



DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

***“Marcatori molecolari nel carcinoma del colon-retto:
nuove frontiere per la diagnosi precoce e lo screening”***

Relatore:
Prof.ssa Silvia Garavaglia

Candidato:
Ludovica Jeti

anno accademico 2025-2026

Sessione estiva

*Al mio nonno G.B.,
che con la sua passione,
ha tracciato il mio cammino*

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

CRC - carcinoma del colon-retto
CEA - Carcinoembryonic Antigen
CA19-9 - Carbohydrate Antigen 19-9
KRAS - Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
BRAF - v-Raf Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B1
NRAS - Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog
MMR - Mismatch Repair
APC - Adenomatous Polyposis Coli
TP53 - Tumor Protein p53
EGFR - Epidermal Growth Factor Receptor
TGF-B - Transforming Growth Factor Beta
NGS - Next Generation Sequencing
PCR - reazione a catena della polimerasi
MIS - Müllerian Inhibiting Substance
FIT - test immunochimico fecale
gFOBT- test al sangue occulto fecale
TIMP-1 - Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1
TPA - Tissue Polypeptide Antigen
TPS - Tissue Polypeptide Specific Antigen
VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR2 - Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2
CTCs - Circulating Tumor Cells
ctDNA - Circulating Tumor DNA
NGS- Next Generation Sequencing
PD-1 - Programmed Death-1
ICIs - Immune Checkpoint Inhibitors
miRNA- microRNA
lncRNA - Long Non-Coding RNA
5-FU - 5-fluorouracile
dTMP - timidina monofosfato
CIMP - CpG Island Methylator Phenotype

Indice

<i>Introduzione</i>	6
<i>CAPITOLO 1. ANATOMIA, FISIOLOGIA E PATOGENESI DEL CARCINOMA DEL COLON-RETTO</i>	8
1.1 Anatomia del colon-retto.....	8
1.2 Fisiologia del colon retto	10
1.3 Fattori di rischio del Carcinoma Colon Retto.....	12
1.4 Dalla lesione precancerosa al carcinoma coloretale	13
1.5 Stadiazione del carcinoma del colon retto secondo il sistema TNM	16
1.6 Sintomatologia del carcinoma al colon retto in base alla localizzazione anatomica	19
<i>CAPITOLO 2. BIOCHIMICA E MARCATORI MOLECOLARI NEL TUMORE COLON-RETTALE</i>	20
2.1 Definizione e caratteristiche dei biomarcatori	20
2.2 Marcatori sierici e fecali.....	21
2.3 Marcatori tissutali, genetici e molecolari.....	26
2.4 Nuovi biomarcatori emergenti.....	32
2.5 Limiti e potenzialità	36
<i>CAPITOLO 3. APPROCCIO FARMACOLOGICO AL CARCINOMA DEL COLON-RETTO</i>	42
3.1. Principi della terapia oncologica	42
3.2. Chemioterapia tradizionale	43
3.3. Protocolli chemioterapici (FOLFOX, FOLFIRI, CAPOX)	46
3.4. Farmaci biologici	47
3.5. Immunoterapia	50
3.7. Aderenza terapeutica.....	52
<i>CAPITOLO 4. PREVENZIONE E RUOLO DEL FARMACISTA</i>	53
4.1. Prevenzione primaria	53
4.2. Prevenzione secondaria	55
4.3. Farmacia dei servizi.....	56
<i>CAPITOLO 5. PROSPETTIVE FUTURE</i>	60
5.1. Nuove strategie terapeutiche	60
5.2. Terapie personalizzate.....	61
5.3. Intelligenza artificiale.....	62
5.4. Evoluzione del ruolo del farmacista oncologo.....	63

