in more than one industrial sector in his/her occupational history

***Excluding the city of Milan

L'esposizione all'amianto nelle industrie meccaniche e metallurgiche era piuttosto comune (circa il 30% o più) nella maggior parte delle province, ad eccezione di Como, Cremona, Pavia e Sondrio. Nelle province di Milano e Mantova, vi erano molti uomini esposti all'amianto nelle grandi industrie che producevano diversi componenti di impianti industriali (come chimici, termoelettrici e petrolchimici), mentre nella provincia di Brescia, l'esposizione all'amianto riguardava principalmente i lavoratori impiegati in fonderie di ferro e acciaio. La percentuale di uomini esposti all'amianto nel settore delle costruzioni edilizie variava dal 21,9% (città di Milano) al 63,3% (Sondrio)⁴¹. Il più alto numero percentuale di uomini esposti all'amianto nell'ambito della produzione tessile e dell'abbigliamento è stato registrato a Como (29,8%). Nella provincia di Milano, il numero relativamente elevato di uomini esposti all'amianto nel settore della produzione e riparazione di veicoli a motore è spiegato dalla presenza, in passato, di due grandi industrie automobilistiche. Gli uomini nel settore alimentare e delle bevande sono stati principalmente esposti all'amianto nelle aziende produttrici di zucchero. È stato anche registrato un alto numero di uomini esposti all'amianto durante il servizio militare (Marina). Nella provincia di Pavia si è registrata la più alta percentuale (20,1%) di uomini esposti in un'ampia industria dell'amianto-cemento, mentre piccole aziende di amianto-cemento hanno operato nelle province di Bergamo e Lecco⁴¹. La maggioranza delle donne (65,5%) è stata esposta all'amianto nei settori tessili senza amianto (cotone, lana e seta) e nella produzione di abbigliamento (Tabella 6) in diverse province. Gli altri settori industriali rappresentavano meno del 10% dell'esposizione. La provincia di Pavia aveva la percentuale più alta (18,4%) di donne mai esposte nell'industria dell'amianto-cemento⁴¹.

Tabella 6: Numero di casi (%) di MM tra 608 donne con esposizione professionale all'amianto per provincia di residenza alla diagnosi e esposizione all'amianto nelle principali industrie, Registro Mesoteliomi della Regione Lombardia (RML), 2000-2012⁴¹.

| Province | TC | MMM | HSS | R | FB | CP | AC |
|------------------------|---------------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Lombardy region | 398 (65.5) | 51 (8.4) | 38 (6.3) | 23 (3.8) | 21 (3.5) | 18 (3.0) | 12 (2.0) |
| Bergamo (BG) | 81 (79.4) | 6 (5.9) | 1 (1.0) | 2 (2.0) | 1 (1.0) | 2 (2.0) | 4 (4.0) |
| Brescia (BS) | 38 (74.5) | 3 (5.9) | 2 (3.9) | 0 (0.0) | 1 (2.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Como (CO) | 41 (80.4) | 5 (9.8) | 3 (5.9) | 0 (0.0) | 1 (2.0) | 1 (2.0) | 0 (0.0) |
| Cremona (CR) | 7 (33.3) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (4.8) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Lecco (LC) | 13 (65.0) | 5 (25.0) | 1 (5.0) | 1 (5.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Lodi (LO) | 5 (62.5) | 1 (12.5) | 1 (12.5) | 1 (12.5) | 2 (25.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Monza and Brianza (MB) | 54 (75.0) | 1 (1.4) | 2 (2.8) | 6 (8.3) | 2 (2.8) | 2 (2.8) | 0 (0.0) |
| City of Milan (MIC) | 15 (28.3) | 8 (15.1) | 8 (15.1) | 3 (5.7) | 4 (7.5) | 4 (7.5) | 1 (1.9) |
| Milan (MIP)** | 64 (61.0) | 15 (14.3) | 8 (7.6) | 6 (5.7) | 3 (2.9) | 4 (3.8) | 0 (0.0) |
| Mantua (MN) | 3 (42.9) | 0 (0.0) | 2 (28.6) | 0 (0.0) | 1 (14.3) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Pavia (PV) | 14 (36.8) | 1 (2.6) | 3 (7.9) | 4 (10.5) | 5 (13.2) | 0 (0.0) | 7 (18.4) |
| Sondrio (SO) | 7 (77.8) | 1 (11.1) | 1 (11.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| Varese (VA) | 56 (78.9) | 5 (7.0) | 6 (8.4) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 5 (7.0) | 0 (0.0) |

Abbreviations: AC, asbestos-cement; CP, chemical and plastics; FB, food and beverage; HSS, health and social services; MMM, metal mechanic and metallurgy; R, rubber; TC, textile and clothing production.

*Only industries with at least 10 cases are listed in decreasing order; a subject may have been exposed to asbestos in more than one industrial sector in his/her occupational history

***Excluding the city of Milan

Minerali simili all'amianto

Nonostante molti MM siano correlati all'esposizione all'amianto, stanno aumentando anche i casi riconducibili ad altre cause. Soprattutto per il MM peritoneale e nelle donne.³⁸

Altri minerali fibrosi come la zeolite (in particolare il sottogruppo erionite), la fluoro-edenite o la balangeroite sono molto simili per forma e proprietà agli anfiboli, compresi gli effetti patogeni. L'erionite mostra effetti carcinogeni ancora più potenti dell'amianto. Nonostante gli effetti, tuttavia,

non vi sono restrizioni sull'uso di questi minerali, i quali si trovano anche naturalmente nell'ambiente. L'esposizione può quindi essere ambientale o può avvenire attraverso il contatto con materiali da costruzione in cui è stata utilizzata l'erionite. Quindi, l'esposizione all'erionite da materiali da costruzione è la prima possibile via. Può essere significativa, come è stato documentato in studi condotti in Turchia e negli Stati Uniti³⁸. In particolare, elevate quantità di erionite nell'aria sono state trovate nel Dakota del Nord dopo che centinaia di miglia di strade sono state rivestite con ghiaia contenente erionite. Le concentrazioni misurate superavano persino quelle trovate in alcuni villaggi turchi (Sarihidir, Tuzköy e Karain), dove i tassi di mortalità per MM vanno dal 20% al 50%⁴².

Oltre ai materiali da costruzione e alle strade, la calce è anche una fonte frequente di pericolose fibre minerali come dimostrato da rilevamenti in diverse regioni di Turchia, Grecia e Cipro. Le operazioni di pulizia che coinvolgono, ad esempio, ghiaia o calce possono essere cruciali, poiché la concentrazione di erionite nell'aria, altrimenti relativamente bassa, aumenta fino a 100 volte⁴².

La seconda possibile via di esposizione all'erionite è ambientale. Sebbene questa presenza sia limitata a piccole aree geografiche, le conseguenze possono essere significative. Infatti, in aree geografiche ricche di questi minerali, la popolazione è notevolmente esposta. L'incidenza di MM è alta nelle aree ricche di erionite, tra queste vi sono la regione della Cappadocia in Turchia (villaggi di Sarihidir, Tuzköy e Karain) e alcune aree degli Stati Uniti (dall'Oregon al Messico e al Dakota del Nord), della Nuova Zelanda e dell'Italia come la Sicilia, una regione con ampi depositi di fluoro-edenite. Sia per l'erionite che per la fluoro-edenite sono state classificate dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come cancerogeni di Gruppo 1¹⁶.

Il forte potenziale cancerogeno dell'erionite è illustrato da diversi studi. Ad esempio, un follow-up dal 1979 al 2003 degli abitanti di Sarihidir e Karain in Turchia ha mostrato 372 decessi, di cui 119 dovuti a MM, causa del 44,5% di tutti i decessi nei villaggi esposti⁴³. Inoltre, studi sperimentali hanno dimostrato che il potenziale cancerogeno dell'erionite era 300-800 volte superiore a quello del crisotilo e 100-500 volte superiore a quello del crocidolite quando somministrato tramite vie intrapleuriche⁴⁴. È stato dimostrato infatti che in termini di tossicità, l'erionite è di gran lunga più potente come cancerogeno rispetto ai minerali di amianto⁴⁵. Fortunatamente la presenza dell'erionite è limitata a poche regioni, dove la frequenza di MM è di oltre 1000 volte superiore nelle regioni interessate rispetto alla popolazione generale dei paesi industrializzati. Questi dati si basano specificamente su dati epidemiologici raccolti in diversi villaggi della Turchia⁴³. Secondo i dati disponibili, il rischio di MM correlato all'esposizione all'erionite supera il rischio di MM da amianto, ma le indagini epidemiologiche che dimostrano che queste fibre sono la causa del MM sono in gran

parte descrittive, non analitiche⁴⁶. Tuttavia, possono evidenziare fatti importanti, un risultato cruciale poiché il suo utilizzo non è regolamentato, a differenza di quello dell'amianto. Tuttavia, in termini di esposizione ambientale, sembra non avere un impatto significativo a livello globale.

Patogenesi

Le cellule mesoteliali (MC) sono altamente suscettibili alla citotossicità dell'amianto, e molti eventi patogenici possono contribuire alla cancerogenesi durante il lungo periodo di latenza tra l'esposizione all'amianto e lo sviluppo del tumore⁴⁷. Le cellule mesoteliali sono interessate da varie modifiche cellulari indotte dall'amianto, come danni al DNA, inibizione del ciclo cellulare, apoptosi⁴⁸ e produzione di molti mediatori infiammatori in risposta all'amianto⁴⁹.

Meccanismi molecolari associati alla patogenesi

Le fibre d'amianto vengono inalate attraversano le vie aeree terminali e si insediano nello spazio pleurico. I macrofagi cercano di fagocitare queste fibre senza successo e nel farlo rilasciano specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dello azoto (RNS), che possono promuovere danni genotossici e reclutare altre cellule infiammatorie e del sistema immunitario. I danni ripetuti al DNA causati da ROS e RNS possono portare all'accumulo di mutazioni oncogeniche nelle cellule mesoteliali. I geni più frequentemente mutati nel MM e che possono essere associati alla trasformazione maligna delle cellule mesoteliali sono coinvolti nella riparazione del DNA, nella via Hippo, nel controllo del ciclo cellulare, nella metilazione del DNA e nella via mTOR. Le mutazioni germinali nei geni associati alla riparazione del DNA (BAP1, BRCA1, CHECK2, ecc.) sono presenti nel 12% dei pazienti affetti da MM e sono associate a un esordio più precoce della malattia e a una buona prognosi. Parallelamente, i mediatori infiammatori rilasciati nel microambiente possono promuovere la sopravvivenza delle cellule mesoteliali trasformate (inibendo i segnali apoptotici) e stimolarne la proliferazione (anche in presenza di danni al DNA), attivare i fibroblasti per produrre proteine della matrice extracellulare e promuovere la neoangiogenesi. Queste modifiche favoriscono la crescita tumorale e creano un ambiente immunosoppressivo (Figura 4)⁴.

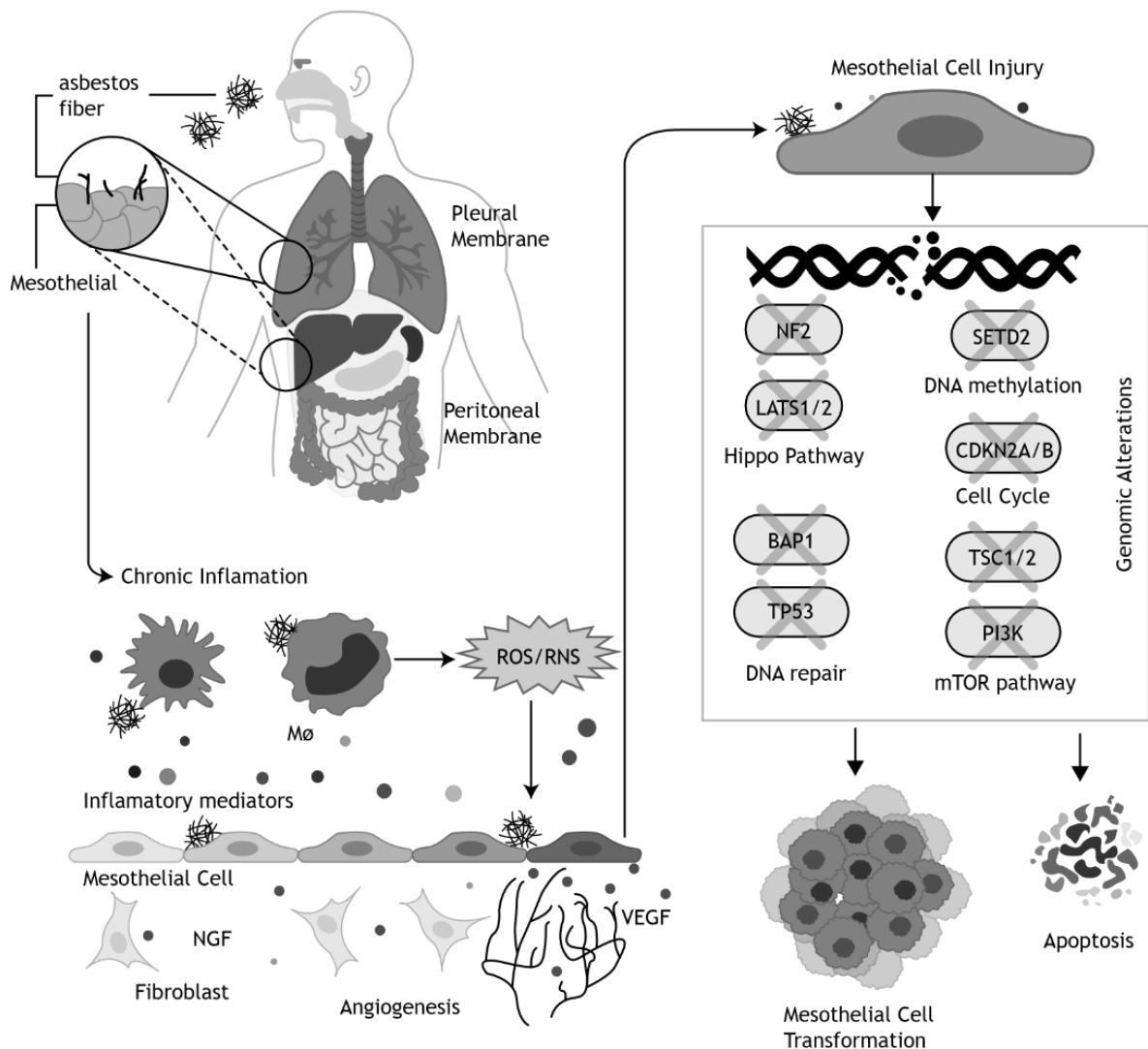


Figura 4: Meccanismi molecolari associati alla patogenesi nel MM, dal contatto con le fibre di amianto alle mutazioni a carico del genoma fino alla trasformazione neoplastica⁴.

BAP1: BRCA-1 Associated Protein-1; CDKN2A/B: Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2 A and B; DNA: Deoxyribonucleic Acid; LATS1/2: Large Tumor Suppressor kinase 1 and 2; mTOR: Mechanistic Target Of Rapamycin kinase; NF2: Neurofibromatosis Type 2; NGF: Nerve Growth Factor; PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase; ROS: Reactive Oxygen Species; RNS: Reactive Nitrogen Species; SETD2: SET Domain Containing 2; TP53: p53 gene; TSC1/2 : Tuberous Sclerosis Complex 1 and 2; VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor.

• CDKN2A

La prima e più comune mutazione descritta nel MM è la delezione del gene inibitore della chinasi dipendente dalla ciclina D 2A (CDKN2A) sul cromosoma 9⁵⁰, che rappresenta circa il 70% dei casi di MM⁵¹. La delezione di questo gene influisce sulla funzione di regolazione del ciclo cellulare di pRB e p53. A causa della sua vicinanza a CDKN2A, il gene S-metil-5'-tioadenosina fosforilasi (MTAP) è frequentemente co-delezionato in diversi tipi di cancro, compreso il MM⁵².

- **BAP1**

Altre mutazioni comuni nel MM coinvolgono il cromosoma 3, con la perdita del gene BAP1⁵³. Il gene associato alla proteina BRCA1-1 (BAP1) ha molte attività biologiche, tra cui la stabilità genomica, la riparazione del danno al DNA, la modulazione del metabolismo cellulare, la regolazione della trascrizione e della morte cellulare. La perdita di BAP-1, insieme alla delezione di MTAP/CDKN2A, è stata recentemente proposta come marcatore utile per migliorare la sensibilità diagnostica per il MM⁵⁴.

- **NF2**

La mutazione sul cromosoma 22 che racchiude nel gene Neurofibromatosi 2 (NF2), che codifica la proteina di regolazione della crescita cellulare Merlin, è stata descritta in circa il 50% dei casi di MM⁵⁵ ed è stata collegata alla progressione del MM. L'alterazione nella funzione di NF2 è stata recentemente correlata al TME infiammatorio e proposta come biomarcatore per la stratificazione dei pazienti affetti da MM per le terapie di blocco dei checkpoint immunitari⁵⁶.

È stato segnalato che nei topi la specifica interruzione dei loci soppressori tumorali BAP1, NF2, CDKN2AB nelle cellule mesoteliali della cavità toracica porta a un MM altamente aggressivo e infiltrato da leucociti⁵⁷. In particolare, è stata osservata una quantità significativa di macrofagi, cellule T, comprese le cellule T regolatorie, cellule B e cellule NK. Questo significa che la delezione combinata di questi geni soppressori tumorali crea un TME specifico.

- **LATS1/2 e PD-L1**

A sostegno del legame che c'è tra il TME e i diversi background genetici, sono state fornite prove che le cellule T CD8+ erano principalmente arricchite nel MM che ospita la mutazione del Large Tumor Suppressor Kinase 1 e 2 (LATS1/2) rispetto al tumore con mutazione NF2. Inoltre, i tumori MM con mutazione LATS1/2 sono associati a un'alta espressione di PD-L1 e, diversamente dal MM con mutazione NF2, mostrano un arricchimento di cellule T regolatorie e di plasmacellule B⁵⁶, suggerendo che esistono l'infiltrato immunitario è modulato dalla deregolazione di NF2 e della segnalazione Hippo-YAP nelle cellule tumorali.

- **p14/ARF**

Più recentemente, è stata valutata la relazione tra p14/ARF codificato da CDKN2A e il TME. È stato scoperto che i tumori negativi per p14/ARF sono caratterizzati da un'elevata percentuale di cellule CD163+ e da una bassa espressione di PD-L1 e CD4, correlata a un microambiente immunitario meno sensibile agli inibitori dei checkpoint immunitari⁵⁸.

- **NF- κ B**

L'attivazione della via di segnalazione NF- κ B è associata a tumori più riccamente infiltrati perché NF- κ B attiva l'espressione di geni i cui prodotti contribuiscono al reclutamento di cellule immunitarie.

Complessivamente, questi dati supportano l'idea che l'eterogeneità genomica intra-tumorale modelli il TME del MM e moduli la sorveglianza immunitaria dell'ospite o la fuga immunitaria⁵⁹.

Il Microambiente Tumorale (TME)

Nel TME, l'interazione tra le cellule tumorali, le cellule immunitarie, le cellule stromali e la matrice extracellulare è cruciale per sostenere meccanismi a favore del tumore come la resistenza ai farmaci e la metastatizzazione. Il MM presenta un TME unico e complesso. Diversi studi hanno evidenziato il ruolo chiave delle cellule immunitarie e stromali nella genesi e nella progressione del MM. Le cellule stromali comunicano in modo bidirezionale con le cellule tumorali, stabilendo un TME cronico che supporta la progressione maligna e la chemioresistenza. La conoscenza dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'interconnessione del TME è stata recentemente considerata un punto cruciale per la progettazione di strategie terapeutiche più efficaci⁶⁰.

La patogenesi di questo tumore è indubbiamente legata al TME creato dal deposito di amianto nella pleura, che stimola la risposta immunitaria. Un ruolo cruciale in questo processo è riconosciuto ai macrofagi pleurici reclutati nel sito infiammatorio, i quali, non riuscendo ad eliminare le fibre, vanno incontro a fagocitosi frustrata, un processo che porta alla generazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e al rilascio di molecole pro infiammatorie (IL-1 β , IL-8, IL-6 e TNF- α)⁶¹. L'accumulo di fibre di amianto porta all'attivazione aberrante di vie intracellulari e processi trascrizionali responsabili della trasformazione maligna delle cellule mesoteliali e dello sviluppo del TME⁶². Infatti, i macrofagi associati al tumore (TAM), le cellule T regolatorie (Treg) e i fibroblasti associati al cancro (CAF) costituiscono la componente più numerosa dell'infiltrato nel MM, e, in risposta a segnali pro-tumorali, acquisiscono proprietà maligne ed immunosoppressive, influenzando la progressione del tumore⁶³. Le cellule tumorali hanno sviluppato diversi meccanismi per sfuggire alla sorveglianza immunitaria, come l'attivazione della via inibitoria (PD-1/PD-L1) che porta all'esaurimento delle cellule T e alla soppressione della citotossicità⁶⁴.

La resistenza ai farmaci antitumorali è un'altra caratteristica delle cellule del MM, supportata dal TME⁶⁵. Data l'importanza delle interazioni tra le cellule stromali e quelle neoplastiche, diversi gruppi di ricerca hanno analizzato il TME con l'obiettivo di sviluppare nuove strategie capaci di migliorare l'efficacia dell'immunoterapia⁶³.

Diversi studi hanno riportato il valore prognostico delle cellule immunitarie nel microambiente del MM, un'alta incidenza di cellule T CD8+ è stata associata a una prognosi migliore e a un esito favorevole; al contrario, la presenza di macrofagi di tipo M2, che rappresentano la popolazione immunitaria più abbondante nel TME del MM, è stata correlata a una prognosi peggiore e a nessun miglioramento nella sopravvivenza complessiva⁶⁶.

Cellule staminali tumorali e chemioresistenza

Una sottopopolazione di cellule tumorali, indicata come cellule staminali tumorali (CSC), è stata ipotizzata essere coinvolta nella genesi dei tumori e nella progressione metastatica. Queste cellule grazie alla capacità di auto-rinnovamento e attraverso divisioni asimmetriche mantengono la nicchia staminale nei siti tumorali.

La teoria delle CSC si basa sull'idea che ci sia un'organizzazione gerarchica all'interno del tumore, in cui da un sottogruppo di cellule staminali con elevate capacità di trasformazione tumorale può originare una popolazione tumorale eterogenea associata a rapida recidiva⁶⁷. Diversi studi hanno identificato la presenza di CSC all'interno del MM e le hanno indicate come responsabili dell'eterogeneità tumorale, della chemioresistenza e delle recidive dopo la terapia. Il MM, come altri tipi di tumori, è fortemente caratterizzato da eterogeneità inter e intra-tumorale, e la persistenza di CSC resistenti nel tessuto tumorale rappresenta la principale causa di insuccesso della terapia⁶⁸.

È stato dimostrato che il trattamento di linee cellulari di MM con cisplatino favorisce la selezione di una sottopopolazione con aumentato potenziale replicativo e alti livelli di espressione di geni correlati alla staminalità, tra cui OCT4, NOTCH1 e BMI1⁶⁹. Diversi tumori hanno mostrato la presenza di una sottopopolazione di cellule chemioresistenti che esprimono elevati livelli di proteine di trasporto ABC e un'attività aumentata dell'aldeide deidrogenasi (ALDH1)⁷⁰. L'aumento dell'espressione del trasportatore di farmaci ABC-B5 è stata osservata nelle CSC di MM come necessaria per l'acquisizione e il mantenimento di un fenotipo di staminalità e chemioresistenza. Inoltre, meccanismi intrinseci, come l'aumentata espressione dei loop autocrini Wnt/GSK3- β / β -catenina/c-myc nelle CSC di MM, supportano la iper-attivazione di ABC-B5 così come la resistenza farmacologica di queste cellule⁷¹.

È stato in seguito dimostrato che il pemetrexed causa un'accelerata senescenza nelle cellule di MM, accompagnata dalla produzione di citochine e molecole pro-infiammatorie. In aggiunta, si è evidenziata l'attivazione della segnalazione di STAT3, che a sua volta innesca programmi di transizione epitelio-mesenchimale (EMT), con il rilascio di fattori promotori dell'invasione come la MMP-2 e l'emergere di cellule chemioresistenti, clonogeniche e dotate di attività di ALDH+⁷².