<i>CONCLUSIONE</i>.....	66
<i>Bibliografia</i>	67

Introduzione

Il carcinoma del colon-retto rappresenta una delle principali cause di morbidità e mortalità oncologica a livello mondiale. Secondo le più recenti stime epidemiologiche, esso figura tra le neoplasie più frequentemente diagnosticate sia nella popolazione maschile sia in quella femminile, costituendo un rilevante problema di salute pubblica. Nonostante i progressi ottenuti negli ultimi decenni nell'ambito della prevenzione, della diagnosi precoce e delle strategie terapeutiche, il tumore coloretale continua a essere responsabile di un elevato numero di decessi ogni anno, con un significativo impatto sanitario, sociale ed economico. L'insorgenza del carcinoma coloretale è il risultato di un processo multifattoriale che coinvolge predisposizione genetica, fattori ambientali e abitudini di vita. L'invecchiamento della popolazione, la diffusione di stili di vita sedentari, l'obesità, il consumo di alcol e tabacco e una dieta povera di fibre rappresentano alcuni dei principali fattori che contribuiscono all'aumento dell'incidenza della malattia. Oltre alle conseguenze cliniche per il paziente, il carcinoma del colon-retto comporta un notevole impatto sociale, determinando costi elevati per il sistema sanitario e influenzando significativamente la qualità di vita dei soggetti affetti e dei loro familiari. Negli ultimi anni, la crescente comprensione dei meccanismi molecolari alla base della carcinogenesi coloretale ha consentito lo sviluppo di nuovi strumenti diagnostici e terapeutici. In questo contesto, la biochimica clinica ha assunto un ruolo centrale nell'identificazione di biomarcatori utili per la diagnosi, la prognosi e la selezione dei trattamenti più appropriati. L'analisi di specifiche alterazioni genetiche e molecolari ha infatti aperto la strada alla medicina di precisione, permettendo un approccio terapeutico sempre più personalizzato e mirato alle caratteristiche biologiche del singolo tumore. La presente tesi si propone di analizzare il carcinoma del colon-retto sotto il profilo anatomico, fisiopatologico e molecolare, con particolare attenzione ai biomarcatori attualmente utilizzati nella pratica clinica e alle più recenti prospettive offerte dalla ricerca scientifica. Verranno inoltre approfonditi gli aspetti farmacologici relativi ai principali trattamenti disponibili, il ruolo della prevenzione e l'importanza dell'intervento del farmacista all'interno del percorso assistenziale del paziente oncologico. L'obiettivo finale è fornire una panoramica aggiornata delle conoscenze attuali sul carcinoma coloretale, evidenziando come l'integrazione tra biochimica, farmacologia e medicina personalizzata

possa contribuire al miglioramento della diagnosi, della gestione terapeutica e della qualità di vita dei pazienti.

CAPITOLO 1. ANATOMIA, FISIOLOGIA E PATOGENESI DEL CARCINOMA DEL COLON-RETTO

1.1 Anatomia del colon-retto

Il colon-retto rappresenta il tratto terminale dell'apparato digerente, un complesso sistema anatomico e funzionale deputato all'assunzione degli alimenti, alla loro digestione, all'assorbimento dei nutrienti e all'eliminazione dei residui non utilizzabili dall'organismo. L'intestino rappresenta la porzione più estesa del canale alimentare e viene convenzionalmente suddiviso in intestino tenue e intestino crasso (Figura 1)¹. L'intestino tenue fa seguito allo stomaco in corrispondenza del piloro e giunge fino alla valvola ileo-ciecale, dove si continua con l'intestino crasso. Ha la forma di un lungo tubo, che misura in lunghezza oltre 7 metri e viene suddiviso in due parti: una prima, fissa, che è chiamata duodeno ed una seconda, mobile, che è detta intestino mesenterico. Il confine fra le due parti è segnato dalla flessura duodeno-digiunale. Nell'intestino tenue viene completata la digestione degli alimenti e si ha l'assorbimento delle sostanze digerite¹. L'intestino crasso fa seguito all'intestino tenue in corrispondenza della valvola ileo-ciecale e termina in corrispondenza dell'ano. È lungo circa 1,70 m ed il suo diametro, che inizialmente è di circa 7 cm, va riducendosi verso l'estremità distale a 4,5 cm. Nell'intestino crasso avviene fondamentalmente l'assorbimento dell'acqua ed i residui alimentari vengono trasformati in feci. Esso consta di tre parti, di queste la prima è l'intestino cieco, cui è annessa l'appendice vermiforme, la seconda è il colon e la terza è l'intestino retto¹.