La carenza del gene soppressore tumorale NF2 nei modelli murini di MM è stata correlata a un aumento delle cellule staminali tumorali (CSC) nel tessuto tumorale⁷³. Studi recenti hanno dimostrato una correlazione tra la presenza di popolazioni cellulari negative per NF2 e una elevata sensibilità agli inibitori della segnalazione di FAK nelle cellule di MM⁷⁴. Il ruolo di FAK a livello tumorale e il

suo contributo all'auto-rinnovamento e all'aggressività delle CSC nei tumori sono stati ampiamente riportati⁷⁵. Il trattamento di linee cellulari di MM e di topi NOD/SCID (Non-Obese Diabetic, Severe Combined Immunodeficiency) con inibitori di FAK ha portato all'eliminazione delle CSC. Poiché le CSC sono resistenti ai farmaci, un approccio combinato con inibitori di FAK e agenti chemioterapici potrebbe rappresentare una nuova potenziale strategia di trattamento per eradicare le CSC e superare il meccanismo di chemioresistenza⁷⁴. Attualmente, si sa poco sui meccanismi molecolari alla base della chemioresistenza delle CSC in MM. Pertanto, è necessaria una migliore caratterizzazione della biologia delle CSC di MM per contrastare la resistenza ai farmaci e migliorare il trattamento del MM.

Diversi studi hanno quindi evidenziato la capacità metastatica delle CSC come attori chiave nella progressione tumorale⁷⁶. In questo contesto, analisi biochimiche hanno mostrato come le cellule staminali del MM (MSC) derivate da sferoidi, che esprimevano livelli aumentati della transglutaminasi 2 (TG2), una proteina correlata alla sopravvivenza delle cellule tumorali, avevano capacità invasive e migratorie superiori rispetto alle cellule di MM derivate da monostrati. Si è osservato che TG2 svolge ruoli importanti nell'acquisizione del fenotipo di CSC e nell'invasività delle cellule tumorali. L'inattivazione della TG2 è stata dimostrata ridurre l'espressione di marcatori di transizione epitelio-mesenchimale (Fibronectina, MMP-9, Slug e Snail), le capacità invasive su Matrigel e aumentare i livelli di fattori pro-apoptotici come la caspasi-9 e l'attività di PARP⁷⁶.

Sono molteplici gli studi che hanno documentato l'importanza delle interazioni con il TME per sostenere la crescita tumorale e le metastasi⁷⁷. Uno studio recente ha dimostrato che l'inibizione della via di segnalazione YAP1/TAZ/TEAD nelle MSC derivate da cellule di MM peritoneale e pleurico ha ridotto la migrazione e l'invasività di queste cellule, aumentando l'espressione di marcatori pro-apoptotici e riducendone la staminalità misurata in termini di capacità di formare sferoidi⁷⁸. Un altro studio invece ha dimostrato che il numero di cellule staminali negli sferoidi tumorali aumentava in risposta a segnali chemiotattici, in particolare l'aumento dell'espressione dell'asse SDF1/CXCR4, che induceva il reclutamento di queste cellule nei siti tumorali⁷⁷.

Questi dati evidenziano l'importanza della comprensione dei segnali presenti nel TME per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici.

Lo stroma

La crescita tumorale dipende non solo dall'attività delle cellule tumorali, ma anche dalle interazioni tra cellule neoplastiche, stroma, fattori solubili extracellulari e cellule infiammatorie che collaborano per sostenere la progressione del tumore. Le cellule tumorali sono in grado di modificare

il microambiente circostante mediante il rilascio di fattori solubili. Di conseguenza si instaura un ambiente permissivo per le cellule tumorali che eludono i meccanismi di difesa immunitaria e metastatizzano (Figura 5)⁷⁹. È stata identificata un'elevata espressione di citochine solubili pro-infiammatorie nel versamento pleurico dei pazienti affetti da MM, così come nel supernatante delle linee cellulari di MM. Queste citochine, tra cui IL-6, TGF- β , VEGF e IL-12, sono note per favorire la progressione maligna, compresi i meccanismi invasivi, angiogenici e immunosoppressivi⁸⁰. Le proteine della matrice extracellulare (ECM) sono risultate essere iperespresse, soprattutto nei sottotipi istologici più aggressivi del MM. Integrine, collagene, fibronectina e metalloproteasi sono state prodotte in modo significativo dalle linee cellulari del MM per rendere la matrice extracellulare favorevole ai processi di chemiotassi e invasione⁶⁶. La via del TGF- β stimola l'espressione di fattori di crescita del tessuto connettivo (CTGFs) da parte delle cellule tumorali di MM e delle cellule stromali circostanti⁸¹. L'espressione di CTGF è stata riscontrata in diversi tipi di tumore essere correlata a caratteristiche maligne, come angiogenesi, invasione e metastasi⁸². Nel MM, è stato osservato che i CTGF partecipano alla modulazione della matrice extracellulare mediante la secrezione di proteine associate alla matrice⁸¹.

I fibroblasti associati al cancro (CAFs) sono uno dei principali componenti reclutati nello stroma tumorale. Queste cellule interagiscono con le cellule tumorali e reclutano cellule immunitarie e vascolari nel sito tumorale attraverso il rilascio di fattori solubili, come citochine e chemochine (Figura 5)⁸³. I CAF sono in grado di rimodellare la matrice extracellulare mediante la produzione di diverse proteine correlate ad essa (ad esempio, integrine) che mediano il crosstalk con le cellule tumorali e promuovono l'invasione locale e la diffusione metastatica⁸⁴. La presenza di CAF nel tessuto MM correla con una prognosi sfavorevole⁸⁵.

È stato proposto un meccanismo attraverso il quale i fibroblasti partecipano alla fibrosi pleurica nelle fasi precoci del MM in risposta alla produzione di ROS da parte dei macrofagi frustrati. I fibroblasti attivati svolgono un ruolo pro-tumorale mediante l'espressione di CTGF e altre citochine⁸⁵. Le evidenze suggeriscono l'esistenza di un feedback positivo tra le cellule di MM e i CAFs: le cellule tumorali producono fattori di crescita, come FGF-2 e PDGF-AA, che promuovono la crescita e l'attività dei CAFs, i quali a loro volta secernono citochine e HGF potenziando le capacità migratorie e invasive delle cellule tumorali⁸⁶. Il MM è indicato come un tumore con una forte tendenza all'angiogenesi ed è ben noto che i CAFs sono fattori pro-angiogenici nei tumori⁶⁰. Il siero e il versamento pleurico dei pazienti affetti da MM hanno mostrato livelli elevati di citochine angiogeniche come VEGF e FGF-2, che sono correlati allo sviluppo di nuovi vasi sanguigni nei

tumori⁸⁷. Inoltre, una minore infiltrazione di cellule immunitarie è stata correlata con un'alta espressione di geni correlati allo stroma e al tessuto connettivo⁶⁴.

Il MM contiene una popolazione eterogenea di cellule immunitarie, che varia tra i pazienti e i sottotipi istologici⁶³. A causa del ruolo prognostico e terapeutico delle cellule immunitarie, l'indagine in questa area ha recentemente attirato interesse, con l'obiettivo di caratterizzare il TME del MM sono stati identificati marcatori immunitari con valore prognostico nel tumore e nello stroma tumorale del tessuto di MM epitelioide. In particolare, si è scoperto che i marcatori dei linfociti infiltranti nel tumore (CD8, CD20) sono correlati a una prognosi migliore. Al contrario, l'alta densità di TAM di tipo M2 (CD163+) e l'espressione dei recettori delle citochine (IL-7R+) da parte delle cellule tumorali hanno portato a una diminuzione della sopravvivenza dei pazienti⁸⁸.

Diverse scoperte hanno dimostrato che il TME del MM è arricchito da un elevato numero di cellule immunosoppressive, tra cui i TAM di tipo M2 e le cellule T regolatorie⁶³. Nei versamenti pleurici dei pazienti affetti da MM sono presenti linfociti T citotossici e helper attivati; tuttavia, la maggior parte di essi esprime marcatori di esaurimento, come PD-1+, TIM-3, LAG-3, che regolano negativamente l'attività linfocitaria⁸⁹. Alcuni studi dimostrano che la segnalazione di PD-L1 nei tumori favorisce la riconversione delle cellule T-helper-1 (Th-1) in cellule T regolatorie⁹⁰. I livelli elevati di PD-L1 lo hanno reso un tumore idoneo per la terapia basata sugli inibitori dei checkpoint immunitari (Figura 5)⁶⁴.

Recentemente mediante analisi citofluorimetrica su campioni di pazienti affetti da MM, è stata identificata una proporzione di linfociti CD8+ infiltranti nel tumore (TIL) e cellule della memoria residenti nel tessuto (T_{rm}) ipofunzionali, correlati a una maggiore quantità di linfociti T regolatori e all'espressione del fattore di trascrizione Eomes, noto come regolatore delle funzioni delle cellule CD8+⁹¹. Al contrario l'alta densità di cellule immunitarie CD8+ è associata a un migliore outcome dei pazienti affetti da MM⁹².

Le cellule natural killer (NK) sono state identificate nei campioni di MM; tuttavia, queste cellule mostrano un profilo immunosoppressivo e funzioni citotossiche inferiori⁹³.

Nel complesso l'eterogeneità del contenuto di cellule immunitarie nel TME del MM e le funzioni pro-tumorali del contenuto stromale, indicano che una migliore comprensione di questi componenti è necessaria per lo sviluppo di una terapia antitumorale mirata più efficace.

I macrofagi

La mancata fagocitosi delle fibre di amianto da parte dei macrofagi rappresenta uno dei possibili meccanismi che favoriscono la trasformazione neoplastica delle cellule mesoteliali⁹⁴. I macrofagi incapaci di eliminare le fibre rilasciano ROS e citochine pro-infiammatorie che promuovono un ambiente pro-infiammatorio e attivano vie di segnalazione nelle cellule tumorali per permettere loro di sopravvivere nonostante i danni correlati all'amianto⁹⁵. I macrofagi sono cellule immunitarie plastiche che, in risposta a segnali ambientali, possono acquisire diversi fenotipi⁹⁶. I profili pro-infiammatori (M1) e anti-infiammatori (M2) rappresentano i principali fenotipi dei macrofagi polarizzati⁹⁷. I TAMs sono generalmente cellule del sistema immunitario che infiltrano il tessuto tumorale e acquisiscono una polarizzazione simile a M2⁹⁸. Questi TAMs di tipo M2 favoriscono un TME pro-tumorale attraverso la produzione di diversi fattori di crescita e enzimi che promuovono l'angiogenesi, l'immunosoppressione e le metastasi⁹⁹. Nel TME del MM, i TAMs rappresentano la popolazione immunitaria più abbondante, e l'alta prevalenza di queste cellule è stata associata a una prognosi sfavorevole (Figura 5)⁶⁶.

I TAMs possono esercitare funzioni immunomodulatorie, difendendo le cellule tumorali dagli attacchi del sistema immunitario¹⁰⁰. Uno studio ha riportato che i macrofagi nel TME infiammatorio del MM, inibiscono direttamente la proliferazione delle cellule T CD4 e CD8. Inoltre, elevati livelli di prostaglandine PGE2 nei versamenti pleurici dei pazienti affetti da MM sono stati associati all'aumento del numero di macrofagi M2, suggerendo PGE2 come una molecola chiave per la polarizzazione dei TAM verso il fenotipo immunosoppressivo⁸⁰. Un altro studio invece ha dimostrato che bersagliare i TAMs simili a M2 riduce la crescita e le metastasi del MM¹⁰¹.

Le cellule di MM sono capaci di indurre la polarizzazione simile a M2 attraverso il rilascio di citochine¹⁰². Infatti, nei versamenti pleurici dei pazienti affetti da MM è stata riportata un'alta espressione di citochine anti-infiammatorie, quali TGF- β , IL-10 e M-CSF, ⁶⁶. Di conseguenza, è stato riscontrato un aumento del numero di macrofagi infiltranti (CD68+) con un fenotipo simile a M2 (CD163+; CD206+; IL-4R α +) sia nel MM e che in quello peritoneale¹⁰³. La via di segnalazione IL-1 β /IL-1R è un altro importante bersaglio terapeutico. I TAMs producono IL-1 che attivando l'IL-1R espresso dalle cellule tumorali promuove l'acquisizione di un fenotipo staminale (CSC-like)¹⁰⁴.

La presenza di TAMs simili a M2 è stata associata a un aumento del tasso di proliferazione delle cellule tumorali, così come a una diminuzione dell'efficacia dei farmaci chemioterapici¹⁰³. Diversi studi hanno mostrato che il rilascio di molecole, come IL-6, IL-10 e IL-34 da parte dei TAMs, contribuisce a rendere le cellule tumorali chemio/radioresistenti¹⁰⁵. Un altro studio ha riportato che la

presenza dei ligandi di CSF-1R, M-CSF e IL-34, nei versamenti pleurici di pazienti affetti da MM, è associata ad una sopravvivenza breve. Tuttavia, solo la presenza di M-CSF è stata associata all'espressione di marcatori simili a M2, suggerendo un ruolo diverso per IL-34 nell'ambiente tumorale¹⁰⁶. Studi *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato che l'inibizione di CSF-1R, bloccando i TAM è in grado di promuovere la risposta antitumorale delle cellule T CD8⁺¹⁰⁷. In combinazione con gli inibitori di PD-L1, l'inibizione di CSF-1R potenzia la risposta delle cellule T e riduce drammaticamente la crescita tumorale¹⁰⁸. In modelli animali, l'anticorpo monoclonale anti-CSF-1R (RG7155) riduce significativamente i TAMs quantificati nelle biopsie di MM come cellule CD68+/CD163⁺¹⁰⁹. Recentemente, è emerso che il CSF-1R può essere espresso anche da una sottopopolazione di cellule di MM che, attivate dai ligandi IL-34 e M-CSF1 presenti nel versamento pleurico, sono resistenti ai chemioterapici¹¹⁰. Nel complesso, bersagliare IL-34, M-CSF e CSF-1R potrebbe quindi rappresentare un approccio terapeutico utile per colpire sia le cellule tumorali che i macrofagi pro-tumorali.

Un mediatore pro-infiammatorio critico nel processo di trasformazione mesoteliale è stato identificato nella proteina box 1 ad alta mobilità (HMGB1), una citochina che, in seguito all'esposizione all'amianto, viene rilasciata dalle cellule mesoteliali attirando e attivando i macrofagi. Inoltre, l'HMGB1 compromette la fagocitosi dei macrofagi e induce la secrezione del fattore di necrosi tumorale- α (TNF- α), proteggendo le cellule mesoteliali dai segnali di morte e sostenendo la risposta infiammatoria cronica¹¹¹. Il legame dell'HMGB1 a specifici recettori sui macrofagi attiva l'inflammasoma NLRP3 e induce la secrezione di IL-1 β , IL-18, IL-1 α e dello stesso HMGB1, stabilendo un loop infiammatorio cronico¹¹². Queste citochine sostengono la proliferazione delle cellule neoplastiche¹¹³.

Le cellule tumorali esprimono livelli elevati di molecole "don't eat me" quali CD47, che aiuta le stesse a sfuggire alla fagocitosi da parte dei macrofagi¹¹⁴.

In diversi tipi di tumore sono state sviluppate strategie per ridurre i TAMs, attraverso il blocco del reclutamento o la deplezione, o per riprogrammare i TAM in cellule effettrici antitumorali¹¹⁵. Ad esempio, è stato riportato che l'acido zoledronico inibisce la differenziazione dei macrofagi M2 e l'accumulo dei TAMs¹¹⁶. Studi recenti suggeriscono che l'accumulo dei TAMs nei tumori può dipendere dalla proliferazione in situ dei macrofagi. Questi macrofagi proliferanti sono stati identificati in diversi tipi di tumori solidi umani, dove rappresentano un potenziale marcatore prognostico¹¹⁷. I meccanismi che regolano l'auto-rinnovamento dei TAMs sono oggetto di studio in quanto considerati dei nuovi potenziali bersagli terapeutici.

L'adenosina

Le quantità extracellulari di adenosina (ADO) nei tessuti tumorali sono superiori rispetto ai tessuti normali a causa dell'accumulo di ATP¹¹⁸. L'adenosina è un metabolita della via ATP-AMP che si accumula nel tumore per azione delle ectonucleotidasi CD39 e CD73¹¹⁸. Oltre alle cellule tumorali, CD39 e CD73 sono anche espresse su un'ampia gamma di cellule nel TME, come cellule T, macrofagi, MDSC, cellule B, cellule epiteliali e anche su esosomi derivati dal tumore¹¹⁹.

L'ATP extracellulare (eATP) viene rilasciato da cellule morenti e danneggiate e funge da segnale immunostimolante. L'evento chiave che attiva la via adenosina è la conversione eATP in AMP da parte di CD39, e la successiva conversione dell'AMP in adenosina da parte di CD73 (Figura 5)¹²⁰. L'adenosina si lega e attiva quattro differenti recettori accoppiati a proteine G (A1R, A2AR, A2BR e A3R) che hanno una diversa affinità per l'adenosina e sono espresse da distinte popolazioni cellulari¹²⁰.

La via adenosinergica (AP) è principalmente mediata dall'alta affinità di legame dell'adenosina al recettore A2AR presente sulla superficie di macrofagi, cellule T, cellule NK, neutrofili e cellule dendritiche, nonché su cellule epiteliali, mesoteliali e tumorali¹²¹. L'equilibrio tra i livelli dei recettori per ATP e adenosina e l'espressione delle ectonucleotidasi CD39 e CD73 determina l'attivazione di una risposta infiammatoria o antinfiammatoria.

Mentre nelle condizioni fisiologiche la via adenosinergica è controllata con precisione, in condizioni patologiche come il cancro, la via di segnalazione è sbilanciata verso la produzione di adenosina, la quale:

- Sostiene cellule immunosoppressive;
- Promuove il rilascio di citochine e fattori immunomodulatori come VEGF, IL6, IL10 e TGF- β ;
- Potenzia la sopravvivenza delle cellule tumorali e la metastatizzazione¹²².

L'adenosina promuove l'attività delle cellule T regolatorie, la polarizzazione delle cellule mieloidi verso fenotipi immunosoppressivi e pro-angiogenici, inibisce le cellule NK e le cellule T CD8 effettrici. Molti studi hanno riportato che un aumento dell'espressione di CD73 è correlato a prognosi sfavorevole, metastasi e una debole risposta agli agenti chemioterapici¹²³. Inoltre, diverse evidenze suggeriscono che l'adenosina possa aumentare la secrezione di VEGF da parte dei macrofagi attraverso l'attivazione dei recettori A2A¹²⁴. È stato infatti riportato che l'espressione di A2A sulle cellule mieloidi, in particolare sui TAM, mediasse indirettamente la soppressione delle cellule T e

delle cellule NK nell'ambiente tumorale¹²⁵. Inoltre, l'adenosina inibisce il rilascio di TNF- α e IL-12 e aumenta la produzione di IL-10 e di VEGF da parte dei macrofagi attivati da LPS o batteri e promuove l'attivazione alternativa dei macrofagi¹²⁶. Più recentemente, è stato riportato che l'adenosina è coinvolta anche nella proliferazione dei TAM¹²⁷. Studi meccanicistici hanno dimostrato che l'adenosina rilasciata dalle cellule epatiche può promuovere la proliferazione dei macrofagi attraverso il recettore A2A, e l'adenosina derivante dal tumore agisce sinergicamente con il GM-CSF autocrino rilasciato nell'ambiente tumorale, supportando la proliferazione dei macrofagi (Figura 5)⁶⁰.

Nonostante la via adenosinergica nel MM sia ancora poco studiata, l'importanza di questa via in altri tumori la indica come una nuova e promettente opportunità terapeutica che merita di essere valutata.

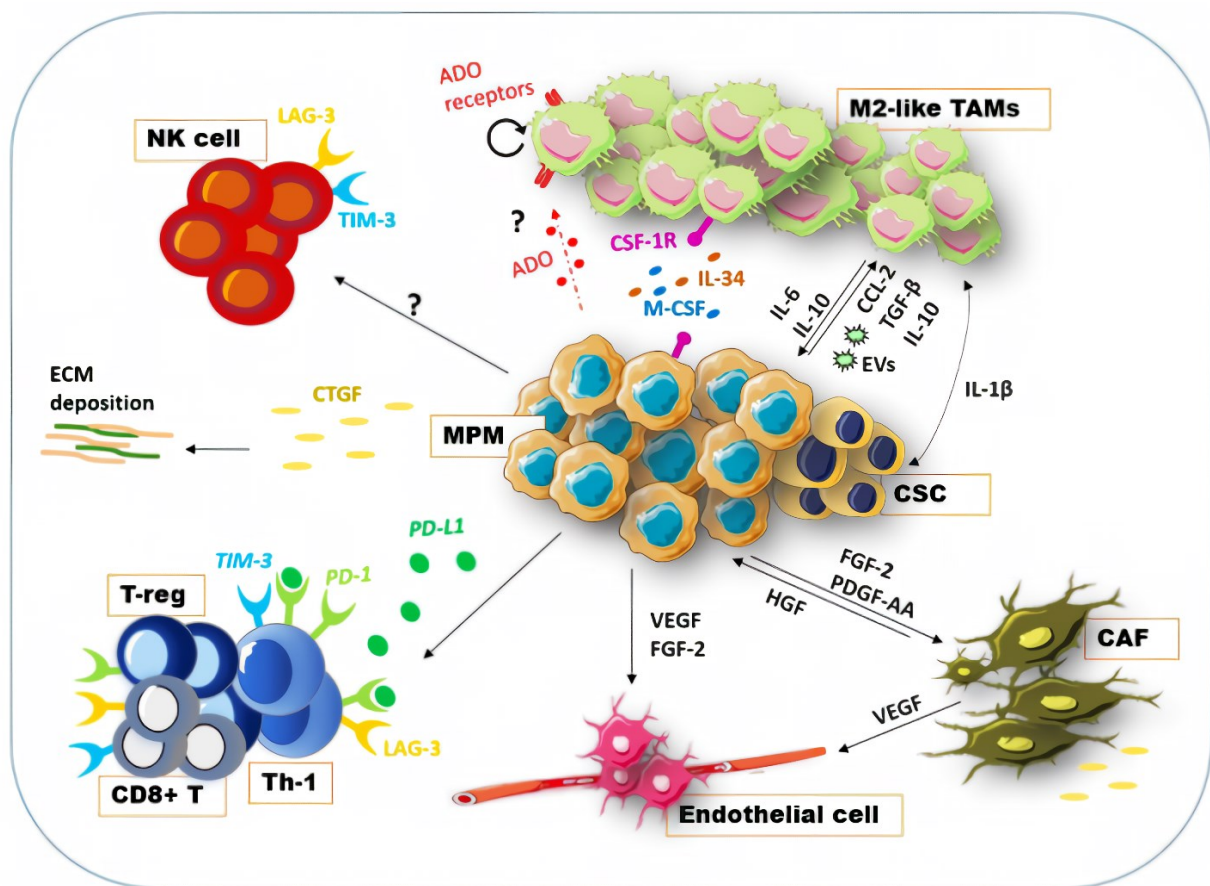


Figura 5: Fattori cellulari e solubili nel TME. Immagine riassuntiva dell'interconnessione che c'è tra le cellule tumorali, la componente stromale e il sistema immunitario necessaria per creare un ambiente favorevole alla crescita del tumore, alla fuga immunitaria e all'invasione dei tessuti a distanza⁶⁰.

ADO: Adenosine; CAF: Cancer-Associated Fibroblasts; CCL: CC motif Chemokine Ligand; CD8+ T: CD8-positive T cell; CSC: Cancer Stem Cells; CSF-1R: Colony Stimulating Factor-1 Receptor; CTGF: Connective Tissue Growth Factor; ECM: Extracellular Matrix; EVs: Extracellular Vesicles; FGF: Fibroblast Growth Factor; HGF: Hepatocyte Growth Factor; IL: Interleukin; LAG-3: Lymphocyte-Activation Gene 3; M-CSF: Macrophage Colony-Stimulating Factor; MMP: Matrix Metalloproteinase; NK: Natural Killer; PD-1: Programmed cell Death protein 1; PDGF-AA: Platelet-Derived Growth Factor-AA; PD-L1: Programmed Death Ligand 1; TAM: Tumor Associated Macrophages; TGF- β : Transforming Growth Factor-beta; Th-1: Type 1 T helper cells; TIM-3: T cell Immunoglobulin and Mucin domain-3; VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

L'angiogenesi nel mesotelioma

Le prove precliniche e cliniche hanno ampiamente dimostrato che l'angiogenesi rappresenta un passaggio cruciale nello sviluppo del MM, poiché è necessaria per fornire ossigeno e nutrienti alle cellule tumorali. Fin dai primi anni del 2000, è stato riconosciuto che le cellule del MM sono in grado di produrre fattori di crescita che promuovono l'angiogenesi, in particolare il VEGF, e di esprimere alti livelli dei recettori corrispondenti, formando cicli autocrini (Figura 5)¹²⁸. Fisiologicamente, il segnale del VEGF è coinvolto nello sviluppo e nella manutenzione delle strutture vascolari dall'embriogenesi all'età adulta¹²⁹.

Sono conosciute diverse isoforme di VEGF e due principali recettori tirosin chinasi (VEGFR-1 e -2), di cui il VEGFR-2 è un importante mediatore degli effetti biologici. Questo recettore attiva diversi meccanismi nelle cellule endoteliali promuovendo differenziazione, sopravvivenza, proliferazione, migrazione e angiogenesi. Due principali vie coinvolte nella promozione della crescita e della sopravvivenza cellulare sono Raf/MAPK e PI3K-Akt¹³⁰. Inoltre, interagendo con VEGFR-2, il VEGF attiva le proteine chinasi regolate dal segnale extracellulare (ERK) 1 e 2, l'attivazione della cascata Raf-1/MEK/ERK rappresenta un'altra via cruciale per la promozione dell'angiogenesi¹³¹.

Nonostante la formazione di nuovi vasi sanguigni, questi vasi nel tessuto tumorale sono tipicamente anomali nella loro struttura, rendendo il tessuto tumorale ipossico e difficile da raggiungere per i farmaci antitumorali¹³². I pazienti con MM hanno livelli più elevati di VEGF sierico rispetto agli individui con altri tumori solidi o malattie pleuriche benigne correlate all'amianto. Livelli elevati di VEGF sono associati a una prognosi peggiore¹³³. Di conseguenza, il targeting della via del VEGF è un approccio logico, e sono stati investigati diversi inibitori.

Terapia di Prima Linea

Terapia multimodale

Il trattamento standard per il MM è la resezione chirurgica combinata con radioterapia/chemioterapia (trattamento multimodale), oppure solo radioterapia e chemioterapia per i tumori non asportabili. Tuttavia, l'aspettativa di vita dei pazienti rimane bassa¹³⁴. L'efficacia ridotta del trattamento è principalmente legata allo sviluppo di meccanismi di resistenza, ma anche dalla complessità e eterogeneità di questo tumore¹³⁵. In generale, la prognosi è sfavorevole, poiché la maggior parte dei pazienti ha una malattia non resecabile alla diagnosi o viene considerata inoperabile a causa dell'età, dello stato di salute o della presenza di comorbidità¹³⁶.

Chirurgia

Per i tumori resecabili, le tre procedure chirurgiche più comunemente utilizzate sono la toracosopia con pleurodesi, la pleurectomia/decorticazione e la pneumonectomia extrapleurica¹³⁷.

La pleurectomia/decorticazione è una procedura chirurgica volta a ridurre la dimensione della massa tumorale. Questa procedura viene eseguita mediante toracotomia aperta e consiste nell'asportare la pleura parietale, compresa la porzione adiacente al mediastino, il pericardio e il diaframma, e l'asportazione della pleura viscerale per decorticare il polmone. Questo trattamento fornisce sollievo dai sintomi locali e previene la ricomparsa di versamenti pleurici ma spesso si associa a un tasso elevato di recidiva locale (80% - 90%) o a distanza (10% - 36%), oltre a non essere generalmente curativo¹³⁷, per questa ragione il ruolo della pleurectomia/decorticazione è oggetto di dibattito. Uno studio ha confrontato la pleurodesi con talco con la pleurectomia parziale videoassistita mediante toracosopia (VAT-PP), quest'ultima non ha portato a un miglioramento della sopravvivenza complessiva e ha evidenziato un aumento delle complicanze chirurgiche; tuttavia, la qualità della vita a 6 mesi era migliore¹³⁸.

La pneumonectomia extrapleurica (EPP) è considerata una tecnica più aggressiva che coinvolge la rimozione dei tessuti nell'emitorace, compresa la pleura viscerale e parietale, il polmone interessato, i linfonodi mediastinici, il diaframma e il pericardio. Di solito non è presa in considerazione nei pazienti con comorbidità limitanti, basso stato di salute, coinvolgimento dei linfonodi mediastinici o istologia sarcomatoide¹³⁹.

La pleurodesi è una procedura che consiste nel rimuovere l'accumulo di liquido nello spazio pleurico. Coinvolge il drenaggio del liquido attraverso la toracosopia, eseguita sotto anestesia generale o sedazione, o mediante l'inserimento di un tubo toracico attraverso una toracostomia. Dopo la rimozione del liquido, vengono introdotti agenti sclerosanti nella cavità pleurica per prevenire

ulteriori accumuli di liquido¹⁴⁰. Un confronto tra la pneumonectomia extrapleurica e la pleurectomia/decorticazione in 663 pazienti hanno mostrato un aumento del 40% del rischio di decesso per i pazienti sottoposti a pneumonectomia extrapleurica¹⁴¹. In un altro trial clinico randomizzato, i pazienti che hanno ricevuto chemioterapia neoadiuvante con composti di coordinazione del platino sono stati assegnati casualmente alla pneumonectomia extrapleurica o a un altro trattamento, e non sono state riscontrate differenze significative né nella sopravvivenza né nella qualità di vita tra i gruppi.¹⁴¹.

Chemioterapia

Dall'introduzione della terapia combinata con composti di coordinazione del **platino** (cisplatino o carboplatino) e **antifolati** (pemetrexed o raltitrexed) non sono stati riportati progressi significativi. La sopravvivenza complessiva è risultata migliore con questo regime terapeutico rispetto alla sola terapia a base di composti di coordinazione del platino (12,1 contro 9,3 mesi), con un'estensione della durata media prima della recrudescenza della malattia. (5,7 contro 3,9 mesi), con migliori risultati per il sottotipo epitelioide⁹. Recentemente, l'aggiunta di **bevacizumab** a questo duplice trattamento ha aumentato la sopravvivenza complessiva di 2,7 mesi¹⁴² ed è ora raccomandata come possibile trattamento di prima linea in combinazione con cisplatino e pemetrexed per il MM non resecabile¹⁴³.

Attualmente non esiste una vera e propria terapia di seconda linea, la chemioterapia palliativa o altri agenti sperimentali possono essere presi in considerazione in caso di progressione dopo la terapia di prima linea e nei pazienti con uno stato di salute accettabile¹⁴⁴. Una reintroduzione dei composti di coordinazione del platino o la chemioterapia con singoli agenti come gemcitabina, vinorelbina, alcaloidi della vinca o antracicline sono comunemente utilizzati, con prove di beneficio sulla sopravvivenza¹⁴⁵. La reintroduzione del pemetrexed è stata suggerita come utile nei pazienti che hanno ottenuto una buona risposta alla terapia iniziale con pemetrexed, con un aumento della PFS, ma senza miglioramento della OS⁹.

Radioterapia

Le attuali principali indicazioni per la radioterapia nel MM sono:

- Radioterapia emitoracica prima o dopo la pneumonectomia extrapleurica;
- Radioterapia emitoracica dopo decorticazione/pleurectomia;
- Radioterapia palliativa per alleviare i sintomi locali¹⁴⁶.

La radioterapia emitoracica radicale (RHR) può essere impiegata successivamente alla pneumonectomia extrapleurica per potenziare il controllo locale, nonostante si associ a un tasso di

insuccesso che va dal 15% al 35%.¹⁴⁷. Nonostante il tema sia ancora oggetto di dibattito, diverse linee guida terapeutiche raccomandano la RHR, come il NCCN (National Comprehensive Cancer Center). Uno studio prospettico di fase II ha indagato il ruolo della RHR dopo chemioterapia neoadiuvante a base di composti di coordinazione del platino e seguita da pneumonectomia extrapleurica, la randomizzazione ha suddiviso i pazienti tra trattamento radioterapico e monitoraggio senza intervento e non è stata riscontrata una differenza significativa tra i gruppi. In un recente studio di fase III, è stato confrontato l'utilizzo della radioterapia emitoracica radicale (RHR) con la radioterapia palliativa dopo un intervento chirurgico non radicale al polmone e chemioterapia, ottenendo una maggiore sopravvivenza globale nel gruppo RHR. (sopravvivenza a 2 anni 58% contro 28%, a discapito di una tossicità di grado 3/4 più elevata)¹⁴⁸.

La scelta di utilizzare la radioterapia emitoracica neoadiuvante prima della pneumonectomia extrapleurica è stata supportata dall'osservazione della diffusione frequente del tumore al polmone controlaterale e al peritoneo, possibilmente legata all'intervento chirurgico. La strategia SMART (Surgery for Mesothelioma After Radiation Therapy) è stata formulata con l'obiettivo di ridurre i tassi di diffusione associati all'intervento chirurgico¹⁴⁹. Gli autori hanno osservato una sopravvivenza complessiva mediana di 51 mesi e una sopravvivenza senza malattia mediana di 47 mesi per il MM pleurico epitelioide, suggerendo che tale strategia possa fornire qualche beneficio.

A seguito della pubblicazione di dati controversi dello studio MARS-1, l'uso della pneumonectomia extrapleurica è diminuito negli ultimi anni a favore di tecniche di risparmio polmonare, come la pleurectomia e la decorticazione polmonare. Un altro studio prospettico di fase II, ha dimostrato invece la sicurezza dell'erogazione di radioterapia a intensità modulata all'emitorace contemporaneamente alla chemioterapia in pazienti sottoposti a pleurectomia e decorticazione polmonare¹⁵⁰.

Terapia palliativa

L'elevato carico sintomatico nel MM non solo incide sulla qualità della vita, ma, se scarsamente controllato, può portare a ricoveri ospedalieri non pianificati e evitabili¹⁵¹. Spesso i pazienti hanno bisogni di cure palliative fin dalla diagnosi e un invio tempestivo ai servizi specialistici di cure palliative può essere vantaggioso. Sebbene l'impatto nel MM non sia ancora stato stabilito, le cure palliative precoci dei pazienti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule hanno dimostrato di aumentare la sopravvivenza di 2 mesi, migliorare la qualità della vita e risultare in cure meno aggressive alla fine della vita¹⁵². È in corso la fase di reclutamento del trial multicentrico

randomizzato RESPECT MESO per indagare l'impatto delle cure palliative specialistiche precoci sulla qualità di vita correlata alla salute nei pazienti¹⁵³.

Il 92% dei pazienti con MM riferisce tre o più sintomi alla diagnosi¹⁵⁴. La stanchezza è il sintomo più diffuso (94%), ma la dispnea (89%), il dolore (85%), la perdita di appetito (87%) e la tosse (75%) sono comuni. Questi sintomi riducono la qualità della vita complessiva¹⁵⁵. Il dolore al torace è un sintomo comune a causa della posizione del tumore. I pazienti possono manifestare diversi tipi di dolore, inclusi dolore somatico localizzato per l'invasione della parete toracica, dolore neuropatico per l'invasione del nervo intercostale o vertebrale, e dolore viscerale diffuso per l'invasione del polmone¹⁵⁵. Alcuni pazienti hanno un dolore toracico grave e intrattabile, noto come sindrome costopleurica. Il dolore può essere complesso e difficile da controllare, poiché potrebbe rispondere in modo insufficiente ai soli approcci farmacologici, nei pazienti con dolore complesso, è consigliabile coinvolgere in modo tempestivo le cure palliative specialistiche¹⁵⁵. Dovrebbero essere seguiti i principi della gestione del dolore oncologico utilizzando la scala analgesica dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, poiché si tratta di un metodo efficace per garantire la titolazione sistematica della terapia per il dolore oncologico¹⁵⁶ (Figura 6). L'analgesia sistemica orale dovrebbe essere somministrata regolarmente e titolata in base alle necessità. La **morfina** è raccomandata come oppioide di prima scelta per il dolore oncologico da moderato a grave. Tuttavia, altri oppioidi forti come l'**ossicodone** orale e l'**idromorfone** possono essere utilizzati se la morfina non è ben tollerata¹⁵⁵.

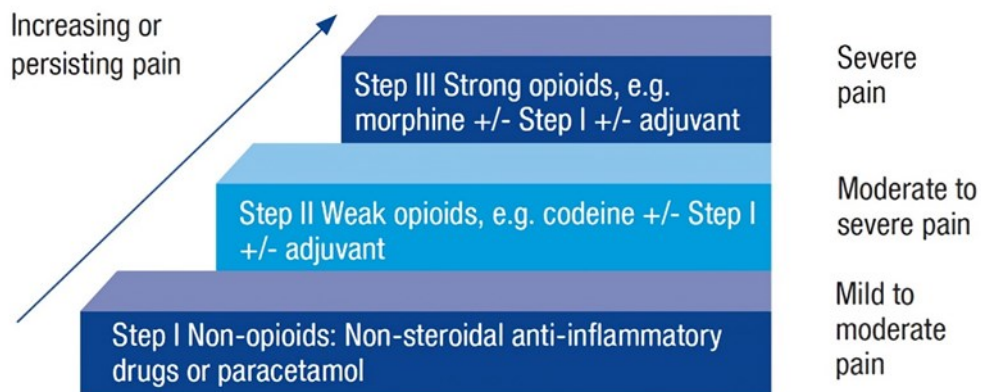


Figura 6: Scala analgesica dell'Organizzazione Mondiale della Sanità¹⁵⁵.

I pazienti che assumono oppioidi deboli dovrebbero convertire la loro dose alla dose equivalente di morfina a rilascio modificato (Tabella 7). Dovrebbe essere prescritta una preparazione a rilascio immediato aggiuntiva per il dolore improvviso¹⁵⁵.

Tabella 7: Conversione dose di oppioidi deboli in dose equivalente di morfina a lento rilascio.

| Analgesico | Dose equivalente di morfina |
|--|---------------------------------------|
| Codeina 30 mg | 3 mg di morfina orale |
| Codeina 60 mg quattro volte al giorno | 24 mg di morfina orale ogni 24 ore |
| Tramadolo 50 mg | 7,5 mg di morfina orale |
| Tramadolo 100 mg quattro volte al giorno | 40-60 mg di morfina orale ogni 24 ore |
| Idromorfone a rilascio immediato 1,3 mg | 10 mg di morfina orale |

Il dolore causato dal MM può spesso essere resistente agli oppioidi, e spesso è necessaria un'analgesia adiuvante in aggiunta¹⁵⁷. Gli **antidepressivi triciclici** (ad esempio amitriptilina) o gli **antiepilettici** (ad esempio gabapentin) dovrebbero essere presi in considerazione per il dolore neuropatico parzialmente responsivo agli oppioidi¹⁵⁵.

Nel contesto palliativo, la **radioterapia** può essere utilizzata per controllare una serie di sintomi per i quali il trattamento farmacologico è a volte inadeguato, come il dolore al petto associato all'invasione della parete toracica, l'emottisi, la tosse o la dispnea, oltre che per prevenire la compressione del midollo spinale¹⁵⁸.

Nuovi Approcci Terapeutici

Attualmente non vi è un accordo definito riguardo alla terapia sistemica di seconda linea per il MM avanzato, e i farmaci comunemente utilizzati sono associati a bassi tassi di risposta e a una sopravvivenza mediana ridotta¹⁵⁹.

Abbiamo precedentemente descritto le evidenze conosciute sul TME del MM. Poiché la maggior parte dei meccanismi di resistenza è mediata dall'interazione tra il tumore e le cellule del TME attraverso lo scambio di segnali pro-tumorali, la ricerca si è recentemente concentrata sull'indagine del contenuto del TME con l'obiettivo di sviluppare nuove molecole da utilizzare come trattamento singolo o in associazione alla terapia standard¹⁶⁶. Diversi studi preclinici e clinici hanno valutato approcci di immunoterapia, ovvero strategie mirate a ripristinare la risposta immunitaria antitumorale. Studi preclinici basati sull'uso di modelli animali e linee cellulari di MM hanno identificato approcci capaci di suscitare citotossicità contro le cellule tumorali e di ridurre il numero di cellule immunosoppressive. Questi studi hanno valutato anticorpi mirati ai linfociti T regolatori, come l'anti-CD25, o strategie per ridurre i TAM di tipo M2 come il **clodronato** incapsulato in liposomi. Altri studi hanno analizzato strategie di immunoterapia basate su anticorpi neutralizzanti i checkpoint immunitari, su cellule dendritiche o su cellule T ingegnerizzate per esprimere un recettore antigenico chimerico (CAR)¹⁶⁰.

PD-1/PD-L1

PD-1/PD-L1 controllano l'induzione e il mantenimento della tolleranza immunitaria all'interno del TME. L'attività di PD-1 e dei suoi ligandi PD-L1 o PD-L2 controlla l'attivazione delle cellule T. PD-1 è generalmente espresso sulla superficie di diverse popolazioni di cellule immunitarie (ad es. linfociti T attivati, linfociti B, cellule natural killer, macrofagi, cellule dendritiche e monociti) ed è un inibitore delle risposte immunitarie sia adattative che innate¹⁶¹. PD-1 è altamente espresso sulle cellule T specifiche per il tumore¹⁶¹ e fattori di trascrizione come il fattore nucleare delle cellule T attivate (NFAT), NOTCH, la proteina FOXO1 e il fattore regolatore interferone 9 (IRF9) possono innescare la trascrizione¹⁶². PD-1 svolge due funzioni contrastanti, da un lato infatti gioca un ruolo cruciale nel controllo delle risposte immunitarie inadeguate o dannose e nel mantenimento della tolleranza immunitaria, dall'altro blocca la risposta immunitaria diretta contro le cellule tumorali¹⁶³, infatti cellule tumorali esprimono PD-L1 per sfuggire alla risposta anti-tumorale¹⁶⁴. L'espressione di PD-L1 è solitamente associata a un ambiente immunitario ricco di cellule T CD8, di citochine infiammatorie e all'espressione di geni interferone inducibili¹⁶⁵.

Gli anticorpi monoclonali diretti contro l'asse PD-1/PD-L1 sono stati testati per il trattamento del MM. Gli anticorpi anti-PD-1, **pembrolizumab**, **nivolumab** e **durvalumab**, hanno mostrato risultati

promettenti in studi clinici; tuttavia, è stata riportata una risposta eterogenea tra i pazienti con MM¹⁶⁶. Per aumentare l'efficacia di questo trattamento, sono in corso indagini cliniche basate su strategie di combinazione con inibitori di PD-1 e la chemioterapia¹⁶⁷. Altri checkpoint inibitori iper-espressi dalle cellule immunitarie, come LAG-3 e TIM-3, sono stati recentemente indicati come bersagli promettenti per nuovi approcci di immunoterapia¹⁶⁷.

Le cellule tumorali aumentano anche l'espressione di diverse molecole coinvolte nel processo invasivo e metastatico. Tra queste, TWIST1 un regolatore chiave della transizione epitelio-mesenchima (EMT), è altamente espresso dalle cellule del MM. Recentemente si è investigato in studi preclinici, il potenziale di una strategia terapeutica basata sull'uso di un vaccino a base di DNA che esprime PD-1 solubile (sPD-1) legato a TWIST1. L'obiettivo è bloccare l'immunosoppressione e distruggere le cellule tumorali. Poiché la combinazione di vaccini e inibitori dei checkpoint immunitari (ICIs) ha riportato benefici in studi clinici e preclinici, è stata testata anche la vaccinazione sPD-1-TWIST1 combinata con anti-CTLA4. I risultati ottenuti hanno mostrato l'induzione di un'immunità mediata da cellule T a lunga durata insieme alla riduzione della crescita del MM¹⁶⁸.

Vaccinazione con cellule dendritiche

I vaccini terapeutici per il trattamento dei tumori richiedono la presentazione dell'antigene e la strategia più comune per la presentazione dell'antigene utilizza le cellule dendritiche caricate con antigeni associati al tumore. Un gran numero di cellule dendritiche autologhe può essere differenziato ex vivo dai precursori del sangue periferico, rendendo questo approccio fattibile per la sua applicazione clinica¹⁶⁹. In uno studio di fase I su dieci pazienti con MM, la vaccinazione con cellule dendritiche autologhe caricate con lisato tumorale ha indotto un'immunità specifica per il tumore in una minoranza dei pazienti trattati¹⁷⁰. Altri vaccini terapeutici valutati per il MM includono quelli prodotti a partire da cellule tumorali autologhe o costituiti da peptidi derivati da antigeni sintetici. Nelle fasi iniziali dei trial clinici, questi vaccini hanno indotto risposte immunitarie specifiche per il tumore nella maggior parte dei pazienti¹⁷¹, ma non risposte. In alcuni pazienti, però, è stata osservata stabilizzazione della malattia. Ci sono quattro trial di fase I/II che testano vaccini prodotti per il MM di cui due trial stanno valutando la vaccinazione con peptide del tumore di Wilms-1 a seguito di chirurgia o terapia multimodale¹⁶⁹.

CTLA4

Le cellule del MM sono note per sviluppare meccanismi per sfuggire alla sorveglianza immunitaria, portando all'esaurimento delle cellule T mediante la iper-espressione di checkpoint immunitari come CTLA4¹³⁵. A questo proposito, sono stati sviluppati anticorpi monoclonali

neutralizzanti CTLA4 capaci di indurre l'attivazione dell'immunità citotossica. **tremelimumab** e **ipilimumab** sono stati testati in studi clinici; tuttavia, da soli questi anticorpi non hanno portato alcun miglioramento in termini di sopravvivenza complessiva¹³⁷.

Il primo e unico studio clinico a comprovare che l'immunoterapia come trattamento di prima linea può aumentare la sopravvivenza dei pazienti con MM rispetto alla chemioterapia fu lo studio CheckMate 743, uno studio di fase III multicentrico, randomizzato e in aperto. Lo studio include l'associazione tra l'anticorpo neutralizzante CTLA-4 **ipilimumab** e PD-1 **nivolumab** e da questa associazione sono stati ottenuti per la prima volta risultati positivi. Rispetto alla chemioterapia standard, nivolumab più ipilimumab può ridurre il rischio di morte nei pazienti con MM non resecabile del 26%. Ha migliorato significativamente l'OS e l'OS mediana che è risultata di 18,1 mesi contro 14,1 mesi, prolungandola quindi di 4 mesi rispetto alla chemioterapia. L'OS a 1 anno del gruppo con regime di immunizzazione doppia è stato del 68%, e del 41% a 2 anni mentre del gruppo con regime di chemioterapia l'OS a 1 anno è stato del 58%, e solo del 27% a 2 anni¹⁷². Questo rappresenta un notevole progresso rispetto alla chemioterapia standard, infatti, il 2 ottobre 2020, Opdivo (nivolumab) in combinazione con Yervoy (ipilimumab) è stato approvato dall'FDA per essere utilizzato nei pazienti adulti affetti da MM non resecabile come trattamento di prima linea. Questa associazione rappresenta il primo farmaco approvato dall'FDA per la terapia sistemica del MM negli ultimi 16 anni, e il secondo farmaco autorizzato dall'FDA per il trattamento del MM nella sua storia dopo l'approvazione del pemetrexed in associazione con cisplatino nel 2004¹⁷². Per quanto riguarda la tossicità, uno studio di fase II condotto in un singolo centro ha valutato l'efficacia e la sicurezza della combinazione di nivolumab e ipilimumab e il 94% dei pazienti ha manifestato effetti avversi legati al trattamento, tra i quali il 34% ha riportato effetti avversi di grado 3 associati al trattamento¹⁷².

Growth factor pathways

Come per molte altre neoplasie, l'importanza delle vie legate ai fattori di crescita nello sviluppo e nella progressione del MM, e la loro iper-espressione, prevalentemente mediata dalle tirosin chinasi (TK), è ben consolidata¹⁷³. Fino ad oggi, la via del VEGF ha ricevuto maggiore attenzione ma ci sono anche altri potenziali bersagli, come le vie che contribuiscono all'angiogenesi, alla sopravvivenza cellulare, alla crescita e alla proliferazione, incluse quelle che dipendono dal PDGF, EGFR, FGF e dal recettore MET (Figura 7)¹⁷⁴.