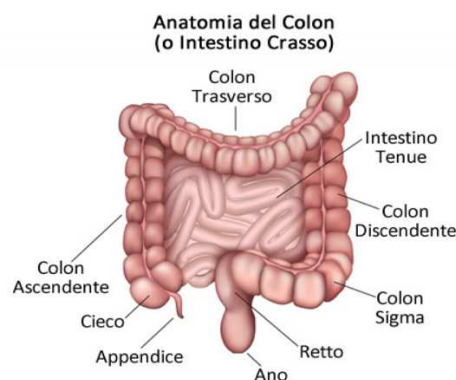


Figura 1. Anatomia del Colon.¹⁰¹

L'intestino cieco rappresenta il primo segmento dell'intestino crasso e riceve il contenuto proveniente dall'ileo attraverso la valvola ileocecale, una struttura che regola il passaggio del chimo e impedisce il reflusso del contenuto colico verso l'intestino tenue. Dal cieco origina l'appendice vermiforme, un organo linfoide che funge da riserva per i batteri buoni dell'intestino. Il colon è suddiviso in quattro segmenti principali: colon ascendente, colon trasverso, colon discendente e colon sigmoideo (Figura 1). Il colon ascendente decorre nella porzione destra della cavità addominale fino alla flessura colica destra o epatica, dove prosegue nel colon trasverso. Quest'ultimo attraversa trasversalmente l'addome fino alla flessura colica sinistra o splenica, continuando poi nel colon discendente. Il colon sigmoideo rappresenta il tratto terminale del colon e collega il colon discendente al retto¹. Una caratteristica distintiva del colon è la presenza delle tenie coli, tre bande longitudinali di muscolatura liscia che percorrono la superficie esterna dell'organo. La loro disposizione determina la formazione delle sacculazioni caratteristiche denominate austre. Sono inoltre presenti appendici epiploiche ossia piccole estroflessioni adipose del peritoneo viscerale². Il retto costituisce gli ultimi 12-15 centimetri dell'intestino crasso e si estende dal colon sigmoideo al canale anale. Esso funge da serbatoio temporaneo delle feci prima della defecazione. Il canale anale, lungo circa 3-4 centimetri, termina con l'orifizio anale ed è circondato da due sistemi sfinterici: lo sfintere anale interno, costituito da muscolatura liscia involontaria, e lo sfintere anale esterno, formato da muscolatura striata sottoposta a controllo volontario. Come mostrato in Figura 2 la parete del colon-retto è organizzata in quattro tonache concentriche: mucosa, sottomucosa, muscolare e sierosa².