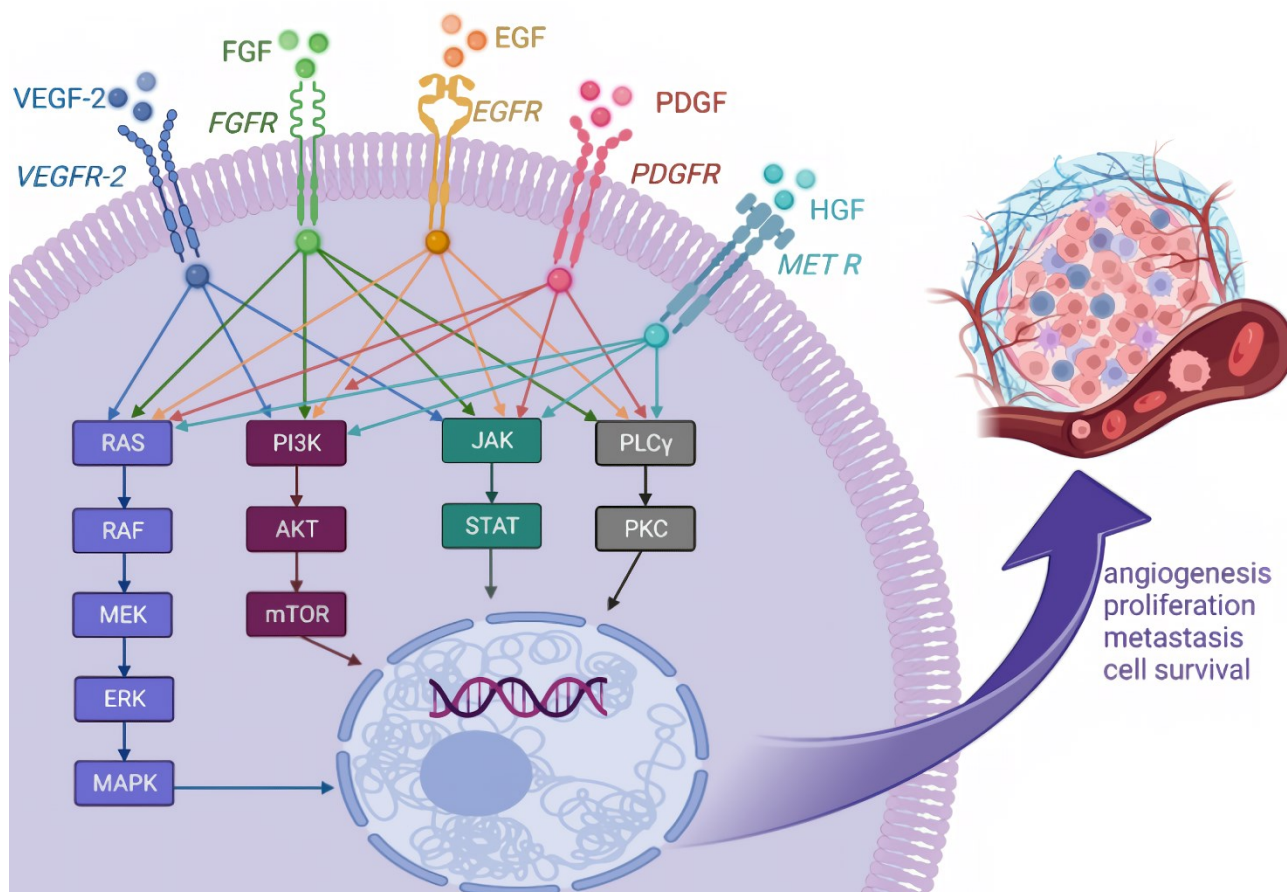


Figura 7: Immagine riassuntiva dell'espressione dei fattori di crescita che attivano recettori TK nelle cellule di MM portando così all'avvio di diverse vie, le quali modificano la trascrizione genica nel nucleo e forniscono alle cellule tumorali molteplici caratteristiche che aumentano la loro aggressività quali aumento della sopravvivenza, proliferazione, angiogenesi e metastatizzazione¹⁷⁴.

Akt: protein kinase B; EGF(R): Epidermal Growth Factor (Receptor); ERK: Extracellular Regulated Kinase; FGF(R): Fibroblast Growth Factor (Receptor); HGF: Hepatocyte Growth Factor; JAK: Janus Kinase; MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase; MEK: MAPK/ERK Kinase; MET R: hepatocyte growth factor receptor; mTOR: mechanistic Target Of Rapamycin; PDGF(R): Platelet-Derived Growth Factor (Receptor); PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase; PKC: Protein Kinase C; PLCγ: Phospholipase Cγ; RAF: Rapidly Accelerated Fibrosarcoma; STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription; VEGF(R): Vascular Endothelial Growth Factor (Receptor);

Il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF)

Una delle molecole anti-VEGF più studiate è **bevacizumab**, un anticorpo monoclonale in grado di neutralizzare tutte le isoforme umane di VEGF. È stato il primo anti-angiogenico ad essere approvato dall'FDA per l'uso insieme alla chemioterapia¹⁷⁵. Studi condotti su topi immunodeficienti, trapiantati con cellule MM umane, hanno dimostrato un effetto sinergico di bevacizumab e pemetrexed nell'inibire la crescita tumorale, impedire il versamento pleurico e prolungare la sopravvivenza¹⁷⁶. Successivamente, diversi trial clinici hanno valutato l'efficacia dell'aggiunta del bevacizumab alla chemioterapia nei pazienti affetti da MM. In uno studio di fase II randomizzato, in doppio cieco e controllato con placebo, bevacizumab è stato combinato con gemcitabina e cisplatino in pazienti senza precedente esposizione a chemioterapia e con tumori non resecabili. L'endpoint

primario era la sopravvivenza libera da progressione (PFS), che non differiva significativamente tra i due gruppi di pazienti trattati con bevacizumab o placebo (6,9 mesi contro 6,0 mesi, rispettivamente). Inoltre, non è stato osservato alcun beneficio significativo con bevacizumab in termini di miglioramento della sopravvivenza complessiva¹⁷⁷.

Un altro studio di fase II, a braccio singolo, che ha valutato la combinazione di bevacizumab con carboplatino e pemetrexed in una popolazione di pazienti simile, ha anch'esso prodotto risultati negativi. Lo studio mirava a ottenere un miglioramento del 50% nella PFS rispetto alla sola chemioterapia standard basata sui dati della letteratura (da 6 a 9 mesi), ma la mediana della PFS osservata è stata di 6,9 mesi. Tuttavia, la terapia combinata ha mostrato una mediana della overall survival (OS) di 15,3 mesi¹⁷⁸. In contrasto, lo Studio MAPS (Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study) ha prodotto risultati positivi. Questo ampio studio di fase III, aperto e randomizzato, ha arruolato 448 pazienti senza esposizione precedente a chemioterapia, di cui 223 hanno ricevuto pemetrexed e cisplatino più bevacizumab e 225 solo chemioterapia (pemetrexed e cisplatino). L'endpoint primario era la OS, che è migliorata nel gruppo trattato con bevacizumab rispetto a quello trattato con la sola chemioterapia (mediana della OS di 18,8 mesi rispetto a 16,1 mesi, rispettivamente). In modo simile, si è registrata una PFS mediana più lunga nei pazienti che hanno ricevuto il trattamento con bevacizumab rispetto a quelli che hanno ricevuto solo chemioterapia (9,2 mesi contro 7,3 mesi), tuttavia, l'utilizzo di bevacizumab è stato associato a un tasso più elevato di tossicità di grado 3 (71% contro 62%), determinando così un maggiore numero di interruzioni del trattamento (24,3% rispetto al 3%).¹⁷⁹, è stato registrato un aumento della frequenza di eventi cardiovascolari, ipertensione grave, eventi tromboembolici e emorragici, incluso un caso di emorragia cerebrale di grado cinque¹⁷⁹. Lo studio MAPS è quindi il primo a dimostrare un beneficio di sopravvivenza di un farmaco anti-angiogenico combinato con chemioterapia standard in pazienti selezionati con MM non resecabile idonei al bevacizumab, suggerendo un nuovo trattamento di prima linea convalidato dalla National Comprehensive Cancer Network e dalle linee guida francesi. Tuttavia, il profilo di tossicità osservato e la mancanza di un confronto tra bevacizumab e placebo, giustifica il fatto che questa strategia non sia stata approvata dalle autorità sanitarie di tutto il mondo¹⁷⁴.

Un altro anticorpo testato nel MM è **ramucirumab**, un anticorpo monoclonale umanizzato che si lega a VEGFR-2. Questo trattamento mira specificamente all'espressione di VEGFR-2 sia sulle cellule MM che sui macrofagi, portando all'inibizione diretta della proliferazione delle cellule tumorali, nonché alla riduzione dell'attività dei macrofagi. Ciò si traduce in una diminuzione

dell'infiltrato immunitario, quindi una riduzione di citochine e chemochine associata a una riduzione della crescita e della proliferazione tumorale¹⁸⁰. Studi condotti su modelli animali hanno dimostrato che la combinazione di chemioterapia con anticorpi anti-VEGFR-2 può migliorare l'efficacia della chemioterapia¹⁸¹. In linea con questi risultati, lo studio RAMES (Ramucirumab in Mesothelioma Second-Line Therapy), uno studio di fase II in doppio cieco, randomizzato con braccio di controllo placebo, ha indagato la sicurezza e l'efficacia di ramucirumab in combinazione con gemcitabina come trattamento di seconda linea per 165 pazienti affetti da MM. L'end point primario dello studio era la OS, che è risultata significativamente più lunga nel gruppo sperimentale rispetto al gruppo di controllo, con una mediana di 13,8 mesi rispetto a 7,5 mesi, rispettivamente. Il profilo di tossicità è stato in generale gestibile, nonostante una maggiore incidenza di eventi avversi di grado 3-4 nei pazienti che ricevevano ramucirumab (44% contro 30%), con neutropenia, ipertensione e affaticamento come eventi più comuni¹⁸². Nel braccio sperimentale, è stata segnalata tromboembolia nel 4% dei pazienti rispetto al 2% nel braccio di controllo, mentre non si sono verificati eventi emorragici di grado 3-4 o morti correlate al trattamento in nessuno dei due gruppi di trattamento¹⁸².

Il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF)

PDGF è una glicoproteina con un forte effetto mitogeno sulle cellule mesenchimali, coinvolte fisiologicamente nell'angiogenesi e nel rimodellamento tissutale. Sono note cinque isoforme di PDGF (-AA, -BB, -AB, -CC e -DD) e due recettori TK corrispondenti (PDGFR- α e PDGFR- β)¹⁸³. Il legame di PDGF al suo recettore attiva la fosforilazione su specifici residui di tirosina, risultando nell'attivazione di molteplici vie di segnalazione, in particolare le vie PI3K/Akt e MAPK, stimolando la crescita cellulare, la sopravvivenza e la migrazione¹⁸⁴. Le cellule mesoteliali nel MM esprimono livelli elevati di PDGF-B e PDGFR- β e poca o nessuna espressione di PDGFR- α ¹⁸⁵. Meccanismi autocrini e paracrini, che coinvolgono l'interazione di PDGF-B e PDGFR- β , sono stati proposti come coinvolti nello sviluppo e nella progressione del MM¹⁸⁶. Inoltre, in uno studio è stato osservato che livelli elevati di PDGF nel siero potrebbero essere associati a una sopravvivenza complessiva minore nei pazienti affetti da MM¹⁸⁷.

Imatinib è un farmaco che inibisce selettivamente PDGFR, e i geni c-kit e bcr-abl. Studi in vitro hanno dimostrato che ha un effetto citotossico e pro-apoptotico sulle cellule di MM che esprimono il PDGFR- β ¹⁸⁸. Testato in due studi clinici di fase II a braccio singolo su pazienti affetti da MM pretrattati o senza esposizione precedente a chemioterapia l'imatinib come agente singolo ha mostrato risultati deludenti, con un tasso di risposta globale (ORR) nulla in entrambi gli studi. Sono state considerate strategie di combinazione. Data l'azione sinergica osservata, in vitro, tra questo farmaco

e la gemcitabina o il pemetrexed¹⁸⁹ sono stati condotti studi in vivo in modelli preclinici. La combinazione di gemcitabina e imatinib è stata più efficace rispetto alla gemcitabina da sola in un modello murino, questa combinazione ha dimostrato di ridurre la proliferazione delle cellule tumorali, aumentare l'apoptosi, inibire la crescita del tumore e migliorare la sopravvivenza dei topi¹⁹⁰.

Dopo aver condotto due studi clinici di fase I per valutare la sicurezza e la dose massima tollerata da pazienti con diversi tipi di tumore, la combinazione imatinib e gemcitabina è stata valutata nel MM attraverso uno studio clinico di fase II a braccio singolo che ha coinvolto 23 pazienti pretrattati con pemetrexed. Sebbene lo studio abbia cercato di selezionare i pazienti che esprimevano PDGFR- β e/o c-kit mediante immunocolorazione (IHC), lo studio non è riuscito a raggiungere il suo endpoint primario a causa di un PFS a 3 mesi inferiore al previsto (39,1% rispetto a un obiettivo predefinito del 75%). Lo studio ha registrato una PFS mediana di 2,8 mesi e una OS mediana di 5,7 mesi¹⁹¹.

È stato condotto inoltre uno studio clinico di fase I su 17 pazienti affetti da MM senza esposizione precedente a chemioterapia per valutare l'efficacia e la sicurezza di imatinib in combinazione con cisplatino e pemetrexed. Tuttavia, dei 17 pazienti, solo 6 con un ottimale stato psicofisico e un'istologia non sarcomatoide sono stati in grado di completare tutti e sei i cicli di trattamento pianificati. Questi pazienti hanno riportato una migliore PFS e OS, rispettivamente di 9,6 mesi e 22,4 mesi, rispetto all'intera popolazione dello studio, che ha registrato una PFS di 7,9 mesi e una OS di 8,8 mesi. Tuttavia, i pazienti rimanenti hanno dovuto interrompere precocemente il trattamento, a causa della progressione della malattia, deterioramento clinico o scarsa tolleranza¹⁹².

Recettore del fattore di crescita dell'epidermide (EGFR)

L'EGFR è una proteina transmembrana TK attivata da una vasta famiglia di peptidi strettamente correlati, tra cui EGF e TGF- α ¹⁹³. La sua attivazione favorisce la proliferazione cellulare, la motilità e l'invasione principalmente attraverso la via RAS/RAF/MAPK e l'inibizione dell'apoptosi tramite la via PI3K/Akt/mTOR¹⁹⁴. Come osservato per altri fattori di crescita, le cellule del MM sembrano sostenere un loop autocrino mediante la co-espressione sia di EGFR che di TGF- α ¹⁹⁵. L'analisi dei tessuti per immunoistochimica (IHC) ha dimostrato che il 44-97% dei pazienti affetti da MM presenta un'eccessiva espressione di EGFR, sebbene il suo significato prognostico sia ancora oggetto di dibattito¹⁹⁶. Bersagliare la via EGFR, che viene abitualmente inibita da anticorpi monoclonali o inibitori TK in altre neoplasie come il cancro del colon-retto e il carcinoma polmonare non a piccole cellule, è stato investigato anche nel MM¹⁹⁷. Sia **gefitinib** che **PD153035**, due inibitori TK anti-EGFR, hanno dimostrato un promettente effetto citostatico su linee cellulari di MM che esprimono EGFR¹⁹³. Tuttavia, uno studio clinico di fase II a braccio singolo con 43 pazienti affetti da MM non

trattati precedentemente con chemioterapia ha mostrato che la monoterapia con gefitinib non ha raggiunto l'endpoint primario, infatti a 3 mesi la PFS era del 40%, ovvero inferiore alle aspettative definite sulla base del gruppo di controllo storico proveniente dal database del Gruppo B sul Cancro e la Leucemia¹⁹⁸. Un fallimento simile è stato osservato in un successivo studio clinico di fase II a braccio singolo che ha testato l'**erlotinib**, un altro inibitore TK di EGFR, su 63 pazienti non trattati precedentemente con chemioterapia. In questo caso, l'endpoint primario era la sopravvivenza a 1 anno, che era del 40% con erlotinib rispetto al 50% riportato dai dati storici di sopravvivenza con la chemioterapia standard a base di cisplatino più pemetrexed¹⁹⁹. È interessante notare che entrambi gli inibitori TK di EGFR sono risultati inefficaci nonostante l'alta espressione di EGFR valutata mediante IHC nella maggior parte dei campioni tumorali¹⁹⁸.

Anche il **cetuximab**, un anticorpo chimerico diretto contro il dominio extracellulare di EGFR, è stato studiato nel MM. Il suo meccanismo d'azione differisce da quello del gefitinib e dell'erlotinib, che agiscono inibendo competitivamente il sito di legame dell'ATP del recettore. Cetuximab impedisce il legame dei ligandi, favorisce l'internalizzazione e la degradazione di EGFR e, essendo un anticorpo IgG1, può innescare la citotossicità cellulare dipendente dagli anticorpi (ADCC)²⁰⁰. È stato studiato questo farmaco in vitro e in vivo. Sulle linee cellulari di MM non sono stati evidenziati effetti inibitori sulla crescita ma è stata osservata una forte attivazione dell'ADCC, e questo è stato osservato anche nel caso di debole espressione di EGFR. Inoltre, questo meccanismo risulta potenziato quando cetuximab viene associato a IL-2, una citochina che promuove la funzione delle cellule effettrici immunitarie²⁰⁰. Utilizzando un modello murino ortotopico, il farmaco, somministrato direttamente nella cavità toracica, è stato efficace in termini di aumento della sopravvivenza dei topi trattati. La co-somministrazione di IL-2, sebbene abbia potenziato l'inibizione della crescita tumorale di MM, non ha aumentato il tempo di sopravvivenza rispetto al solo cetuximab²⁰⁰. Valutato in uno studio clinico di fase II a braccio singolo, il trattamento cetuximab combinato con chemioterapia standard a base di platino in prima linea è risultato essere ben tollerato, ma non ha raggiunto l'endpoint finale. Lo studio ha mostrato un tasso di risposta obiettiva del 44% (8 pazienti con risposta parziale), una PFS mediana di 24 settimane e una OS mediana di 49 settimane²⁰⁰.

Fattore di crescita dei fibroblasti (FGF)

FGF è coinvolto in diversi processi, dall'embriogenesi alla vita adulta, dove contribuisce alla risposta ai danni tissutali, ai processi di rimodellamento e all'angiogenesi²⁰¹. Negli esseri umani, sono stati identificati ventidue geni FGF e quattro recettori (FGFR 1-4)²⁰². La loro interazione porta alla fosforilazione di specifici residui di tirosina dei recettori TK, nonché all'attivazione di diverse vie di

segnalazione come RAS-MAPK, PI3K-Akt, PLC e STAT. Queste vie, a loro volta, stimolano la trascrizione di diversi geni che regolano processi cellulari come proliferazione, migrazione e differenziamento²⁰². Aberrazioni in questa via portano a un'eccessiva attivazione e sono state associate alla resistenza a diversi agenti citotossici e inibitori di TK²⁰³. Il trattamento di linee cellulari con FGF-2 induce la transizione epitelio-mesenchimale (EMT) tramite la via di segnalazione delle MAPK, promuove proliferazione e migrazione²⁰⁴. D'altro canto, l'inibizione dei FGFR o della via MAPK nelle cellule sarcomatoidi sembra ridurre la proliferazione, la sopravvivenza e sembra indurre uno spostamento verso un'espressione genica e una morfologia più epitelioide²⁰⁴.

In uno studio di fase Ib non randomizzato, il **GSK3052230**, una proteina di fusione solubile con capacità di legare i FGF e inibire la segnalazione FGF/FGFR, è stata somministrata a 36 pazienti affetti da MM come trattamento di prima linea in combinazione con cisplatino e pemetrexed²⁰⁵. Sono stati somministrati tre livelli di dose (10 mg/kg, 15 mg/kg e 20 mg/kg) e, in 31 pazienti è stata riportata una percentuale complessiva di risposta (ORR) del 39% e una percentuale di controllo della malattia (DCR) dell'86%, con 4 pazienti che hanno mantenuto il controllo della malattia per oltre un anno. In 9 pazienti si sono verificate complicanze gravi e in 6 di loro (principalmente nel gruppo di dose più alta) tali eventi avversi sono stati considerati correlati al trattamento dello studio, compresa una tossicità di grado cinque (ischemia/perforazione intestinale). È interessante notare che GSK3052230, per le sue caratteristiche strutturali e l'incapacità di legarsi fortemente a specifici FGF, non ha causato gli eventi avversi tipicamente osservati con gli inibitori della chinasi pan-FGFR, come l'iperfosfatemia e le calcificazioni tissutali che portano a tossicità retinica, ungueale e cutanea²⁰⁵. Al momento, non siamo a conoscenza di trial clinici attivi che stiano valutando il GSK3052230, nonostante la sua efficacia clinica promettente e il profilo di tossicità accettabile²⁰⁵.

Il fattore di crescita degli epatociti (HGF) e l'asse HGF/MET

Il ruolo di HGF e del suo recettore TK MET nella crescita tumorale, nello sviluppo delle metastasi e nella resistenza terapeutica è ben consolidato. In particolare, HGF è stato inizialmente caratterizzato come un potente mitogeno per gli epatociti, ma successivamente è stato riconosciuto come un fattore di crescita per diversi tipi cellulari e tessuti. L'attivazione di MET induce molteplici cascate di segnalazione, coinvolgendo, tra gli altri, l'asse RAS-MAPK e PI3K-Akt, ed è, quindi, in grado di promuovere la proliferazione cellulare, la sopravvivenza e la migrazione²⁰⁶. Elevati livelli di espressione di MET sono stati rilevati in linee cellulari e tessuti di MM, dove un loop autocrino sembra contribuire all'angiogenesi tumorale²⁰⁷.

Tivantinib è un inibitore di MET che è anche in grado di influenzare la polimerizzazione dei microtubuli²⁰⁸. La deregolazione della rete di microtubuli identificata nel MM rende questa caratteristica particolarmente interessante²⁰⁹. In vitro, è stato dimostrato che il composto sopprime efficacemente la crescita cellulare ed esibisce un effetto sinergico quando utilizzato in combinazione con pemetrexed, potenziandone le azioni antiproliferative e pro-apoptotiche²¹⁰. In uno studio di fase I di dose-escalation, tivantinib è stato testato in combinazione con carboplatino e pemetrexed come trattamento di prima linea in 12 pazienti affetti da MM e NSCLC non squamoso avanzato, mostrando una percentuale di DCR del 100%²¹¹.

Un altro diverso studio di fase II con braccio singolo ha investigato tivantinib in monoterapia su 18 pazienti precedentemente trattati con MM pleurico o peritoneale, ma non è riuscito a raggiungere la ORR desiderata (0%). Tuttavia, il sottogruppo con MM peritoneale ha mostrato una DCR del 71% e una OS mediana di 22,2 mesi²¹².

Inibitori multi-chinasi

Come precedentemente menzionato, i fattori di crescita esercitano i loro effetti convergendo su vie comuni che promuovono la sopravvivenza, la crescita e la proliferazione cellulare. Tale osservazione potrebbe spiegare il motivo per cui alcuni inibitori selettivi di VEGF hanno avuto solo un successo parziale, mentre altri inibitori selettivi delle TK hanno fallito; tuttavia, queste evidenze suggeriscono l'utilizzo di inibitori multi-chinasi. Diversi inibitori multi-chinasi, tra cui **valatanib**, **dasatinib**, **sunitinib** e **sorafenib**, che mirano a VEGFR-2 e PDGFR, sono stati testati in piccoli studi clinici di fase II con braccio singolo nel corso degli anni. Malgrado ciò, questi composti non sono stati ulteriormente valutati a causa dei loro risultati negativi o non particolarmente promettenti¹⁷⁴.

Cediranib, un inibitore orale di VEGFR, c-kit e PDGFR, dopo aver mostrato una modesta attività come agente singolo nel MM pretrattato, è stato valutato in uno studio clinico di fase II in doppio cieco, controllato con placebo, in combinazione con chemioterapia a base di platino e pemetrexed. Lo studio ha dimostrato che cediranib ha raggiunto il suo endpoint primario, migliorando la PFS rispetto al placebo (7,2 mesi contro 5,6 mesi), e ha avuto un ORR più elevato nel braccio sperimentale (50% contro 20%). Tuttavia, non è stata osservata alcuna differenza significativa nella OS (10 mesi contro 8,5 mesi nel braccio placebo). Inoltre, il profilo di tossicità è stato difficile da gestire, con una maggiore incidenza di eventi avversi di grado 3-4 nel braccio di cediranib (69% contro 57%); in particolare diarrea, ipertensione, anoressia, disidratazione e perdita di peso. A causa del profilo di sicurezza sfavorevole e del beneficio clinico limitato, non sono stati condotti ulteriori studi con questo farmaco nel MM²¹³.

Un altro farmaco inibitore multi-chinasi è **nintedanib** è un inibitore che mira a VEGFR, PDGFR e FGFR, questo ha mostrato risultati promettenti in vitro e in vivo, con effetti additivi sulla vitalità cellulare quando combinato con cisplatino²¹⁴. Lo studio randomizzato, in doppio cieco di fase II/III LUME-Meso ha valutato l'efficacia di nintedanib in combinazione con chemioterapia di prima linea a base di cisplatino e pemetrexed nel MM non operabile. Nella fase II, l'endpoint primario era la PFS, mentre la OS e la risposta obiettiva erano endpoint secondari. L'aggiunta di nintedanib alla chemioterapia ha migliorato la mediana della PFS di 3,7 mesi, con un beneficio maggiore nei pazienti con istologia epitelioide. Inoltre, è stata osservata una tendenza positiva nel migliorare l'OS nel gruppo sperimentale, sebbene il risultato non fosse statisticamente significativo (mediana OS 18,3 mesi contro 14,2 mesi nel braccio di controllo). Stratificando per istologia, il sottotipo epitelioide che riceveva nintedanib aveva una mediana di OS di 20,6 mesi contro 15,2 mesi nel gruppo placebo²¹⁵. Dopo i risultati positivi da parte della fase II dello studio, è stata apportata una modifica per escludere l'istologia non epitelioide per la fase III confermativa. Un totale di 458 pazienti è stato assegnato casualmente in un rapporto di 1:1 tra il gruppo nintedanib e il gruppo placebo, con la PFS che rimaneva l'endpoint primario e l'OS come endpoint secondario. Contrariamente alle aspettative, né la PFS né l'OS hanno mostrato alcun miglioramento nel braccio sperimentale, con entrambi i gruppi che avevano una mediana di PFS di 6,8 mesi così come una mediana di OS di 14,4 mesi nel gruppo nintedanib e 16,1 mesi nel gruppo placebo²¹⁶.

Tabella 8: Tabella riassuntiva dei principali trial clinici mirati alle vie molecolari nel MM che coinvolgono i fattori di crescita.

| Target Molecolare | Farmaco | Meccanismo d'azione | Associazioni farmacologiche | Trial |
|-------------------|-------------|--|---|---|
| VEGF | Bevacizumab | Si lega a e neutralizza tutte le isoforme umane di VEGF-A | Gemcitabina Cisplatino | Studio di fase II in doppio cieco, randomizzato; Controllo: placebo |
| | | | Carboplatino Pemetrexed | Studio di fase II a singolo braccio; Controllo: chemioterapia |
| | | | Cisplatino Pemetrexed | Studio di fase III MAPS, randomizzato in aperto; Controllo: chemioterapia |
| | Ramucirumab | Selettivo contro il dominio extracellulare di VEGFR-2 | Gemcitabina | Studio di fase II RAMES, randomizzato, doppio cieco; Controllo: placebo |
| PDGF | Imatinib | Inibisce selettivamente il PDGFR | Gemcitabina | Studio di fase II a braccio singolo su pazienti pretrattati con pemetrexed; Controllo: gemcitabina |
| | | | Cisplatino Pemetrexed | Studio di fase I |
| EGFR | Gefitinib | Inibisce in modo competitivo la tasca di legame dell'ATP di EGFR | / | Studio di fase II a braccio singolo; Controllo con database CALGB |
| | Erlotinib | | / | Studio di fase II a braccio singolo; Controllo con database della chemioterapia standard a base di cisplatino + pemetrexed |
| | Cetuximab | Blocca il legame dei ligandi attivanti di EGFR | Cisplatino/ Carboplatino Pemetrexed | Studio di fase II a braccio singolo |
| FGF | GSK3052230 | Sequestra i FGF e blocca la loro capacità di attivare il FGFR | Cisplatino Pemetrexed | Studio di fase Ib non randomizzato, in aperto. |
| HGF | Tivantinib | Inibitore MET | Carboplatino Pemetrexed | Studio di fase I dose-escalation |
| | | | / | Studio di fase II a singolo braccio |
| Multi-target | Cediranib | Inibisce VEGFR e PDGFR | Platino Pemetrexed | Studio di fase II in doppio cieco; Controllo: placebo con platino + pemetrexed |
| | Nintedanib | Inibisce VEGFR, PDGFR e FGFR | Cisplatino Pemetrexed | Studio di fase II/III LUME-Meso randomizzato, in doppio cieco; Controllo: placebo |

La via PI3K/Akt/mTOR

L'attivazione della via PI3K/Akt/mTOR promuove la proliferazione cellulare, la crescita e la sopravvivenza, svolgendo quindi un ruolo oncogenico in vari tipi di tumori²¹⁷. L'iperattivazione di questa via può essere causata da vari fattori, tra cui mutazioni gain-of-function nei geni che codificano i suoi componenti essenziali, mutazioni loss-of-function nel gene omologo della fosfatasi e tensina (PTEN), che di solito funge da soppressore della segnalazione PI3K/Akt o attivazione costitutiva delle vie dei recettori dei fattori di crescita a monte²¹⁷.

Everolimus, un farmaco che agisce su questa via, sebbene abbia avuto risultati positivi in vitro nelle cellule di MM, in uno studio di fase II a braccio singolo ha mostrato risultati deludenti. Lo studio ha coinvolto 59 pazienti con MM pretrattati, ed è stata segnalata una percentuale di PFS del 29% a 4 mesi (considerando un endpoint primario pre-specificato del 50% o più), con un ORR del 2% e una mediana di OS di 6,3 mesi²¹⁸.

Su diverse linee cellulari di MM, farmaci che inibiscono sia PI3K che mTOR hanno aumentato marcatamente l'inibizione della proliferazione cellulare rispetto agli inibitori selettivi di PI3K o mTOR²¹⁹. **Samotolisib**, una molecola che mira a PI3K e mTOR, è stata valutata in uno studio di espansione di coorte di fase I in 42 pazienti con MM pleurico o peritoneale, refrattari o non idonei alla terapia standard. È stata segnalata una ORR del 2,4% e una DCR del 43%, con affaticamento come evento avverso più comune ed eventi avversi grado 3 nel 10% dei casi²²⁰.

Le mutazioni genomiche nel MM come target

Come descritto in precedenza, l'esposizione all'amianto può indurre riarrangiamenti genomici che spesso influenzano specifici tipi e regioni cromosomiche²²¹. In particolare, tre geni soppressori tumorali sono frequentemente alterati nel MM, perdendo così le loro funzioni:

- CDKN2A/ARF in circa l'80% dei casi;
- NF2 in circa il 40% dei casi;
- La proteina associata a BRCA1 (BAP1) in circa il 30-60% dei casi²²² (Figura 8).

La terapia genica utilizzando vettori virali o non virali per ripristinare le funzioni di questi geni potrebbe essere una strategia promettente, ma è stata osservata un'efficacia limitata nei pochi trial clinici condotti per il MM²²³. Un altro possibile approccio, studiato più recentemente, mira a bersagliare le conseguenze delle suddette alterazioni genetiche (Tabella 9).

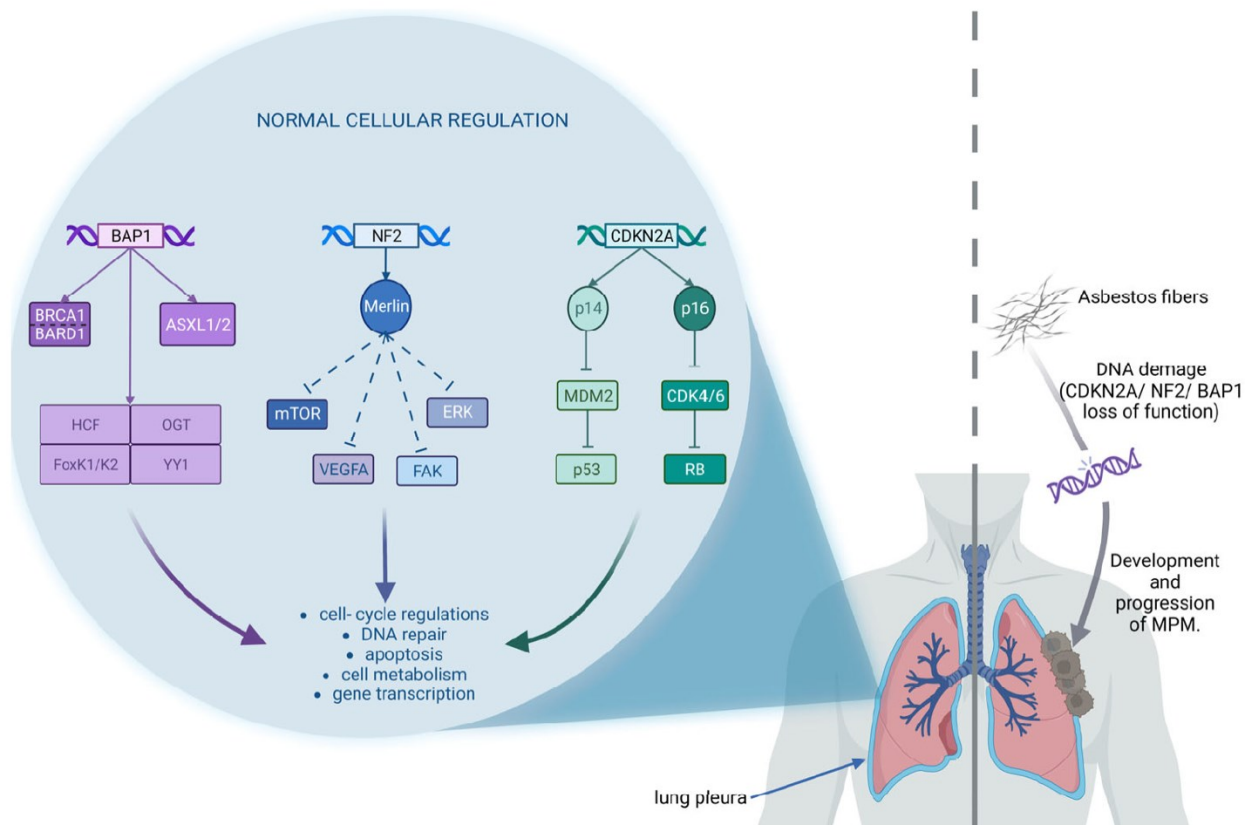


Figura 8: I tre principali geni soppressori tumorali frequentemente alterati nel MM in seguito all'esposizione all'amianto. In condizioni normali questi regolano la trascrizione di geni coinvolti nell'apoptosi, riparazione del DNA, regolazione del ciclo cellulare e metabolismo. A seguito del contatto con l'amianto abbiamo mutazione loss of function di questi geni portando a sviluppo e progressione del MM¹⁷⁴.

ASXL1/2: Additional Sex Combs-Like 1/2; BAP1: BRCA1—Associated Protein 1; BARD1: BRCA1-Associated RING Domain protein 1; BRCA1: Breast Cancer type 1 susceptibility protein; CDK4/6: Cyclin-Dependent Kinases 4/6; CDKN2A: Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2; ERK: Extracellular signal-Regulated Kinase; FAK: Focal Adhesion Kinase; FoxK1/K2: Forkhead transcription factors; HCF: Host Cell Factor; MDM2: Mouse Double Minute 2 homolog; Merlin: Moesin ezrin radixin-like protein; mTOR: mechanistic Target Of Rapamycin; NF2: Neurofibromatosis 2; OGT: Protein O-GlcNAc Transferase; RB: Retinoblastoma protein; VEGFA: Vascular Endothelial Growth Factor A; YY1: Yin Yang 1.

I sistemi CDKN2A/ARF e CDK4/6-Ciclin D1

Il gene CDKN2A codifica per due proteine che hanno un ruolo chiave nella regolazione del ciclo cellulare, p16ink4A e p14ARF. Il primo inibisce le chinasi ciclina dipendenti (CDK) 4 e 6, prevenendo la fosforilazione e l'attivazione della proteina retinoblastoma (RB) pro-oncogenica, mentre p14 inibisce il Mouse Double Minute 2 Homolog (MDM2), prevenendo l'ubiquitinazione e la degradazione dell'onco-soppressore p53²²⁴. Date le frequenti delezioni di CDKN2A nel MM, mirare agli inibitori di CDK4/6 potrebbe essere un approccio razionale. Il trial clinico MiST è uno studio di fase II multi-braccio che mira ad arruolare pazienti con MM recidivo e ad assegnarli ad un trattamento specifico basato sul profilo molecolare del tumore. Il trial è diviso in diversi bracci (MiST 1-5), ognuno progettato come trial di braccio singolo, in aperto. Tra questi, MiST-2 ha valutato l'efficacia

dell'inibitore di CDK4/6 **abemaciclib** in seconda e successive linee su pazienti con MM negativo per p16ink4A tramite test di immunocolorazione (IHC). Lo studio ha raggiunto con successo il suo endpoint primario, cioè una DCR del 54% (14 pazienti, 3 con risposta parziale e 11 con malattia stabile) tra i 26 pazienti trattati. Inoltre, un'analisi esplorativa post-hoc ha mostrato una PFS mediana di 128 giorni e una OS mediana di 217 giorni. Eventi avversi gravi sono stati riscontrati nel 23% dei pazienti, con un'interruzione del trattamento a causa di una sepsi non neutropenica e una sepsi neutropenica fatale registrata²²⁵.

NF2 e FAK

Il gene NF2 codifica per la proteina Moesin Ezrin Radixin-Like (Merlin), che agisce come regolatore negativo di diverse vie, tra cui le vie mTOR e FAK²²⁶. FAK è una TK citoplasmatica non recettoriale coinvolta nella proliferazione cellulare, nella sopravvivenza, nell'invasività e nella migrazione. FAK integra segnali dalle proteine della matrice extracellulare e dalle glicoproteine di membrana cellulare, le integrine. A causa della sua funzione e dell'elevata espressione nel MM, FAK è stato suggerito come potenziale bersaglio terapeutico, e i risultati iniziali in vitro sulla sua inibizione sono stati incoraggianti²²⁷. In due studi di fase I che hanno arruolato pazienti pretrattati con diversi tumori solidi, tra cui il MM, l'inibitore di FAK **GSK2256098** da solo o in combinazione con l'inibitore di MEK trametinib, hanno mostrato una maggiore efficacia e una PFS più lunga nei pazienti con bassa espressione di Merlin. Tuttavia, lo studio di fase II randomizzato in doppio cieco COMMAND che valutava l'inibitore di FAK **defactinib** come terapia di mantenimento dopo la chemioterapia di prima linea, ha riportato risultati negativi. Un totale di 344 pazienti affetti da MM, stratificati per l'espressione di Merlin, sono stati arruolati e randomizzati con un rapporto di 1:1 per ricevere defactinib o placebo dopo almeno quattro cicli di chemioterapia di prima linea. La PFS e la OS erano co-endpoint primari, ma nessuno era maggiore nel braccio sperimentale rispetto al braccio placebo, e entrambi non presentavano differenze statisticamente significative²²⁸. È stato poi suggerito che il fallimento di defactinib potrebbe essere dovuto al TME. Sebbene FAK possa sopprimere l'attività citotossica dei linfociti T CD8+, dopo chemioterapia è stato riportato un aumento di PD-L1, che porta ad immunosoppressione²²⁸. Pertanto, sono stati avviati due studi clinici per testare defactinib in associazione con l'inibitore di PD-1 pembrolizumab, ma uno è stato ritirato per motivi di finanziamento, mentre non ci sono notizie disponibili sull'altro¹⁷⁴.

La perdita di funzione di NF2 è anche correlata a una deregolazione della via Hippo, coinvolta nella proliferazione e invasione cellulare del MM in vitro²¹⁹. **Pevonedistat** è una molecola inibitrice dell'enzima attivatore di NEDD8 (NAE) e quindi attenua l'attivazione della Yes-Associated Protein

(YAP, un componente chiave della via Hippo) nelle cellule che presentano mutazione di NF2. Questo farmaco è attualmente in fase di valutazione per il MM in uno studio di fase I/II a due coorti, come monoterapia in pazienti pretrattati con mutazioni di NF2 (coorte 1), o come terapia combinata con cisplatino più pemetrexed nel trattamento di prima linea (coorte 2).

BRCA1-Associated Protein 1 (BAP1) e il sistema di danno al DNA

Il gene BAP1 codifica per un deubiquitinasi nucleare coinvolta in numerose funzioni regolatorie a livello cellulare, influenzando la risposta e riparazione del danno al DNA, la trascrizione genica, il controllo del ciclo cellulare, il metabolismo cellulare e l'apoptosi²²⁹. La perdita di funzione di BAP1, sia a livello germinale che somatico, è spesso coinvolta nello sviluppo precoce del MM²²⁹. A causa del ruolo di BAP1 nella regolazione dell'espressione di BRCA1 e del suo coinvolgimento nella riparazione delle rotture del DNA attraverso la ricombinazione omologa, è ragionevole esplorare l'uso degli inibitori di poli ADP-ribose polimerasi (PARP) nel MM, come suggerito anche da studi in vitro²³⁰. MiST-1, un braccio dello studio MiST citato in precedenza, ha testato l'inibitore di PARP **rucaparib** in seconda o successive linee nei MM che presentavano deficit in BAP1 o BRCA1. In 26 pazienti trattati (23 con deficit in BAP1, 13 con deficit in BRCA1, 10 entrambi), la somministrazione di rucaparib è stata associata a un DCR a 12 settimane del 58%, soddisfacendo l'endpoint primario dello studio, 6 pazienti hanno mantenuto una DCR a 24 settimane. Inoltre, è stata osservata un'ORR del 12%, e analisi esplorative post-hoc hanno mostrato una mediana di PFS di 17,9 settimane e OS di 41,4 settimane. Eventi avversi di grado 3-4 sono stati registrati in 9 pazienti su 26 (35%), con infezioni del tratto respiratorio superiore ed anemia come le più comuni. Un paziente ha interrotto il trattamento a causa di un versamento pericardico, ma non sono stati riportati decessi correlati al trattamento²³¹.

Un trial di fase II ha indagato l'efficacia dell'**olaparib** in pazienti affetti da MM precedentemente trattati (pleurico o peritoneale) con un endpoint primario di ORR, basato sul profilo mutazionale dei geni di riparazione del DNA (germinali o somatici). Lo studio ha arruolato un totale di 23 pazienti (16 con MM pleurico e 7 con MM peritoneale), di cui 11 presentavano una mutazione di BAP1 (8 somatiche e 4 germinali), e 1 aveva sia mutazioni somatiche di BAP1 che germinale di MRE11A. I risultati hanno mostrato un DCR del 78% (18 su 23 pazienti) per una durata di sei settimane, e una mediana di PFS e OS di rispettivamente 3,6 e 8,7 mesi. Le mutazioni germinali di BAP1 erano associate a una PFS e OS più basse rispetto a quelle somatiche (2,3 contro 4,1 mesi e 4,6 contro 9,6 mesi, rispettivamente), ma i risultati dello studio hanno suggerito che l'efficacia dell'olaparib fosse limitata²³². In modo simile, un altro trial di fase II a due coorti con **niraparib** in pazienti pretrattati

con tumori solidi (compreso il MM) e mutazioni di BAP-1 o altri geni DDR non ha raggiunto la soglia di efficacia predefinita di ORR. Tuttavia, il 78% dei pazienti con mutazioni di BAP1 ha mostrato un beneficio clinico²³³.

Attualmente è in corso uno studio di fase II denominato UNITO-001-A, che sta esaminando l'efficacia della combinazione di due farmaci, niraparib e **dostarlimab**, in pazienti affetti da MM e NSCLC che risultano PD-L1 positivi e che presentano un deficit nella ricombinazione omologa. La stessa associazione di farmaci viene valutata anche nello studio MiST-5. La ragione di questa combinazione è che gli inibitori di PARP possono causare danni aggiuntivi al DNA, che ha il potenziale di aumentare il carico mutazionale tumorale promuovendo il rilascio di neoantigeni e aumentando sia gli interferoni che l'espressione di PD-L1, potenziando così l'attività degli inibitori di PD1/PD-L1²³⁴.

Le alterazioni epigenetiche nel MM come target

Inibitori delle Istone Deacetilasi

Le modifiche degli istoni dovute ad alterazioni degli enzimi responsabili della loro deacetilazione o acetilazione possono portare al silenziamento genico o a un'espressione inappropriata²³⁵. Dati preclinici in vitro e in vivo sugli inibitori delle istoni deacetilasi nel MM hanno supportato la loro sperimentazione in studi clinici²³⁶. **Vorinostat**, un inibitore delle istone deacetilasi che agisce legandosi al sito catalitico di questo enzima, è stato testato in uno studio di fase III in doppio cieco (VANTAGE-014) come trattamento di seconda o terza linea per il MM. Lo studio randomizzato ha reclutato un totale di 661 pazienti, assegnandoli in un rapporto 1:1 per ricevere vorinostat o placebo, come endpoint primari erano inclusi la OS, la sicurezza e la tollerabilità. I due gruppi hanno mostrato un profilo di tollerabilità comparabile, con tassi simili di eventi avversi, ad eccezione di una maggiore incidenza di eventi avversi gastrointestinali, anemia e affaticamento nel gruppo trattato con vorinostat. All'analisi finale dei dati non è stato osservato alcun miglioramento statisticamente significativo nella OS nel braccio sperimentale rispetto al braccio placebo (30,7 settimane contro 27,1 settimane)²³⁷. Analogamente, l'inibitore delle istoni deacetilasi **belinostat** è stato inefficace come monoterapia per il MM pretrattato in uno studio di fase II con un solo braccio di trattamento. In questo studio, la ORR era l'endpoint primario, ma non è stata raggiunta in nessuno dei 13 pazienti arruolati nell'analisi di risposta di prima fase pianificata e, di conseguenza, non è proceduto alla fase successiva²³⁸.

Enhancer di Zeste Homolog 2 (EZH2)

EZH2 è un repressore della trascrizione genica, infatti rappresentando la subunità catalitica del complesso PRC2 è responsabile della trimetilazione della lisina 27 dell'istone H3, il rimodellamento della cromatina che ne consegue porta alla soppressione dell'espressione genica²³⁹. Nelle linee cellulari di MM, si è osservato che la perdita di BAP1 è correlata all'aumento dell'espressione di EZH2 e alla repressione dei geni regolati da PRC2. Inoltre, le cellule con perdita di BAP1 sono più sensibili agli inibitori di EZH2²⁴⁰. Sulla base di queste evidenze, **tazemetostat**, un farmaco inibitore selettivo di EZH2, è stato testato in pazienti con MM BAP1 mutati recidivi o refrattari. Lo studio di fase II a singolo braccio è stato diviso in due parti. L'endpoint primario della prima parte era l'analisi farmacocinetica, mentre quello della seconda parte era la DCR a 12 settimane nei pazienti negativi per BAP1. Un totale di 74 pazienti è stato arruolato, di cui 13 nella prima parte e 61 nella seconda parte, e 73 di essi erano negativi per BAP1 secondo l'IHC. Nella seconda parte, il 54% dei 61 pazienti con perdita di BAP1 ha raggiunto l'endpoint primario con una DCR a 12 settimane, mentre la ORR era del 3%, con una durata di risposta (DOR) mediana di 30 settimane. La DCR complessiva per tutti i 74 pazienti era del 51%, con il 35% che aveva una riduzione delle dimensioni del tumore, mentre la mediana di PFS e OS era rispettivamente di 18 settimane e 36 settimane²⁴¹. In 8 casi c'è stata una significativa riduzione della metilazione dell'istone H3 rispetto al valore iniziale, mentre negli altri 2 casi c'è stato un aumento. Tutti i pazienti che hanno avuto una riduzione della metilazione avevano una malattia stabile a 12 e 24 settimane, mentre i 2 pazienti che hanno avuto un aumento avevano una malattia progressiva alla settimana 12. Inoltre, c'è stata una riduzione dei linfociti B stromali e intra-tumorali rispettivamente in 9 e 8 campioni su un totale 10 analizzati²⁴¹. I risultati di questo studio non sono pienamente soddisfacenti e suggeriscono la necessità di ulteriori indagini, volte a caratterizzare, al di là di BAP1, i meccanismi alla base della resistenza da parte delle cellule tumorali e gli effetti dell'inibizione di EZH2 sul TME immunitario.