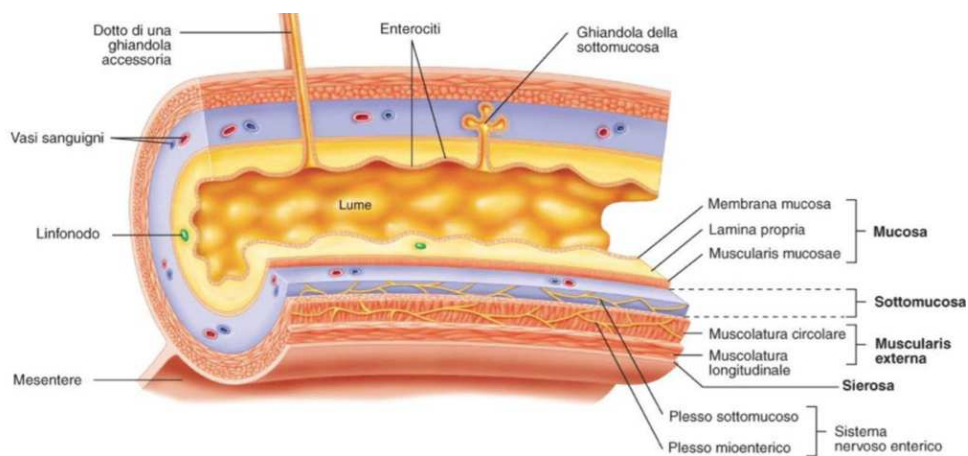


Figura 2. Struttura della parete digerente¹⁰¹

La mucosa è costituita da un epitelio cilindrico semplice caratterizzato dall'assenza di villi intestinali, a differenza dell'intestino tenue, dove sono invece presenti numerose cripte di Lieberkühn, strutture tubulari che si approfondiscono nella lamina propria (Figura 2). L'epitelio contiene principalmente colonociti, cellule assorbenti responsabili del riassorbimento di acqua ed elettroliti, e cellule caliciformi mucipare, deputate alla produzione di muco. Procedendo verso il retto, il numero delle cellule caliciformi aumenta progressivamente per facilitare il transito delle feci. La sottomucosa è costituita da tessuto connettivo contenente vasi sanguigni, vasi linfatici e il plesso nervoso sottomucoso di Meissner, coinvolto nella regolazione delle secrezioni e del flusso ematico locale². La tonaca muscolare comprende uno strato circolare interno e uno longitudinale esterno. Tra questi due strati è localizzato il plesso mioenterico di Auerbach, che coordina la motilità intestinale. La sierosa riveste le porzioni intraperitoneali del colon, mentre le regioni retroperitoneali presentano una tonaca avventizia². L'irrorazione arteriosa del colon deriva principalmente dalle arterie mesenterica superiore e mesenterica inferiore. L'arteria mesenterica superiore fornisce sangue al cieco, al colon ascendente e ai due terzi prossimali del colon trasverso, mentre l'arteria mesenterica inferiore irrori il terzo distale del colon trasverso, il colon discendente, il sigma e il retto superiore³. Il drenaggio venoso segue un decorso analogo e confluisce nel sistema portale epatico. Questa caratteristica riveste notevole importanza farmacologica poiché molte sostanze assorbite a livello intestinale raggiungono il fegato prima di entrare nella circolazione sistemica³. L'innervazione del colon-retto è garantita dal sistema nervoso enterico, costituito principalmente dai plessi di Meissner e Auerbach, che agiscono in stretta collaborazione con il sistema nervoso autonomo. Le fibre parasimpatiche stimolano la motilità e la secrezione intestinale, mentre le fibre simpatiche esercitano prevalentemente un effetto inibitorio.

1.2 Fisiologia del colon retto

Il colon-retto rappresenta una struttura anatomica altamente specializzata, essenziale per il completamento dei processi digestivi e per il mantenimento dell'equilibrio fisiologico dell'organismo. Oltre al fondamentale ruolo nell'assorbimento di acqua ed elettroliti e nella formazione delle feci, esso svolge importanti funzioni metaboliche, immunitarie e di interazione con il microbiota intestinale. La principale funzione fisiologica del colon consiste dunque nel riassorbimento di acqua ed elettroliti

dal contenuto intestinale proveniente dall'ileo. Ogni giorno circa 1-2 litri di materiale liquido raggiungono il colon, che ne assorbe la maggior parte, lasciando soltanto 100-200 millilitri eliminati con le feci. Il trasporto del sodio attraverso l'epitelio colico rappresenta il principale meccanismo che guida l'assorbimento di acqua. L'acqua segue passivamente il gradiente osmotico creato dal movimento degli elettroliti. Contestualmente avviene l'assorbimento di cloruro e la secrezione di bicarbonato, importante per neutralizzare gli acidi prodotti dalla flora batterica. La motilità del colon è finalizzata principalmente al mescolamento del contenuto intestinale e al suo progressivo avanzamento verso il retto. Essa comprende due diversi tipi di movimenti:

- le contrazioni segmentarie favoriscono il rimescolamento del contenuto luminale, aumentando il contatto tra il materiale fecale e la superficie assorbente della mucosa;
- i movimenti peristaltici consentono la progressione del contenuto intestinale lungo il colon.