Tabella 9: Tabella riassuntiva dei principali studi clinici miranti a bersagli genetici ed epigenetici nel MM.

| Target | Farmaco | Trial |
|---------------------------|----------------|---|
| CDK4/6 | Abemaciclib | Studio di fase II MiST2 a braccio singolo, in aperto |
| FAK | GSK2256098 | Studio di fase I |
| | | Studio di fase I, in combinazione con trametinib (inibitore di MEK) |
| | Defactinib | Studio di fase II COMMAND in doppio cieco, randomizzato |
| PARP | Rucaparib | Studio di fase IIa MiST1 a braccio singolo |
| | Olaparib | Studio di fase II a braccio singolo |
| | Niraparib | Studio di fase II a due coorti |
| Istone Deacetilasi | Vorinostat | Studio di fase III VANTAGE-014 in doppio cieco |
| | Belinostat | Studio di fase II a braccio singolo |
| EZH2 | Tazemetostat | Studio di fase II in 2 parti, singolo braccio |

Mesotelina

La mesotelina (MSLN) è una glicoproteina di membrana altamente espressa in diversi tumori maligni, tra cui il cancro dell'ovaio, l'adenocarcinoma pancreatico e il MM, soprattutto nel sottotipo epitelioide²⁴². Il suo ruolo fisiologico non è completamente compreso, ma nel MM sembra favorire l'invasione tumorale e la secrezione di metalloproteasi della matrice²⁴². Nel corso degli anni, sono state valutate diverse strategie immunoterapeutiche mirate alla MSLN. La prima a essere sottoposta a studi clinici è stata **SS1P**, un'immunotossina composta da un anticorpo murino anti-MSLN e un frammento di esotossina di *Pseudomonas*. Sebbene abbia mostrato un profilo di sicurezza favorevole come terapia singola, la sua efficacia clinica è stata limitata principalmente dall'emergere di anticorpi neutralizzanti anti-farmaco (ADAs)²⁴³. Dato il sinergismo osservato tra SS1P e chemioterapia in vivo, è stato avviato un trial di fase I per valutare questa strategia con pemetrexed e cisplatino come trattamento di prima linea. Dei 20 pazienti affetti da MM valutati, è stato riportato un ORR del 60% (12 pazienti, tutti con risposta parziale, principalmente presso la dose massima tollerata) e un DCR del 75% (15 pazienti)²⁴⁴. Tuttavia, nonostante la mielosoppressione indotta dalla chemioterapia, nel 90% dei pazienti sono stati rilevati ADAs dal secondo ciclo, con conseguente concentrazioni sub-terapeutiche di SS1P²⁴⁴.

Un altro trial ha valutato la combinazione di SS1P con pentostatina e ciclofosfamida, due farmaci chemioterapici che hanno indotto una linfo-deplezione selettiva in vivo, prevenendo così la formazione di anticorpi anti-immunotossina²⁴⁵. È stato riscontrato che la combinazione riduceva efficacemente e ritardava lo sviluppo di ADAs quando testata su 10 pazienti affetti da MM refrattario

alla chemioterapia (8 pleurici e 2 peritoneali). In 3 pazienti, è stata riportata una risposta parzialmente duratura (>14 mesi), mentre altri 3 hanno avuto una malattia stabilizzata²⁴⁶.

Più recente è **LMB-100** è un'immunotossina anti-MSLN, con una struttura meno immunogenica rispetto a SS1P. In uno studio di fase I che ha incluso la dose-escalation e ha esaminato LMB-100, su 25 pazienti con diversi tumori solidi che esprimevano MSLN, non sono state osservate risposte tumorali. Tuttavia, tra i 10 pazienti affetti da MM (3 con MM pleurico e 7 con MM peritoneale), 8 pazienti hanno manifestato condizioni di malattia stabile, mentre la malattia è progredita in 2 casi²⁴⁷. Nonostante le aspettative, tutti i pazienti hanno sviluppato anticorpi neutralizzanti verso LMB-100 dopo somministrazioni ripetute, e la sua emivita è risultata più breve rispetto a SS1P²⁴⁷. Questi risultati, insieme a tassi di risposta deludenti, suggeriscono una limitata efficacia clinica di LMB-100 come monoterapia. Tuttavia, considerando le evidenze precliniche di un potenziale sinergismo con strategie combinate, lo studio è stato ampliato per valutare la dose massima tollerata di LMB-100 più nab-paclitaxel (Nanoparticle Albumin-Bound-paclitaxel) in pazienti pretrattati con MM pleurico o peritoneale²⁴⁸. Inoltre, a seguito di ulteriori dati preclinici, un altro studio che valuta l'iniezione intratumorale di LMB-100 più ipilimumab (un anticorpo anti-CTLA4) è attualmente in corso²⁴⁹.

Un altro farmaco attualmente in studio è **amatuximab** è un anticorpo monoclonale del tipo IgG1 kappa chimerico che mira a MSLN e inibisce l'adesione cellulare e stimola la lisi cellulare. Un buon profilo di sicurezza di questo farmaco come monoterapia è stato osservato in uno studio di fase I su tumori avanzati che esprimono MSLN, inclusi il MM²⁵⁰. Di conseguenza, amatuximab è stato testato in combinazione con cisplatino e pemetrexed in uno studio di fase II a braccio singolo come trattamento di prima linea su 89 pazienti affetti da MM. Lo studio non ha raggiunto il suo endpoint primario, poiché è stata riportata una PFS a 6 mesi inferiore al target preimpostato (51,3% contro 62%, rispettivamente). Nonostante ciò, la combinazione ha mostrato un miglioramento nella OS mediana rispetto ai controlli storici, con un DCR del 90% e un ORR del 39,8% (tutte risposte parziali), ed è stata generalmente ben tollerata²⁵¹. Uno studio successivo di fase II randomizzato (ARTEMIS), che stava valutando cisplatino e pemetrexed con o senza amatuximab in un contesto controllato da placebo, è stato interrotto anticipatamente per decisione aziendale, e attualmente non ci sono studi clinici in corso che investigano questo anticorpo¹⁷⁴.

Anetumab ravtansine è un altro anticorpo anti-MSLN, composto da un anticorpo umano mirato a MSLN coniugato all'inibitore della tubulina maytansinoid DM4²⁵². In vitro ha mostrato una citotossicità importante sulle cellule che esprimono MSLN e in vivo ha inibito la crescita tumorale, agendo anche sulle cellule maligne quasi prive di MSLN²⁵². In uno studio di dose-escalation e dose-

expansion di fase I su pazienti pretrattati con MM o altri tipi di tumori maligni, è stata riportata una ORR del 31% e una DCR del 75% per i pazienti con MM alla dose massima tollerata. È interessante notare che è stata trovata un'espressione più elevata di MSLN in coloro che hanno avuto un maggiore risposta al farmaco²⁵³. È stato condotto uno studio di fase Ib per valutare l'efficacia e la sicurezza di anetumab ravtansine in combinazione con cisplatino e pemetrexed in pazienti pretrattati con NSCLC che esprimevano MSLN (1 paziente) e MM pleurico o peritoneale epitelioide (16 pazienti). Nei 16 pazienti valutati è stata osservata una ORR del 50% e si è scoperto che la combinazione aveva un profilo di sicurezza gestibile²⁵⁴.

I risultati di uno studio di fase II (ARCS-M) che valutava anetumab ravtansine come terapia di seconda linea per il MM sono stati recentemente pubblicati. Lo studio ha coinvolto 248 soggetti con tumori che esprimevano in modo eccessivo MSLN, i pazienti sono stati randomizzati in un rapporto di 2:1 per ricevere anetumab ravtansine o vinorelbina e il trattamento standard, con PFS come endpoint primario. Sfortunatamente, non è stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa tra il braccio di trattamento sperimentale e quello di controllo in termini di PFS o OS (PFS mediana di 4,3 mesi rispetto a 4,5 mesi; OS mediana di 9,5 mesi rispetto a 11,6 mesi). Tuttavia, in un'analisi post-hoc, è stato osservato che i pazienti nel gruppo anetumab ravtansine con espressione di MSLN nel secondo o quartile più alto hanno avuto una PFS e OS più lunghe rispetto a quelli nel primo quartile. Questo effetto non è stato osservato nel gruppo vinorelbina²⁵⁵.

Un altro studio di fase I/II che testa anetumab ravtansine più pembrolizumab è attualmente in corso¹⁷⁴.

CAR-T

Le cellule CAR-T sono cellule T geneticamente modificate che esprimono recettori sintetici sulla superficie cellulare per rilevare ed eliminare le cellule tumorali identificando antigeni specifici del tumore. A differenza delle cellule T, le CAR-T possono riconoscere gli antigeni sulla superficie delle cellule tumorali senza l'ausilio delle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC). Pertanto, le cellule CAR-T possono distinguere un'ampia gamma di bersagli rispetto alle cellule T normali. Quando le cellule CAR-T si legano all'antigene, vengono attivate e agiscono come "farmaci attivi" che attaccano il tumore²⁵⁶. I recettori delle cellule CAR-T diretti contro la MSLN sono in valutazione da parte di diversi trial clinici di fase I. Le criticità nell'immunoterapia cellulare e nel trattamento con CAR-T sono il profilo di sicurezza e il grado di tossicità extra-tumorale. La

somministrazione intravenosa o intra-tumorale di cellule CAR-T anti-MSLN ha portato a risposte moderate e bassa tossicità²⁵⁷.

Uno studio di fase I basato su risultati preclinici in modelli di MM murini ortotopici è in corso per testare le cellule CAR-T anti-MSLN ottenute da pazienti con MM multi-trattati. Inoltre, risultati preliminari presentati ai congressi della American Association for Cancer Research (AACR) e American Society of Clinical Oncology (ASCO) e riferiti a una coorte di pazienti trattati fuori protocollo in combinazione con pembrolizumab hanno mostrato un ORR e un DCR, rispettivamente, del 36,8% e del 57,8%²⁵⁸.

Sono stati sviluppati poi CAR-T mirati a fattori stromali, come FGF e il VEGF-R2, per il trattamento del MM e i dati preclinici nei modelli murini di MM hanno mostrato risultati molto promettenti in termini di efficacia e bassa tossicità²⁵⁹.

Arginina

L'arginina è un aminoacido essenziale per la sopravvivenza cellulare e nel MM il suo metabolismo è spesso compromesso a causa dei livelli ridotti o assenti di arginina succinato sintetasi 1 (ASS1), specialmente nei sottotipi sarcomatoide e bifasico. Di conseguenza, le strategie terapeutiche che inducono la deplezione dell'arginina possono causare un effetto letale²⁶⁰. L'arginina deaminasi pegilata (ADI-PEG20), un enzima clonato capace di degradare questo aminoacido in citrullina e ammoniaca, è stata studiata come un potenziale nuovo trattamento in diversi tumori solidi, inclusi il MM²⁶¹. Nel trial di fase II Arginine Deaminase and Mesothelioma (ADAM), 68 pazienti con MM carenti di ASS1 sono stati arruolati e randomizzati in rapporto 2:1 per ricevere ADI-PEG20 o le cure di supporto migliori come trattamento di prima o seconda linea. L'endpoint primario di questo trial era la PFS, che si è rivelata più elevata nel gruppo di trattamento con ADI-PEG20 rispetto al gruppo di controllo (con una mediana di 3,2 contro 2,0 mesi, rispettivamente)²⁶². Pertanto, in uno studio di fase I di dose-escalation, è stata testata la combinazione di ADI-PEG20 con cisplatino e pemetrexed su 9 pazienti affetti da MM carenti di ASS1 e senza precedente trattamento con chemioterapia (5 con MM e 4 con NSCLC). Tra i pazienti con MM, sono state osservate 4 risposte parziali e una malattia stabile, senza tossicità limitanti di dose²⁶³. Successivamente, 32 pazienti senza esposizione precedente a chemioterapia hanno ricevuto la stessa combinazione di farmaci, utilizzando ADI-PEG 20 alla dose raccomandata di 36 mg/m². Una buona tollerabilità e risultati clinici promettenti sono stati confermati, con un DCR del 93,5% (29 su 31 pazienti) e un ORR del 35,5% (11 pazienti). Sono stati riportati

anche un mediana di PFS e di OS di rispettivamente 5,6 e 10,1 mesi²⁶⁴. Per comprendere i meccanismi di resistenza all'ADI-PEG 20, è stata proposta una biopsia successiva alla progressione della malattia, e 6 pazienti hanno accettato di sottoporsi alla procedura. I campioni raccolti a seguito della progressione della malattia hanno rivelato un infiltrato abbondante di macrofagi, che è coerente con un potenziale meccanismo di resistenza. Inoltre, è stato osservato un aumento dell'espressione di PD-L1 insieme alla presenza di cluster di linfociti T CD3+, a indicare che la combinazione l'ADI-PEG 20 potrebbe potenziare l'efficacia dell'immunoterapia²⁶⁴.

Infine, il trial ATOMIC Meso, uno studio randomizzato in doppio cieco di fase II/III che valuta l'aggiunta di ADI-PEG 20 a pemetrexed e cisplatino, è stato recentemente completato, ma i risultati non sono ancora stati pubblicati¹⁷⁴.

Potenziali Nuovi Target

Man mano che la nostra comprensione dei meccanismi molecolari dietro al MM progredisce, stanno emergendo nuovi potenziali bersagli. In particolare, AXL, la lattato deidrogenasi (LDH) e il trasportatore del glucosio 1 (GLUT-1) si sono dimostrati promettenti durante le fasi precliniche¹⁷⁴.

AXL

Il gruppo TAM è una piccola famiglia di tre recettori TK, comprendenti TYRO-3, AXL e MER, che sono fisiologicamente coinvolti in diversi processi tra cui la proliferazione cellulare, l'adesione, la migrazione, la sopravvivenza e la regolazione del rilascio di citochine infiammatorie²⁶⁵. AXL (il suo principale ligando) e GAS6 sono iper-espressi e attivati in molti tumori solidi, tra cui il tumore al polmone, il tumore pancreatico e il MM; sono correlati a una prognosi sfavorevole promuovendo invasività, angiogenesi, e resistenza ai farmaci²⁶⁶. È stato scoperto da uno studio che il ruolo oncogenico di AXL è giustificato dall'induzione di una perdita di funzione di p53 attraverso una regolazione negativa della trascrizione di questo gene. D'altra parte, l'inibizione di AXL mediante il farmaco **bemcentinib** ha portato a una diminuzione della vitalità, della migrazione e dell'invasione delle cellule di MM²⁶⁷. Inoltre, sembra che bersagliare AXL favorisca la sensibilità alla chemioterapia, come osservato in vitro da un altro studio. In particolare, è stato scoperto che il trattamento con cisplatino e pemetrexed provoca la formazione di ROS, inducendo la fosforilazione e l'attivazione di AXL, e che l'inibizione di AXL con bemcentinib, somministrato prima o dopo la chemioterapia, ha un effetto sinergico²⁶⁸.

Attualmente, il terzo braccio dello studio MiST sta testando bemcentinib in associazione con pembrolizumab in pazienti con MM pretrattati¹⁷⁴.

Lattato Deidrogenasi (LDH)

LDH è un enzima che converte il piruvato in lattato, un processo altamente attivo nell'effetto Warburg, dove le cellule tumorali passano dalla produzione di energia tramite fosforilazione ossidativa alla glicolisi²⁶⁹. L'effetto Warburg fornisce alle cellule tumorali molti vantaggi, tra cui la resistenza al trattamento e la capacità di metastatizzare²⁷⁰. Inoltre, il livello sierico di LDH è un noto marcatore della progressione tumorale e della mancanza di efficacia del trattamento. Livelli elevati sono associati a una scarsa sopravvivenza complessiva²⁷¹. LDH è particolarmente importante nei tumori altamente ipossici, caratterizzati da bassa disponibilità di ossigeno e altri substrati metabolici²⁷⁰. Di conseguenza, LDH è diventato un bersaglio interessante in varie neoplasie, compreso il MM. Diversi inibitori di LDH, come la **galloflavina**, il **GNE-140**, e l'**ossamato** hanno mostrato risultati preclinici promettenti in diverse linee cellulari. Tuttavia, solo gli inibitori di LDH a

n-idrossiindolo sono stati testati nel MM, mostrando un'alterazione nel metabolismo cellulare, un'aumentata sensibilità a gemcitabina e pemetrexed, e quindi promettono per futuri trial clinici²⁷².

Trasportatori del glucosio (GLUT)

I trasportatori del glucosio (GLUT) sono una vasta famiglia di trasportatori di membrana responsabili dell'internalizzazione del glucosio, substrato principale per la produzione di energia²⁷³. L'alta espressione di GLUT-1 è stata osservata in molti tumori, tra cui il tumore alla mammella di tipo basale, il tumore gastrico e il tumore del polmone, ed è stata correlata ad una maggiore aggressività tumorale e una sopravvivenza più breve dei pazienti²⁷⁴. Al giorno d'oggi, diversi inibitori del GLUT come il **WZB117**, il **BAY-876** e il **STF-31**, sono stati testati in fase preclinica, e i risultati hanno mostrato che l'inibizione del GLUT sensibilizza le cellule al trattamento antitumorale, blocca la crescita cellulare, la glicolisi e induce l'apoptosi²⁷⁵. Sulle cellule di MM, l'inibizione del GLUT-1 tramite derivati salicilchetossimici ha avuto un effetto citotossico e ha portato a uno squilibrio energetico²⁷². Tuttavia, nessuno di questi inibitori è stato ancora valutato in studi clinici.

Conclusioni

Nonostante alcuni recenti progressi, questa rara ma grave condizione rappresenta ancora un bisogno medico non soddisfatto.

Benché le misure restrittive per eliminare l'esposizione all'amianto siano in atto oramai da decine di anni, questo continua ad avere un ruolo prominente nell'eziologia del MM. Gli sforzi per prevenire e controllare l'esposizione all'amianto potrebbero portare a una riduzione dell'incidenza del MM, ma a causa del lungo periodo di latenza, ci si aspetta di vedere dei risultati molto lentamente nel tempo.

La ricerca ha sottolineato l'importanza del TME e del sistema immunitario nella patogenesi del MM e nella resistenza al trattamento. Anche se le ultime terapie mirate al TME nei trial clinici, comprese l'immunoterapia e la combinazione immuno/chemioterapia, sono approcci terapeutici promettenti, l'efficacia di queste strategie rimane limitata. È necessaria una vasta considerazione del TME come principale protagonista dell'inizio e della progressione del MM, al fine di averne una conoscenza approfondita della complessità e progettare nuovi farmaci che mirino non solo alle cellule tumorali ma anche a tutte le componenti facenti parte del TME che supportano il tumore.

In conclusione, nonostante i notevoli progressi compiuti nella ricerca su questa patologia, si è ancora lontani da un farmaco completamente curativo, a causa dell'elevata complessità del TME. In mancanza di una terapia veramente efficace la prevenzione riveste un ruolo di primaria importanza nella gestione di questa patologia, in tale contesto è essenziale promuovere la consapevolezza sui rischi associati all'amianto, implementare normative stringenti sull'uso e abbattimento dell'amianto e investire nella ricerca di alternative sicure.

Bibliografia

1. Marinaccio, A. *et al.* Pleural malignant mesothelioma epidemic: incidence, modalities of asbestos exposure and occupations involved from the Italian National Register. *Int J Cancer* **130**, 2146–2154 (2012).
2. Montanaro, F. *et al.* Survival of pleural malignant mesothelioma in Italy: a population-based study. *Int J Cancer* **124**, 201–207 (2009).
3. Bridda, A., Padoan, I., Mencarelli, R. & Frego, M. Peritoneal mesothelioma: a review. *MedGenMed* **9**, 32 (2007).
4. Hajj, G. N. M. *et al.* Malignant pleural mesothelioma: an update. *J. bras. pneumol.* **47**, e20210129 (2021).
5. Rusch, V. W. *et al.* Initial analysis of the international association for the study of lung cancer mesothelioma database. *J Thorac Oncol* **7**, 1631–1639 (2012).
6. Finn, R. S. *et al.* Postmortem findings of malignant pleural mesothelioma: a two-center study of 318 patients. *Chest* **142**, 1267–1273 (2012).
7. Attanoos, R. L., Churg, A., Galateau-Salle, F., Gibbs, A. R. & Roggli, V. L. Malignant Mesothelioma and Its Non-Asbestos Causes. *Arch Pathol Lab Med* **142**, 753–760 (2018).
8. Sun, H. H., Vaynblat, A. & Pass, H. I. Diagnosis and prognosis-review of biomarkers for mesothelioma. *Ann Transl Med* **5**, 244 (2017).
9. Vogelzang, N. J. *et al.* Phase III study of pemetrexed in combination with cisplatin versus cisplatin alone in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol* **21**, 2636–2644 (2003).
10. Iranzo, P. *et al.* Overview of Checkpoint Inhibitors Mechanism of Action: Role of Immune-Related Adverse Events and Their Treatment on Progression of Underlying Cancer. *Frontiers in Medicine* **9**, (2022).
11. Davis, A., Ke, H., Kao, S. & Pavlakis, N. <p>An Update on Emerging Therapeutic Options for Malignant Pleural Mesothelioma</p>. *LCTT* **13**, 1–12 (2022).
12. Churg, A. & Galateau-Salle, F. The separation of benign and malignant mesothelial proliferations. *Arch Pathol Lab Med* **136**, 1217–1226 (2012).

13. Nickell, L. T., Lichtenberger, J. P., Khorashadi, L., Abbott, G. F. & Carter, B. W. Multimodality imaging for characterization, classification, and staging of malignant pleural mesothelioma. *Radiographics* **34**, 1692–1706 (2014).
14. Fels Elliott, D. R. & Jones, K. D. Diagnosis of Mesothelioma. *Surg Pathol Clin* **13**, 73–89 (2020).
15. Henderson, D. W., Reid, G., Kao, S. C., van Zandwijk, N. & Klebe, S. Challenges and controversies in the diagnosis of mesothelioma: Part 1. Cytology-only diagnosis, biopsies, immunohistochemistry, discrimination between mesothelioma and reactive mesothelial hyperplasia, and biomarkers. *J Clin Pathol* **66**, 847–853 (2013).
16. Savic, I. & Myers, J. Update on Diagnosing and Reporting Malignant Pleural Mesothelioma. *Acta Medica Academica* **50**, 197–208 (2021).
17. Curran, D. *et al.* Prognostic factors in patients with pleural mesothelioma: the European Organization for Research and Treatment of Cancer experience. *JCO* **16**, 145–152 (1998).
18. Herndon, J. E. *et al.* Factors predictive of survival among 337 patients with mesothelioma treated between 1984 and 1994 by the Cancer and Leukemia Group B. *Chest* **113**, 723–731 (1998).
19. Brims, F. J. H. *et al.* A Novel Clinical Prediction Model for Prognosis in Malignant Pleural Mesothelioma Using Decision Tree Analysis. *J Thorac Oncol* **11**, 573–582 (2016).
20. Yamagishi, T. *et al.* Prognostic significance of the lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* **90**, 111–117 (2015).
21. Verma, V. *et al.* Survival by Histologic Subtype of Malignant Pleural Mesothelioma and the Impact of Surgical Resection on Overall Survival. *Clinical Lung Cancer* **19**, e901–e912 (2018).
22. Marchevsky, A. M. *et al.* Localized malignant mesothelioma, an unusual and poorly characterized neoplasm of serosal origin: best current evidence from the literature and the International Mesothelioma Panel. *Mod Pathol* **33**, 281–296 (2020).
23. Kadota, K. *et al.* Pleomorphic Epithelioid Diffuse Malignant Pleural Mesothelioma: A Clinicopathological Review and Conceptual Proposal to Reclassify as Biphasic or Sarcomatoid Mesothelioma. *Journal of Thoracic Oncology* **6**, 896–904 (2011).
24. Galateau-Sallé, F. *et al.* Lymphohistiocytoid variant of malignant mesothelioma of the pleura: a series of 22 cases. *Am J Surg Pathol* **31**, 711–716 (2007).

25. Travis, W. D. *et al.* The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *Journal of Thoracic Oncology* **10**, 1243–1260 (2015).
26. Pira, E., Donato, F., Maida, L. & Discalzi, G. Exposure to asbestos: past, present and future. *Journal of Thoracic Disease* **10**, (2018).
27. Sporn, T. A. Mineralogy of Asbestos. in *Malignant Mesothelioma* (ed. Tannapfel, A.) 1–11 (Springer, Berlin, Heidelberg, 2011). doi:10.1007/978-3-642-10862-4_1.
28. Case, B. W., Abraham, J. L., Meeker, G., Pooley, F. D. & Pinkerton, K. E. Applying Definitions of “Asbestos” to Environmental and “Low-Dose” Exposure Levels and Health Effects, Particularly Malignant Mesothelioma. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* **14**, 3–39 (2011).
29. Carbone, M. *et al.* Mesothelioma: Scientific Clues for Prevention, Diagnosis, and Therapy. *CA Cancer J Clin* **69**, 402–429 (2019).
30. U.S. Geological Survey Open File Report 02-149. <https://pubs.usgs.gov/of/2002/of02-149/>.
31. Solbes, E. & Harper, R. W. Biological responses to asbestos inhalation and pathogenesis of asbestos-related benign and malignant disease. *J Investig Med* **66**, 721–727 (2018).
32. Rosenstock, L. & Hudson, L. D. Nonmalignant Asbestos-Induced Pleural Disease. *Seminars in Respiratory Medicine* **7**, 197–202 (1986).
33. Asbestos | Toxicological Profile | ATSDR. <https://wwwn.cdc.gov/TSP/ToxProfiles/ToxProfiles.aspx?id=30&tid=4>.
34. Epler, G. R., McLoud, T. C. & Gaensler, E. A. Prevalence and incidence of benign asbestos pleural effusion in a working population. *JAMA* **247**, 617–622 (1982).
35. Radvanec, M., Tuček, L., Derco, J., Čechovská, K. & Németh, Z. Change of carcinogenic chrysotile fibers in the asbestos cement (eternit) to harmless waste by artificial carbonatization: petrological and technological results. *J Hazard Mater* **252–253**, 390–400 (2013).
36. Bertolotti, M. *et al.* [Mortality in the cohort of the asbestos cement workers in the Eternit plant in Casale Monferrato (Italy)]. *Epidemiol Prev* **32**, 218–228 (2008).

37. Asbestos Statistics and Information | U.S. Geological Survey. <https://www.usgs.gov/centers/national-minerals-information-center/asbestos-statistics-and-information>.
38. Attanoos, R. L., Churg, A., Galateau-Salle, F., Gibbs, A. R. & Roggli, V. L. Malignant Mesothelioma and Its Non-Asbestos Causes. *Arch Pathol Lab Med* **142**, 753–760 (2018).
39. Marinaccio, A. *et al.* Predictions of mortality from pleural mesothelioma in Italy: a model based on asbestos consumption figures supports results from age-period-cohort models. *Int J Cancer* **115**, 142–147 (2005).
40. Il registro Nazionale dei Mesoteliomi - V Rapporto. <https://www.inail.it/cs/internet/comunicazione/pubblicazioni/catalogo-generale/il-registro-nazionale-dei-mesoteliomi-v-rapporto.html>.
41. Mensi, C. *et al.* Geographical patterns of mesothelioma incidence and asbestos exposure in Lombardy, Italy. *Med Lav* **107**, 340–355 (2016).
42. Goldberg, M. & Luce, D. The health impact of nonoccupational exposure to asbestos: what do we know? *Eur J Cancer Prev* **18**, 489–503 (2009).
43. Humans, I. W. G. on the E. of C. R. to. *Arsenic, Metals, Fibres and Dusts*. (International Agency for Research on Cancer, 2012).
44. Lung diseases due to environmental exposures to erionite and asbestos in Turkey - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378427401005070?via%3Dihub>.
45. Patel, J. P. & Brook, M. S. Erionite asbestiform fibres and health risk in Aotearoa/New Zealand: A research note. *New Zealand Geographer* **77**, 123–129 (2021).
46. McDonald, J. C. & McDonald, A. D. The epidemiology of mesothelioma in historical context. *European Respiratory Journal* **9**, 1932–1942 (1996).
47. Zucali, P. A. *et al.* Advances in the biology of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Treat Rev* **37**, 543–558 (2011).
48. Driscoll, K. E., Maurer, J. K., Higgins, J. & Poynter, J. Alveolar macrophage cytokine and growth factor production in a rat model of crocidolite-induced pulmonary inflammation and fibrosis. *J Toxicol Environ Health* **46**, 155–169 (1995).

49. Mutsaers, S. E. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. *Respirology* **7**, 171–191 (2002).
50. Husain, A. N. *et al.* Guidelines for Pathologic Diagnosis of Malignant Mesothelioma 2017 Update of the Consensus Statement From the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med* **142**, 89–108 (2018).
51. Illei, P. B., Rusch, V. W., Zakowski, M. F. & Ladanyi, M. Homozygous deletion of CDKN2A and codeletion of the methylthioadenosine phosphorylase gene in the majority of pleural mesotheliomas. *Clin Cancer Res* **9**, 2108–2113 (2003).
52. Bertino, J. R., Waud, W. R., Parker, W. B. & Lubin, M. Targeting tumors that lack methylthioadenosine phosphorylase (MTAP) activity. *Cancer Biology & Therapy* **11**, 627–632 (2011).
53. Hmeljak, J. *et al.* Integrative Molecular Characterization of Malignant Pleural Mesothelioma. *Cancer Discovery* **8**, 1548–1565 (2018).
54. Cheng, Y. Y. *et al.* CDKN2A and MTAP Are Useful Biomarkers Detectable by Droplet Digital PCR in Malignant Pleural Mesothelioma: A Potential Alternative Method in Diagnosis Compared to Fluorescence In Situ Hybridisation. *Frontiers in Oncology* **10**, (2020).
55. Thurneysen, C. *et al.* Functional inactivation of NF2/merlin in human mesothelioma. *Lung Cancer* **64**, 140–147 (2009).
56. Yang, H. *et al.* NF2 and Canonical Hippo-YAP Pathway Define Distinct Tumor Subsets Characterized by Different Immune Deficiency and Treatment Implications in Human Pleural Mesothelioma. *Cancers (Basel)* **13**, 1561 (2021).
57. Badhai, J. *et al.* Combined deletion of Bap1, Nf2, and Cdkn2ab causes rapid onset of malignant mesothelioma in mice. *Journal of Experimental Medicine* **217**, e20191257 (2020).
58. Pezzuto, F. *et al.* P14/ARF-Positive Malignant Pleural Mesothelioma: A Phenotype With Distinct Immune Microenvironment. *Frontiers in Oncology* **11**, (2021).
59. Zhang, M. *et al.* Clonal architecture in mesothelioma is prognostic and shapes the tumour microenvironment. *Nat Commun* **12**, 1751 (2021).
60. Cersosimo, F. *et al.* Mesothelioma Malignancy and the Microenvironment: Molecular Mechanisms. *Cancers (Basel)* **13**, 5664 (2021).

61. Benedetti, S., Nuvoli, B., Catalani, S. & Galati, R. Reactive oxygen species a double-edged sword for mesothelioma. *Oncotarget* **6**, 16848–16865 (2015).
62. Mossman, B. T. *et al.* New Insights into Understanding the Mechanisms, Pathogenesis, and Management of Malignant Mesotheliomas. *The American Journal of Pathology* **182**, 1065–1077 (2013).
63. Minnema-Luiting, J., Vroman, H., Aerts, J. & Cornelissen, R. Heterogeneity in Immune Cell Content in Malignant Pleural Mesothelioma. *Int J Mol Sci* **19**, 1041 (2018).
64. Patil, N. S. *et al.* Molecular and Histopathological Characterization of the Tumor Immune Microenvironment in Advanced Stage of Malignant Pleural Mesothelioma. *J Thorac Oncol* **13**, 124–133 (2018).
65. Pasello, G. *et al.* Malignant pleural mesothelioma immune microenvironment and checkpoint expression: correlation with clinical–pathological features and intratumor heterogeneity over time. *Annals of Oncology* **29**, 1258–1265 (2018).
66. Chu, G. J., van Zandwijk, N. & Rasko, J. E. J. The Immune Microenvironment in Mesothelioma: Mechanisms of Resistance to Immunotherapy. *Frontiers in Oncology* **9**, (2019).
67. Guo, W., Lasky, J. L. & Wu, H. Cancer Stem Cells. *Pediatr Res* **59**, 59–64 (2006).
68. Oehl, K., Vrugt, B., Opitz, I. & Meerang, M. Heterogeneity in Malignant Pleural Mesothelioma. *International Journal of Molecular Sciences* **19**, 1603 (2018).
69. Kai, K. *et al.* Characterization of side population cells in human malignant mesothelioma cell lines. *Lung Cancer* **70**, 146–151 (2010).
70. Begicevic, R.-R. & Falasca, M. ABC Transporters in Cancer Stem Cells: Beyond Chemoresistance. *Int J Mol Sci* **18**, 2362 (2017).
71. Milosevic, V. *et al.* Wnt/IL-1 β /IL-8 autocrine circuitries control chemoresistance in mesothelioma initiating cells by inducing ABCB5. *Int J Cancer* **146**, 192–207 (2020).
72. Canino, C. *et al.* SASP mediates chemoresistance and tumor-initiating-activity of mesothelioma cells. *Oncogene* **31**, 3148–3163 (2012).

73. Menges, C. W. *et al.* Tumor Suppressor Alterations Cooperate to Drive Aggressive Mesotheliomas with Enriched Cancer Stem Cells via a p53–miR-34a–c-Met Axis. *Cancer Research* **74**, 1261–1271 (2014).
74. Shapiro, I. M. *et al.* Merlin Deficiency Predicts FAK Inhibitor Sensitivity: A Synthetic Lethal Relationship. *Science Translational Medicine* **6**, 237ra68–237ra68 (2014).
75. Kolev, V. N. *et al.* Inhibition of FAK kinase activity preferentially targets cancer stem cells. *Oncotarget* **8**, 51733–51747 (2017).
76. Adhikary, G. *et al.* Transglutaminase is a mesothelioma cancer stem cell survival protein that is required for tumor formation. *Oncotarget* **9**, 34495–34505 (2018).
77. Hinshaw, D. C. & Shevde, L. A. The Tumor Microenvironment Innately Modulates Cancer Progression. *Cancer Research* **79**, 4557–4566 (2019).
78. Kandasamy, S. *et al.* The YAP1 Signaling Inhibitors, Verteporfin and CA3, Suppress the Mesothelioma Cancer Stem Cell Phenotype. *Mol Cancer Res* **18**, 343–351 (2020).
79. Werb, Z. & Lu, P. The Role of Stroma in Tumor Development. *Cancer J* **21**, 250–253 (2015).
80. Lievens, L. A. *et al.* Pleural Effusion of Patients with Malignant Mesothelioma Induces Macrophage-Mediated T Cell Suppression. *Journal of Thoracic Oncology* **11**, 1755–1764 (2016).
81. Fujii, M. *et al.* TGF- β synergizes with defects in the Hippo pathway to stimulate human malignant mesothelioma growth. *Journal of Experimental Medicine* **209**, 479–494 (2012).
82. Chu, C.-Y., Chang, C.-C., Prakash, E. & Kuo, M.-L. Connective tissue growth factor (CTGF) and cancer progression. *J Biomed Sci* **15**, 675–685 (2008).
83. Bremnes, R. M. *et al.* The Role of Tumor Stroma in Cancer Progression and Prognosis: Emphasis on Carcinoma-Associated Fibroblasts and Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology* **6**, 209–217 (2011).
84. Jang, I. & Beningo, K. A. Integrins, CAFs and Mechanical Forces in the Progression of Cancer. *Cancers (Basel)* **11**, 721 (2019).
85. Ohara, Y. *et al.* Connective tissue growth factor produced by cancer-associated fibroblasts correlates with poor prognosis in epithelioid malignant pleural mesothelioma. *Oncology Reports* **44**, 838–848 (2020).

86. Li, Q. *et al.* Pleural Mesothelioma Instigates Tumor-Associated Fibroblasts To Promote Progression via a Malignant Cytokine Network. *The American Journal of Pathology* **179**, 1483–1493 (2011).
87. Wang, F.-T., Sun, W., Zhang, J.-T. & Fan, Y.-Z. Cancer-associated fibroblast regulation of tumor neo-angiogenesis as a therapeutic target in cancer (Review). *Oncology Letters* **17**, 3055–3065 (2019).
88. Ujiie, H. *et al.* The tumoral and stromal immune microenvironment in malignant pleural mesothelioma: A comprehensive analysis reveals prognostic immune markers. *OncImmunity* **4**, e1009285 (2015).
89. Marcq, E. *et al.* Abundant expression of TIM-3, LAG-3, PD-1 and PD-L1 as immunotherapy checkpoint targets in effusions of mesothelioma patients. *Oncotarget* **8**, 89722–89735 (2017).
90. Amarnath, S. *et al.* The PDL1-PD1 Axis Converts Human TH1 Cells into Regulatory T Cells. *Science Translational Medicine* **3**, 111ra120-111ra120 (2011).
91. Klampatsa, A. *et al.* Phenotypic and functional analysis of malignant mesothelioma tumor-infiltrating lymphocytes. *OncImmunity* **8**, e1638211 (2019).
92. Yamada, N. *et al.* CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes predict favorable prognosis in malignant pleural mesothelioma after resection. *Cancer Immunol Immunother* **59**, 1543–1549 (2010).
93. Hiltbrunner, S. *et al.* Tumor Immune Microenvironment and Genetic Alterations in Mesothelioma. *Frontiers in Oncology* **11**, (2021).
94. Carbone, M. & Bedrossian, C. W. M. The pathogenesis of mesothelioma. *Semin Diagn Pathol* **23**, 56–60 (2006).
95. Désage, A.-L., Karpathiou, G., Peoc'h, M. & Froudarakis, M. E. The Immune Microenvironment of Malignant Pleural Mesothelioma: A Literature Review. *Cancers* **13**, 3205 (2021).
96. Cersosimo, F. *et al.* Tumor-Associated Macrophages in Osteosarcoma: From Mechanisms to Therapy. *Int J Mol Sci* **21**, 5207 (2020).
97. Martinez, F. O. Regulators of macrophage activation. *European Journal of Immunology* **41**, 1531–1534 (2011).

98. Xu, F., Wei, Y., Tang, Z., Liu, B. & Dong, J. Tumor-associated macrophages in lung cancer: Friend or foe? (Review). *Molecular Medicine Reports* **22**, 4107–4115 (2020).
99. Yang, Q. *et al.* The role of tumor-associated macrophages (TAMs) in tumor progression and relevant advance in targeted therapy. *Acta Pharm Sin B* **10**, 2156–2170 (2020).
100. Noy, R. & Pollard, J. W. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity* **41**, 49–61 (2014).
101. Miselis, N. R., Wu, Z. J., Van Rooijen, N. & Kane, A. B. Targeting tumor-associated macrophages in an orthotopic murine model of diffuse malignant mesothelioma. *Mol Cancer Ther* **7**, 788–799 (2008).
102. Izzì, V. *et al.* Differential effects of malignant mesothelioma cells on THP-1 monocytes and macrophages. *International Journal of Oncology* **34**, 543–550 (2009).
103. Chéné, A.-L. *et al.* Pleural Effusions from Patients with Mesothelioma Induce Recruitment of Monocytes and Their Differentiation into M2 Macrophages. *J Thorac Oncol* **11**, 1765–1773 (2016).
104. Horio, D. *et al.* Tumor-associated macrophage-derived inflammatory cytokine enhances malignant potential of malignant pleural mesothelioma. *Cancer Sci* **111**, 2895–2906 (2020).
105. Chen, Y. *et al.* Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression. *Journal of Biomedical Science* **26**, 78 (2019).
106. Blondy, T. *et al.* Involvement of the M-CSF/IL-34/CSF-1R pathway in malignant pleural mesothelioma. *J Immunother Cancer* **8**, e000182 (2020).
107. Dammeijer, F. *et al.* Depletion of Tumor-Associated Macrophages with a CSF-1R Kinase Inhibitor Enhances Antitumor Immunity and Survival Induced by DC Immunotherapy. *Cancer Immunology Research* **5**, 535–546 (2017).
108. Magkouta, S. F. *et al.* CSF1/CSF1R Axis Blockade Limits Mesothelioma and Enhances Efficiency of Anti-PDL1 Immunotherapy. *Cancers* **13**, 2546 (2021).
109. Ries, C. H. *et al.* Targeting Tumor-Associated Macrophages with Anti-CSF-1R Antibody Reveals a Strategy for Cancer Therapy. *Cancer Cell* **25**, 846–859 (2014).

110. Cioce, M. *et al.* Autocrine CSF-1R signaling drives mesothelioma chemoresistance via AKT activation. *Cell Death Dis* **5**, e1167 (2014).
111. Hiraku, Y. *et al.* Multi-walled carbon nanotube induces nitrate DNA damage in human lung epithelial cells via HMGB1-RAGE interaction and Toll-like receptor 9 activation. *Particle and Fibre Toxicology* **13**, 16 (2016).
112. Boyles, M. S. P. *et al.* Multi-walled carbon nanotube induced frustrated phagocytosis, cytotoxicity and pro-inflammatory conditions in macrophages are length dependent and greater than that of asbestos. *Toxicol In Vitro* **29**, 1513–1528 (2015).
113. Carbone, M. & Yang, H. Molecular Pathways: Targeting Mechanisms of Asbestos and Erionite Carcinogenesis in Mesothelioma. *Clinical Cancer Research* **18**, 598–604 (2012).
114. Schürch, C. M. *et al.* The “don’t eat me” signal CD47 is a novel diagnostic biomarker and potential therapeutic target for diffuse malignant mesothelioma. *OncoImmunology* **7**, e1373235 (2018).
115. Andón, F. T. *et al.* Targeting tumor associated macrophages: The new challenge for nanomedicine. *Semin Immunol* **34**, 103–113 (2017).
116. Veltman, J. D. *et al.* Zoledronic acid impairs myeloid differentiation to tumour-associated macrophages in mesothelioma. *Br J Cancer* **103**, 629–641 (2010).
117. Giurisato, E. *et al.* Extracellular-Regulated Protein Kinase 5-Mediated Control of p21 Expression Promotes Macrophage Proliferation Associated with Tumor Growth and Metastasis. *Cancer Research* **80**, 3319–3330 (2020).
118. Allard, B., Beavis, P. A., Darcy, P. K. & Stagg, J. Immunosuppressive activities of adenosine in cancer. *Current Opinion in Pharmacology* **29**, 7–16 (2016).
119. Allard, B., Longhi, M. S., Robson, S. C. & Stagg, J. The ectonucleotidases CD39 and CD73: Novel checkpoint inhibitor targets. *Immunol Rev* **276**, 121–144 (2017).
120. Ghalamfarsa, G. *et al.* CD73 as a potential opportunity for cancer immunotherapy. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* **23**, 127–142 (2019).
121. Novitskiy, S. V. *et al.* Adenosine receptors in regulation of dendritic cell differentiation and function. *Blood* **112**, 1822–1831 (2008).

122. Reyna-Jeldes, M., Díaz-Muñoz, M., Madariaga, J. A., Coddou, C. & Vázquez-Cuevas, F. G. Autocrine and paracrine purinergic signaling in the most lethal types of cancer. *Purinergic Signalling* **17**, 345–370 (2021).
123. Yang, H., Yao, F., Davis, P. F., Tan, S. T. & Hall, S. R. R. CD73, Tumor Plasticity and Immune Evasion in Solid Cancers. *Cancers* **13**, 177 (2021).
124. Ernens, I. *et al.* Adenosine up-regulates vascular endothelial growth factor in human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* **392**, 351–356 (2010).
125. Cekic, C., Day, Y.-J., Sag, D. & Linden, J. Myeloid Expression of Adenosine A2A Receptor Suppresses T and NK Cell Responses in the Solid Tumor Microenvironment. *Cancer Research* **74**, 7250–7259 (2014).
126. Csóka, B. *et al.* Adenosine promotes alternative macrophage activation via A2A and A2B receptors. *FASEB J* **26**, 376–386 (2012).
127. Wang, J. *et al.* Tumor-derived adenosine promotes macrophage proliferation in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* **74**, 627–637 (2021).
128. Strizzi, L. *et al.* Vascular endothelial growth factor is an autocrine growth factor in human malignant mesothelioma. *The Journal of Pathology* **193**, 468–475 (2001).
129. Holmes, D. I. & Zachary, I. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. *Genome Biology* **6**, 209 (2005).
130. Ferrara, N., Gerber, H.-P. & LeCouter, J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* **9**, 669–676 (2003).
131. Zachary, I. VEGF signalling: integration and multi-tasking in endothelial cell biology. *Biochemical Society Transactions* **31**, 1171–1177 (2003).
132. Cao, Y. Antiangiogenic cancer therapy. *Seminars in Cancer Biology* **14**, 139–145 (2004).
133. Ray, M. & Kindler, H. L. Malignant Pleural Mesothelioma: An Update on Biomarkers and Treatment. *CHEST* **136**, 888–896 (2009).
134. Kotova, S., Wong, R. M. & Cameron, R. B. New and emerging therapeutic options for malignant pleural mesothelioma: review of early clinical trials. *CMAR* **7**, 51–63 (2015).

135. Bronte, G. *et al.* The resistance related to targeted therapy in malignant pleural mesothelioma: Why has not the target been hit yet? *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **107**, 20–32 (2016).
136. Carbone, M. *et al.* Mesothelioma: Scientific clues for prevention, diagnosis, and therapy. *CA Cancer J Clin* **69**, 402–429 (2019).
137. Ismail-Khan, R. *et al.* Malignant pleural mesothelioma: a comprehensive review. *Cancer Control* **13**, 255–263 (2006).
138. Rintoul, R. C. *et al.* Efficacy and cost of video-assisted thoracoscopic partial pleurectomy versus talc pleurodesis in patients with malignant pleural mesothelioma (MesoVATS): an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet* **384**, 1118–1127 (2014).
139. Rusch, V. W., Piantadosi, S. & Holmes, E. C. The role of extrapleural pneumonectomy in malignant pleural mesothelioma. A Lung Cancer Study Group trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* **102**, 1–9 (1991).
140. Hajj, G. N. M. *et al.* Malignant pleural mesothelioma: an update. *J Bras Pneumol* **47**, e20210129 (2023).
141. Treasure, T. *et al.* Extra-pleural pneumonectomy versus no extra-pleural pneumonectomy for patients with malignant pleural mesothelioma: clinical outcomes of the Mesothelioma and Radical Surgery (MARS) randomised feasibility study. *The Lancet Oncology* **12**, 763–772 (2011).
142. Zalcman, G. *et al.* Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet* **387**, 1405–1414 (2016).
143. Brosseau, S. *et al.* A review of bevacizumab in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Future Oncol* **13**, 2537–2546 (2017).
144. Petrelli, F. *et al.* A systematic review and meta-analysis of second-line therapies for treatment of mesothelioma. *Respir Med* **141**, 72–80 (2018).
145. Manegold, C. *et al.* Second-line (post-study) chemotherapy received by patients treated in the phase III trial of pemetrexed plus cisplatin versus cisplatin alone in malignant pleural mesothelioma. *Ann Oncol* **16**, 923–927 (2005).

146. Gomez, D. R. *et al.* The Use of Radiation Therapy for the Treatment of Malignant Pleural Mesothelioma: Expert Opinion from the National Cancer Institute Thoracic Malignancy Steering Committee, International Association for the Study of Lung Cancer, and Mesothelioma Applied Research Foundation. *J Thorac Oncol* **14**, 1172–1183 (2019).
147. Thieke, C. *et al.* Long-term results in malignant pleural mesothelioma treated with neoadjuvant chemotherapy, extrapleural pneumonectomy and intensity-modulated radiotherapy. *Radiat Oncol* **10**, 267 (2015).
148. Trovo, M. *et al.* Radical Hemithoracic Radiotherapy Versus Palliative Radiotherapy in Non-metastatic Malignant Pleural Mesothelioma: Results from a Phase 3 Randomized Clinical Trial. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* **109**, 1368–1376 (2021).
149. de Perrot, M. *et al.* Accelerated hemithoracic radiation followed by extrapleural pneumonectomy for malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* **151**, 468–473 (2016).
150. Rimner, A. *et al.* Phase II Study of Hemithoracic Intensity-Modulated Pleural Radiation Therapy (IMPRINT) As Part of Lung-Sparing Multimodality Therapy in Patients With Malignant Pleural Mesothelioma. *J Clin Oncol* **34**, 2761–2768 (2016).
151. Moore, S., Darlison, L. & Tod, A. m. Living with mesothelioma. A literature review. *European Journal of Cancer Care* **19**, 458–468 (2010).
152. Temel, J. S. *et al.* Early Palliative Care for Patients with Metastatic Non–Small-Cell Lung Cancer. *New England Journal of Medicine* **363**, 733–742 (2010).
153. Gunatilake, S. *et al.* A multicentre non-blinded randomised controlled trial to assess the impact of regular early specialist symptom control treatment on quality of life in malignant mesothelioma (RESPECT-MESO): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* **15**, 367 (2014).
154. Hollen, P. J., Gralla, R. J., Liepa, A. M., Symanowski, J. T. & Rusthoven, J. J. Adapting the Lung Cancer Symptom Scale (LCSS) to mesothelioma. *Cancer* **101**, 587–595 (2004).
155. Abrahm, J. L. Palliative care for the patient with mesothelioma. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* **21**, 164–171 (2009).