Particolarmente importanti sono i movimenti di massa, potenti onde propulsive che si verificano alcune volte al giorno, soprattutto dopo i pasti, grazie all'attivazione del riflesso gastrocolico. L'accumulo di materiale fecale nel retto determina la distensione delle sue pareti e l'attivazione del riflesso della defecazione. Questo processo comporta il rilassamento dello sfintere anale interno e, in condizioni appropriate, il rilassamento volontario dello sfintere anale esterno, consentendo l'espulsione delle feci⁴. Sebbene il colon possieda una capacità secretoria inferiore rispetto all'intestino tenue, esso produce una significativa quantità di muco attraverso le cellule caliciformi. Il muco svolge una funzione protettiva nei confronti della mucosa e facilita il passaggio delle feci. In risposta a stimoli meccanici o irritativi, la secrezione mucosa aumenta notevolmente, contribuendo alla protezione dell'epitelio da danni fisici e chimici. Una delle funzioni più rilevanti del colon è l'ospitare una complessa comunità di microrganismi, nota come microbiota intestinale. Nel colon umano risiedono trilioni di batteri appartenenti a centinaia di specie differenti, prevalentemente anaerobie⁴. Il microbiota svolge numerose funzioni fisiologiche essenziali. Esso partecipa alla fermentazione dei residui alimentari non digeribili, in particolare delle fibre alimentari, producendo acidi grassi a catena corta quali acetato, propionato e butirato. Quest'ultimo rappresenta la principale fonte energetica per i colonociti e contribuisce al mantenimento dell'integrità della barriera intestinale. Inoltre, il microbiota interviene nella sintesi di alcune vitamine, tra cui la

vitamina K e alcune vitamine del gruppo B, modula la risposta immunitaria e costituisce una barriera contro la colonizzazione da parte di microrganismi patogeni. L'alterazione dell'equilibrio microbico, definita disbiosi intestinale, è stata associata a numerose condizioni patologiche, comprese le malattie infiammatorie intestinali, la sindrome dell'intestino irritabile e il carcinoma coloretale. Il colon, inoltre, rappresenta un importante organo immunitario grazie alla presenza del tessuto linfoide associato all'intestino o *Gut-Associated Lymphoid Tissue* (GALT). Tale sistema comprende linfociti, plasmacellule, macrofagi e cellule dendritiche distribuiti nella mucosa e nella sottomucosa. La comprensione approfondita dell'anatomia e della fisiologia del colon-retto costituisce una base indispensabile per lo studio delle patologie gastrointestinali e per lo sviluppo di strategie farmacologiche mirate, ambito di particolare interesse nella pratica e nella ricerca farmaceutica.

1.3 Fattori di rischio del Carcinoma Colon Retto

Il carcinoma del colon-retto rappresenta una delle neoplasie più frequenti a livello mondiale e la sua insorgenza è il risultato di una complessa interazione tra fattori genetici, ambientali e comportamentali. Sebbene la maggior parte dei casi sia di natura sporadica, numerosi fattori di rischio sono stati associati allo sviluppo della malattia⁵. L'età costituisce uno dei principali fattori di rischio, poiché l'incidenza del carcinoma coloretale aumenta progressivamente dopo i 50 anni. Tuttavia, negli ultimi anni è stato osservato un incremento dei casi anche nelle fasce di popolazione più giovani. Tra i fattori non modificabili rientrano la familiarità e la predisposizione genetica. Infatti, la presenza di parenti di primo grado affetti da carcinoma coloretale aumenta significativamente il rischio individuale, soprattutto se la diagnosi è stata effettuata in età precoce. Alcune sindromi ereditarie, come la Sindrome di Lynch e la Poliposi Adenomatosa Familiare, sono associate ad un rischio particolarmente elevato di sviluppare la neoplasia⁵. Diversi fattori legati allo stile di vita contribuiscono all'insorgenza del tumore. Una dieta ricca di carni rosse e carni processate e povera di fibre, di frutta e di verdura è stata correlata a un aumento del rischio di carcinoma coloretale. Anche l'obesità, la sedentarietà e il sovrappeso rappresentano importanti fattori predisponenti, probabilmente attraverso meccanismi associati all'infiammazione cronica e all'alterazione del metabolismo glucidico e lipidico. L'abitudine al fumo di sigaretta è associata ad un incremento del rischio di formazione di adenomi e carcinoma coloretale, mentre il consumo eccessivo

di alcol, in particolare di bevande ad alta gradazione, è stato correlato a una maggiore incidenza della malattia. Tra le condizioni patologiche predisponenti assumono particolare rilevanza le malattie infiammatorie croniche intestinali, come la Colite ulcerosa e la Malattia di Crohn. In questi pazienti il rischio aumenta in relazione alla durata della malattia, all'estensione del coinvolgimento intestinale e alla persistenza dello stato infiammatorio. Un ruolo sempre più importante è attribuito alle alterazioni del microbiota intestinale. La disbiosi, caratterizzata da una modificazione della composizione e della funzione della flora batterica intestinale, può favorire processi infiammatori cronici, alterazioni metaboliche e fenomeni di cancerogenesi. Infine, la presenza di polipi adenomatosi rappresenta il principale precursore del carcinoma coloretale. La sequenza adenoma-carcinoma descrive infatti il processo attraverso il quale lesioni benigne possono accumulare progressivamente alterazioni genetiche e trasformarsi in neoplasie maligne nel corso degli anni⁶.

1.4 Dalla lesione precancerosa al carcinoma coloretale

Il carcinoma coloretale si sviluppa attraverso un processo multifasico caratterizzato dall'accumulo progressivo di alterazioni genetiche ed epigenetiche che determinano la trasformazione delle cellule epiteliali normali della mucosa intestinale in cellule neoplastiche. Dal punto di vista eziopatogenetico, i carcinomi coloretali possono essere distinti in forme sporadiche, che rappresentano circa il 70-80% dei casi, e forme ereditarie, associate a sindromi genetiche predisponenti che rappresentano il restante 30-40%. Nella maggior parte dei tumori sporadici, la carcinogenesi segue la cosiddetta sequenza adenoma-carcinoma, un processo biologico che può richiedere diversi anni e che costituisce il modello più studiato di progressione neoplastica del colon-retto. Le principali lesioni precancerose coinvolte sono i polipi adenomatosi, proliferazioni benigne della mucosa intestinale che possono acquisire progressivamente alterazioni molecolari responsabili della trasformazione maligna. Il rischio di evoluzione verso il carcinoma aumenta in relazione alle dimensioni del polipo, alla presenza di displasia avanzata e alla componente villosa della lesione⁷ (Figura 3).

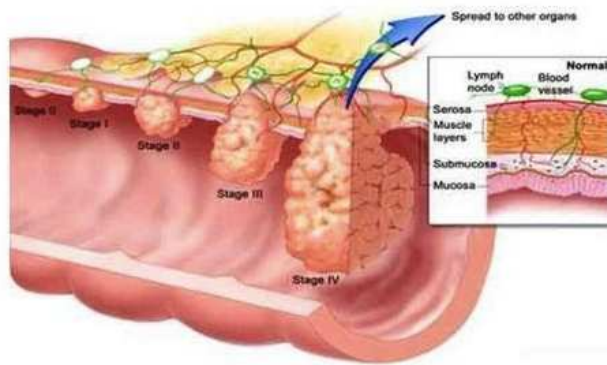


Figura 3. Evoluzione del polipo che infiltra¹⁰²

Le forme sporadiche possono svilupparsi attraverso differenti vie molecolari. La più frequente è rappresentata dalla via dell'instabilità cromosomica o *Chromosomal Instability* (CIN), responsabile di circa il 70-85% dei carcinomi coloretali sporadici. Tale meccanismo è caratterizzato da alterazioni numeriche e strutturali dei cromosomi, con perdita o acquisizione di materiale genetico. L'evento iniziale è generalmente costituito dalla mutazione del gene *Adenomatous Polyposis Coli* (APC), fondamentale nel controllo della via di segnalazione Wnt/ β -catenina. La perdita della funzione di *APC* favorisce la formazione dell'adenoma precoce; successivamente possono comparire mutazioni dell'oncogene *KRAS*, che promuovono la crescita cellulare, mentre nelle fasi più avanzate l'inattivazione di geni oncosoppressori quali *TP53* e *SMAD4* contribuisce all'acquisizione delle capacità invasive e metastatiche del carcinoma. Come mostrato in Figura 4 la progressione verso lo sviluppo tumorale può quindi essere schematizzata come una successione di eventi che conducono dalla mucosa normale all'adenoma precoce, quindi all'adenoma avanzato e infine al carcinoma invasivo⁸.