156. Cancer pain relief and palliative care. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organ Tech Rep Ser* **804**, 1–75 (1990).
157. Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma | European Respiratory Society. <https://erj.ersjournals.com/content/35/3/479>.
158. Simone, C. B., Vapiwala, N., Hampshire, M. K. & Metz, J. M. Palliative care in the management of lung cancer: analgesic utilization and barriers to optimal pain management. *J Opioid Manag* **8**, 9–16 (2012).
159. Ceresoli, G. L., Zucali, P. A., Gianoncelli, L., Lorenzi, E. & Santoro, A. Second-line treatment for malignant pleural mesothelioma. *Cancer Treat Rev* **36**, 24–32 (2010).
160. Bograd, A. J. *et al.* Immune responses and immunotherapeutic interventions in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Immunol Immunother* **60**, 1509–1527 (2011).
161. Ahmadzadeh, M. *et al.* Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* **114**, 1537–1544 (2009).
162. Sharpe, A. H., Wherry, E. J., Ahmed, R. & Freeman, G. J. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol* **8**, 239–245 (2007).
163. Salmaninejad, A. *et al.* PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms. *Immunogenetics* **70**, 73–86 (2018).
164. Ohaegbulam, K. C., Assal, A., Lazar-Molnar, E., Yao, Y. & Zang, X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med* **21**, 24–33 (2015).
165. Ji, M. *et al.* PD-1/PD-L1 pathway in non-small-cell lung cancer and its relation with EGFR mutation. *J Transl Med* **13**, 5 (2015).
166. Nicolini, F. *et al.* Malignant Pleural Mesothelioma: State-of-the-Art on Current Therapies and Promises for the Future. *Frontiers in Oncology* **9**, (2020).
167. Cinausero, M. *et al.* Emerging therapies in malignant pleural mesothelioma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **144**, 102815 (2019).
168. Gray, S. G. & Mutti, L. Immunotherapy for mesothelioma: a critical review of current clinical trials and future perspectives. *Translational Lung Cancer Research* **9**, (2020).

169. Cornelissen, R. *et al.* Dendritic cell-based immunotherapy in mesothelioma. *Immunotherapy* **4**, 1011–1022 (2012).
170. Mesotheliomas in rats following inoculation with asbestos. - PMC. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2008422/>.
171. Mossman, B. T. & Churg, A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med* **157**, 1666–1680 (1998).
172. Chi, Y., Liu, Y. & Zhao, J. [Advances in Immunotherapy for Malignant Pleural Mesothelioma]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi* **25**, 259–265 (2022).
173. Fitzpatrick, D. R., Peroni, D. J. & Bielefeldt-Ohmann, H. The role of growth factors and cytokines in the tumorigenesis and immunobiology of malignant mesothelioma. *Am J Respir Cell Mol Biol* **12**, 455–460 (1995).
174. Borea, F. *et al.* Target Therapy in Malignant Pleural Mesothelioma: Hope or Mirage? *Int J Mol Sci* **24**, 9165 (2023).
175. Ansari, M. J. *et al.* Cancer combination therapies by angiogenesis inhibitors; a comprehensive review. *Cell Communication and Signaling* **20**, 49 (2022).
176. Favoni, R. E., Daga, A., Malatesta, P. & Florio, T. Preclinical studies identify novel targeted pharmacological strategies for treatment of human malignant pleural mesothelioma. *British Journal of Pharmacology* **166**, 532–553 (2012).
177. Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Phase II Trial of Gemcitabine/Cisplatin Plus Bevacizumab or Placebo in Patients With Malignant Mesothelioma | Journal of Clinical Oncology. <https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2011.41.5869>.
178. Ceresoli, G. L. *et al.* Phase II study of pemetrexed and carboplatin plus bevacizumab as first-line therapy in malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer* **109**, 552–558 (2013).
179. Zalcman, G. *et al.* Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *The Lancet* **387**, 1405–1414 (2016).
180. Dineen, S. P. *et al.* Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 Mediates Macrophage Infiltration into Orthotopic Pancreatic Tumors in Mice. *Cancer Research* **68**, 4340–4346 (2008).

181. Falcon, B. L., Chintharlapalli, S., Uhlik, M. T. & Pytowski, B. Antagonist antibodies to vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2) as anti-angiogenic agents. *Pharmacology & Therapeutics* **164**, 204–225 (2016).
182. Pinto, C. *et al.* Gemcitabine with or without ramucirumab as second-line treatment for malignant pleural mesothelioma (RAMES): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **22**, 1438–1447 (2021).
183. Fredriksson, L., Li, H. & Eriksson, U. The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms. *Cytokine & Growth Factor Reviews* **15**, 197–204 (2004).
184. Heldin, C.-H. & Lennartsson, J. Structural and Functional Properties of Platelet-Derived Growth Factor and Stem Cell Factor Receptors. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **5**, a009100 (2013).
185. Versnel, M. A. *et al.* Human malignant mesothelioma cell lines express PDGF beta-receptors whereas cultured normal mesothelial cells express predominantly PDGF alpha-receptors. *Oncogene* **6**, 2005–2011 (1991).
186. Genes & Cancer | Inhibition of the platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFRB) using gene silencing, crenolanib besylate, or imatinib mesylate hampers the malignant phenotype of mesothelioma cell lines. <https://www.genesandcancer.com/article/129/text/doi:10.18632/genesandcancer.129>.
187. Filiberti, R. *et al.* Serum PDGF-AB in Pleural Mesothelioma. *Tumor Biology* **26**, 221–226 (2005).
188. Bertino, P. *et al.* Preliminary data suggestive of a novel translational approach to mesothelioma treatment: imatinib mesylate with gemcitabine or pemetrexed. *Thorax* **62**, 690–695 (2007).
189. Bertino, P. *et al.* Preliminary data suggestive of a novel translational approach to mesothelioma treatment: imatinib mesylate with gemcitabine or pemetrexed. *Thorax* **62**, 690–695 (2007).
190. George, S. *et al.* Selective kinase inhibition with daily imatinib intensifies toxicity of chemotherapy in patients with solid tumours. *European Journal of Cancer* **42**, 864–870 (2006).

191. Zucali, P. A. *et al.* A phase II study of the combination of gemcitabine and imatinib mesylate in pemetrexed-pretreated patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* **142**, 132–137 (2020).
192. Tsao, A. S. *et al.* Phase I Trial of Cisplatin, Pemetrexed, and Imatinib Mesylate in Chemonaive Patients With Unresectable Malignant Pleural Mesothelioma. *Clinical Lung Cancer* **15**, 197–201 (2014).
193. Jänne, P. A., Taffaro, M. L., Salgia, R. & Johnson, B. E. Inhibition of epidermal growth factor receptor signaling in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Res* **62**, 5242–5247 (2002).
194. Ciardiello, F. & Tortora, G. EGFR Antagonists in Cancer Treatment. *New England Journal of Medicine* **358**, 1160–1174 (2008).
195. Autocrine stimulation of a human lung mesothelioma cell line is mediated through the transforming growth factor alpha/epidermal growth factor receptor mitogenic pathway | British Journal of Cancer. <https://www.nature.com/articles/bjc1994410>.
196. Giovannetti, E. *et al.* Preclinical emergence of vandetanib as a potent antitumour agent in mesothelioma: molecular mechanisms underlying its synergistic interaction with pemetrexed and carboplatin. *Br J Cancer* **105**, 1542–1553 (2011).
197. Giovannetti, E. *et al.* Preclinical emergence of vandetanib as a potent antitumour agent in mesothelioma: molecular mechanisms underlying its synergistic interaction with pemetrexed and carboplatin. *Br J Cancer* **105**, 1542–1553 (2011).
198. Govindan, R. *et al.* Gefitinib in Patients with Malignant Mesothelioma: A Phase II Study by the Cancer and Leukemia Group B. *Clinical Cancer Research* **11**, 2300–2304 (2005).
199. Garland, L. L. *et al.* Phase II Study of Erlotinib in Patients With Malignant Pleural Mesothelioma: A Southwest Oncology Group Study. *JCO* **25**, 2406–2413 (2007).
200. Therapeutic antitumor efficacy of anti-epidermal growth factor receptor antibody, cetuximab, against malignant pleural mesothelioma. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2012.1607>.
201. Giacomini, A. *et al.* Blocking the FGF/FGFR system as a □two-compartment□ antiangiogenic/antitumor approach in cancer therapy. *Pharmacological Research* **107**, 172–185 (2016).

202. The Fibroblast Growth Factor signaling pathway - Ornitz - 2015 - WIREs Developmental Biology - Wiley Online Library. <https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wdev.176>.
203. Szymczyk, J. *et al.* FGF/FGFR-Dependent Molecular Mechanisms Underlying Anti-Cancer Drug Resistance. *Cancers* **13**, 5796 (2021).
204. Schelch, K. *et al.* FGF2 and EGF induce epithelial–mesenchymal transition in malignant pleural mesothelioma cells via a MAPKinase/MMP1 signal. *Carcinogenesis* **39**, 534–545 (2018).
205. van Brummelen, E. M. J. *et al.* A phase Ib study of GSK3052230, an FGF ligand trap in combination with pemetrexed and cisplatin in patients with malignant pleural mesothelioma. *Invest New Drugs* **38**, 457–467 (2020).
206. Moosavi, F., Giovannetti, E., Peters, G. J. & Firuzi, O. Combination of HGF/MET-targeting agents and other therapeutic strategies in cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **160**, 103234 (2021).
207. Gaudino, G., Yang, H. & Carbone, M. HGF/Met Signaling Is a Key Player in Malignant Mesothelioma Carcinogenesis. *Biomedicines* **2**, 327–344 (2014).
208. Katayama, R. *et al.* Cytotoxic Activity of Tivantinib (ARQ 197) Is Not Due Solely to c-MET Inhibition. *Cancer Research* **73**, 3087–3096 (2013).
209. Suraokar, M. B. *et al.* Expression profiling stratifies mesothelioma tumors and signifies deregulation of spindle checkpoint pathway and microtubule network with therapeutic implications. *Annals of Oncology* **25**, 1184–1192 (2014).
210. Leon, L. G. *et al.* Synergistic Activity of the c-Met and Tubulin Inhibitor Tivantinib (ARQ197) with Pemetrexed in Mesothelioma Cells. *Current Drug Targets* **15**, 1331–1340.
211. Zucali, P. A. *et al.* Phase I trial of tivantinib in combination with carboplatin and pemetrexed as first-line treatment in patients with advanced nonsquamous non small cell lung cancer or malignant pleural mesothelioma. *JCO* **33**, 2549–2549 (2015).
212. Maron, S. B. *et al.* ARQ 197 in patients with previously-treated malignant mesothelioma (MM): A phase II trial from the University of Chicago Phase II Consortium. *JCO* **33**, 7511–7511 (2015).

213. Tsao, A. S. *et al.* Phase II Trial of Cediranib in Combination With Cisplatin and Pemetrexed in Chemotherapy-Naïve Patients With Unresectable Malignant Pleural Mesothelioma (SWOG S0905). *JCO* **37**, 2537–2547 (2019).
214. Laszlo, V. *et al.* Nintedanib Is Active in Malignant Pleural Mesothelioma Cell Models and Inhibits Angiogenesis and Tumor Growth In Vivo. *Clinical Cancer Research* **24**, 3729–3740 (2018).
215. Grosso, F. *et al.* Nintedanib Plus Pemetrexed/Cisplatin in Patients With Malignant Pleural Mesothelioma: Phase II Results From the Randomized, Placebo-Controlled LUME-Meso Trial. *JCO* **35**, 3591–3600 (2017).
216. Scagliotti, G. V. *et al.* Nintedanib in combination with pemetrexed and cisplatin for chemotherapy-naïve patients with advanced malignant pleural mesothelioma (LUME-Meso): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet Respiratory Medicine* **7**, 569–580 (2019).
217. Ocana, A. *et al.* Activation of the PI3K/mTOR/AKT Pathway and Survival in Solid Tumors: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* **9**, e95219 (2014).
218. Ou, S.-H. I. *et al.* SWOG S0722: Phase II Study of mTOR Inhibitor Everolimus (RAD001) in Advanced Malignant Pleural Mesothelioma (MPM). *Journal of Thoracic Oncology* **10**, 387–391 (2015).
219. Zhou, S. *et al.* Multipoint targeting of the PI3K/mTOR pathway in mesothelioma. *Br J Cancer* **110**, 2479–2488 (2014).
220. Zauderer, M. G. *et al.* Phase 1 cohort expansion study of LY3023414, a dual PI3K/mTOR inhibitor, in patients with advanced mesothelioma. *Invest New Drugs* **39**, 1081–1088 (2021).
221. Olofsson, K. & Mark, J. Specificity of asbestos-induced chromosomal aberrations in short-term cultured human mesothelial cells. *Cancer Genetics and Cytogenetics* **41**, 33–39 (1989).
222. Bronte, G. *et al.* The resistance related to targeted therapy in malignant pleural mesothelioma: Why has not the target been hit yet? *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **107**, 20–32 (2016).

223. Vachani, A., Moon, E. & Albelda, S. M. Gene Therapy for Mesothelioma. *Curr. Treat. Options in Oncol.* **12**, 173–180 (2011).
224. Robertson, K. D. & Jones, P. A. Tissue-specific alternative splicing in the human INK4a/ARF cell cycle regulatory locus. *Oncogene* **18**, 3810–3820 (1999).
225. Fennell, D. A. *et al.* Abemaciclib in patients with p16ink4A-deficient mesothelioma (MiST2): a single-arm, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **23**, 374–381 (2022).
226. Ladanyi, M. *et al.* New Strategies in Pleural Mesothelioma: BAP1 and NF2 as Novel Targets for Therapeutic Development and Risk Assessment. *Clinical Cancer Research* **18**, 4485–4490 (2012).
227. Kanteti, R. *et al.* Focal adhesion kinase a potential therapeutic target for pancreatic cancer and malignant pleural mesothelioma. *Cancer Biology & Therapy* **19**, 316–327 (2018).
228. Fennell, D. A. *et al.* Maintenance Defactinib Versus Placebo After First-Line Chemotherapy in Patients With Merlin-Stratified Pleural Mesothelioma: COMMAND—A Double-Blind, Randomized, Phase II Study. *JCO* **37**, 790–798 (2019).
229. Han, A., Purwin, T. J. & Aplin, A. E. Roles of the BAP1 Tumor Suppressor in Cell Metabolism. *Cancer Research* **81**, 2807–2814 (2021).
230. Srinivasan, G. *et al.* Synthetic lethality in malignant pleural mesothelioma with PARP1 inhibition. *Cancer Chemother Pharmacol* **80**, 861–867 (2017).
231. Fennell, D. A. *et al.* Rucaparib in patients with BAP1-deficient or BRCA1-deficient mesothelioma (MiST1): an open-label, single-arm, phase 2a clinical trial. *The Lancet Respiratory Medicine* **9**, 593–600 (2021).
232. Ghafoor, A. *et al.* Phase 2 Study of Olaparib in Malignant Mesothelioma and Correlation of Efficacy With Germline or Somatic Mutations in BAP1 Gene. *JTO Clinical and Research Reports* **2**, (2021).
233. George, T. J. *et al.* Results of a phase II trial of the PARP inhibitor, niraparib, in BAP1 and other DNA damage response pathway deficient neoplasms. *JCO* **40**, 3122–3122 (2022).
234. Passiglia, F. *et al.* A Prospective Phase II Single-arm Study of Niraparib Plus Dostarlimab in Patients With Advanced Non-small-cell Lung Cancer and/or Malignant Pleural

Mesothelioma, Positive for PD-L1 Expression and Germline or Somatic Mutations in the DNA Repair Genes: Rationale and Study Design. *Clinical Lung Cancer* **22**, e63–e66 (2021).

235. Villar-Garea, A. & Esteller, M. Histone deacetylase inhibitors: Understanding a new wave of anticancer agents. *International Journal of Cancer* **112**, 171–178 (2004).

236. Paik, P. K. & Krug, L. M. Histone Deacetylase Inhibitors in Malignant Pleural Mesothelioma: Preclinical Rationale and Clinical Trials. *Journal of Thoracic Oncology* **5**, 275–279 (2010).

237. Krug, L. M. *et al.* Vorinostat in patients with advanced malignant pleural mesothelioma who have progressed on previous chemotherapy (VANTAGE-014): a phase 3, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Oncology* **16**, 447–456 (2015).

238. Ramalingam, S. S. *et al.* Phase II Study of Belinostat (PXD101), a Histone Deacetylase Inhibitor, for Second Line Therapy of Advanced Malignant Pleural Mesothelioma. *Journal of Thoracic Oncology* **4**, 97–101 (2009).

239. Yang, Y. & Li, G. Post-translational modifications of PRC2: signals directing its activity. *Epigenetics & Chromatin* **13**, 47 (2020).

240. LaFave, L. M. *et al.* Loss of BAP1 function leads to EZH2-dependent transformation. *Nat Med* **21**, 1344–1349 (2015).

241. Zauderer, M. G. *et al.* EZH2 inhibitor tazemetostat in patients with relapsed or refractory, BAP1-inactivated malignant pleural mesothelioma: a multicentre, open-label, phase 2 study. *The Lancet Oncology* **23**, 758–767 (2022).

242. Servais, E. L. *et al.* Mesothelin Overexpression Promotes Mesothelioma Cell Invasion and MMP-9 Secretion in an Orthotopic Mouse Model and in Epithelioid Pleural Mesothelioma Patients. *Clinical Cancer Research* **18**, 2478–2489 (2012).

243. Kreitman, R. J., Hassan, R., FitzGerald, D. J. & Pastan, I. Phase I Trial of Continuous Infusion Anti-Mesothelin Recombinant Immunotoxin SS1P. *Clinical Cancer Research* **15**, 5274–5279 (2009).

244. Hassan, R. *et al.* Phase 1 study of the antimesothelin immunotoxin SS1P in combination with pemetrexed and cisplatin for front-line therapy of pleural mesothelioma and

correlation of tumor response with serum mesothelin, megakaryocyte potentiating factor, and cancer antigen 125. *Cancer* **120**, 3311–3319 (2014).

245. Mossoba, M. E. *et al.* Pentostatin Plus Cyclophosphamide Safely and Effectively Prevents Immunotoxin Immunogenicity in Murine Hosts. *Clinical Cancer Research* **17**, 3697–3705 (2011).

246. Hassan, R. *et al.* Major Cancer Regressions in Mesothelioma After Treatment with an Anti-Mesothelin Immunotoxin and Immune Suppression. *Science Translational Medicine* **5**, 208ra147-208ra147 (2013).

247. Hassan, R. *et al.* Phase 1 study of the immunotoxin LMB-100 in patients with mesothelioma and other solid tumors expressing mesothelin. *Cancer* **126**, 4936–4947 (2020).

248. Zhang, J. *et al.* Efficacy of Anti-mesothelin Immunotoxin RG7787 plus Nab-Paclitaxel against Mesothelioma Patient-Derived Xenografts and Mesothelin as a Biomarker of Tumor Response. *Clinical Cancer Research* **23**, 1564–1574 (2017).

249. Leshem, Y. *et al.* Combining Local Immunotoxins Targeting Mesothelin with CTLA-4 Blockade Synergistically Eradicates Murine Cancer by Promoting Anticancer Immunity. *Cancer Immunology Research* **5**, 685–694 (2017).

250. Hassan, R. *et al.* Phase I Clinical Trial of the Chimeric Anti-Mesothelin Monoclonal Antibody MORAb-009 in Patients with Mesothelin-Expressing Cancers. *Clinical Cancer Research* **16**, 6132–6138 (2010).

251. Hassan, R. *et al.* Phase II Clinical Trial of Amatuximab, a Chimeric Antimesothelin Antibody with Pemetrexed and Cisplatin in Advanced Unresectable Pleural Mesothelioma. *Clinical Cancer Research* **20**, 5927–5936 (2014).

252. Golfier, S. *et al.* Anetumab Ravtansine: A Novel Mesothelin-Targeting Antibody-Drug Conjugate Cures Tumors with Heterogeneous Target Expression Favored by Bystander Effect. *Molecular Cancer Therapeutics* **13**, 1537–1548 (2014).

253. Hassan, R. *et al.* First-in-Human, Multicenter, Phase I Dose-Escalation and Expansion Study of Anti-Mesothelin Antibody-Drug Conjugate Anetumab Ravtansine in Advanced or Metastatic Solid Tumors. *JCO* **38**, 1824–1835 (2020).

254. Hassan, R. *et al.* Abstract A095: Phase Ib study of anetumab ravtansine in combination with pemetrexed and cisplatin in patients with mesothelin-expressing epithelial mesothelioma or nonsquamous non-small cell lung cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* **17**, A095 (2018).
255. Kindler, H. L. *et al.* Anetumab ravtansine versus vinorelbine in patients with relapsed, mesothelin-positive malignant pleural mesothelioma (ARCS-M): a randomised, open-label phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **23**, 540–552 (2022).
256. Sadelain, M., Brentjens, R. & Rivière, I. The Basic Principles of Chimeric Antigen Receptor Design. *Cancer Discovery* **3**, 388–398 (2013).
257. Multiple Injections of Electroporated Autologous T Cells Expressing a Chimeric Antigen Receptor Mediate Regression of Human Disseminated Tumor | Cancer Research | American Association for Cancer Research. <https://aacrjournals.org/cancerres/article/70/22/9053/561118/Multiple-Injections-of-Electroporated-Autologous-T>.
258. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity | Science Translational Medicine. <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3010162>.
259. Klampatsa, A. & Albelda, S. M. Current Advances in CAR T Cell Therapy for Malignant Mesothelioma. *J Cell Immunol* **2**, 192–200 (2020).
260. Szlosarek, P. W. *et al.* In vivo Loss of Expression of Argininosuccinate Synthetase in Malignant Pleural Mesothelioma Is a Biomarker for Susceptibility to Arginine Depletion. *Clinical Cancer Research* **12**, 7126–7131 (2006).
261. Targeting Arginine-Dependent Cancers with Arginine-Degrading Enzymes: Opportunities and Challenges. <https://e-crt.org/journal/view.php?doi=10.4143/crt.2013.45.4.251>.
262. Szlosarek, P. W. *et al.* Arginine Deprivation With Pegylated Arginine Deiminase in Patients With Argininosuccinate Synthetase 1–Deficient Malignant Pleural Mesothelioma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology* **3**, 58–66 (2017).
263. Beddowes, E. *et al.* Phase 1 Dose-Escalation Study of Pegylated Arginine Deiminase, Cisplatin, and Pemetrexed in Patients With Argininosuccinate Synthetase 1–Deficient Thoracic Cancers. *JCO* **35**, 1778–1785 (2017).

264. Szlosarek, P. W. *et al.* Expansion Phase 1 Study of Pegargiminase Plus Pemetrexed and Cisplatin in Patients With Argininosuccinate Synthetase 1–Deficient Mesothelioma: Safety, Efficacy, and Resistance Mechanisms. *JTO Clinical and Research Reports* **1**, (2020).
265. Lemke, G. & Rothlin, C. V. Immunobiology of the TAM receptors. *Nat Rev Immunol* **8**, 327–336 (2008).
266. Li, Y. *et al.* Axl as a potential therapeutic target in cancer: role of Axl in tumor growth, metastasis and angiogenesis. *Oncogene* **28**, 3442–3455 (2009).
267. Song, W. *et al.* AXL Inactivation Inhibits Mesothelioma Growth and Migration via Regulation of p53 Expression. *Cancers* **12**, 2757 (2020).
268. Oien, D. B., Garay, T., Eckstein, S. & Chien, J. Cisplatin and Pemetrexed Activate AXL and AXL Inhibitor BGB324 Enhances Mesothelioma Cell Death from Chemotherapy. *Frontiers in Pharmacology* **8**, (2018).
269. Liberti, M. V. & Locasale, J. W. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences* **41**, 211–218 (2016).
270. Potter, M., Newport, E. & Morten, K. J. The Warburg effect: 80 years on. *Biochemical Society Transactions* **44**, 1499–1505 (2016).
271. Comandatore, A. *et al.* Lactate Dehydrogenase and its clinical significance in pancreatic and thoracic cancers. *Seminars in Cancer Biology* **86**, 93–100 (2022).
272. Franczak, M. A. *et al.* Metabolic Effects of New Glucose Transporter (GLUT-1) and Lactate Dehydrogenase-A (LDH-A) Inhibitors against Chemoresistant Malignant Mesothelioma. *International Journal of Molecular Sciences* **24**, 7771 (2023).
273. Mueckler, M. & Thorens, B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. *Molecular Aspects of Medicine* **34**, 121–138 (2013).
274. Yu, M. *et al.* The prognostic value of GLUT1 in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* **8**, 43356–43367 (2017).
275. Matsumoto, T., Jimi, S., Migita, K., Takamatsu, Y. & Hara, S. Inhibition of glucose transporter 1 induces apoptosis and sensitizes multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents. *Leukemia Research* **41**, 103–110 (2016).

Ringraziamenti

Ringrazio la Professoressa Chiara Porta per avermi guidata con pazienza nella fase più importante del mio percorso accademico.

A Lorenzo, che mi ha sempre supportata e spronata a dare il meglio di me durante questo lungo percorso.

A mia sorella Sophia, per l'affetto e il sostegno che non sono mai venuti a mancare.

A mia zia Bianca, che nonostante la distanza si è sempre fatta sentire vicina durante questo percorso.

A mio nonno Luigi, per le miracolose preghiere prima dei miei esami! Ma soprattutto per il costante sostegno e affetto.

Un ringraziamento speciale ai miei genitori, Anna Rita e Brad, che mi hanno permesso di compiere gli studi in maniera serena sostenendomi in ogni momento.