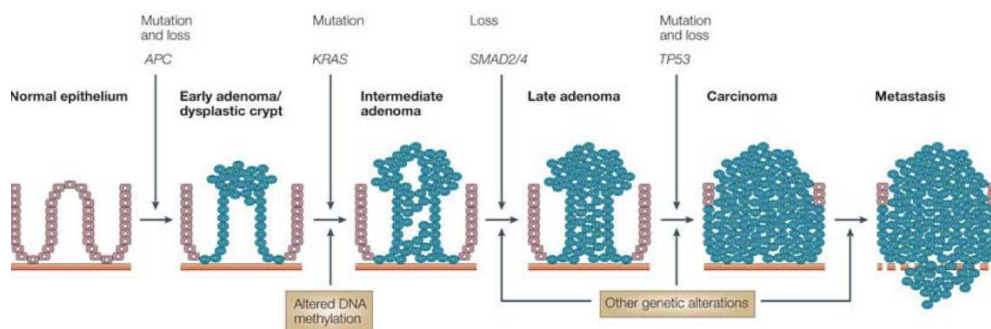


Figura 4. Instabilità cromosomica CIN¹⁰³.

Una seconda via patogenetica è rappresentata dall'instabilità dei microsatelliti o *Microsatellite Instability* (MSI), dovuta a difetti del sistema di riparazione degli errori di appaiamento del DNA chiamati Mismatch Repair (MMR). Questa condizione può essere osservata sia in una quota di tumori sporadici, legata spesso all'ipermetilazione del promotore del gene *MLH1*, sia nelle forme ereditarie associate alla Sindrome di Lynch (Figura 5).

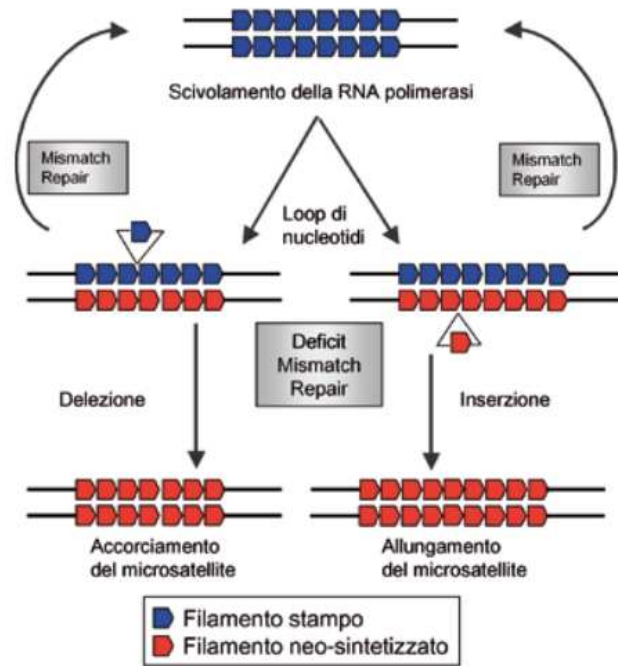


Figura 5. Meccanismo molecolare alla base dell'instabilità dei microsatelliti¹⁰⁴.

Negli ultimi anni è stata inoltre riconosciuta una terza via, definita via serrata, che origina da polipi serrati anziché da adenomi convenzionali. Come illustrato in Figura 6 essa è frequentemente associata a mutazioni del gene *BRAF* e ad alterazioni epigenetiche caratterizzate *CpG Island Methylator Phenotype* (CIMP). Tale percorso è particolarmente coinvolto nello sviluppo dei tumori del colon prossimale e contribuisce alla complessità biologica della carcinogenesi coloretale. Una quota minoritaria di carcinomi coloretali è invece correlata a predisposizione genetica ereditaria. La più frequente sindrome ereditaria è la Sindrome di Lynch, causata da mutazioni germinali nei geni del sistema MMR e caratterizzata da un elevato rischio di sviluppare carcinoma coloretale e altre neoplasie in età relativamente giovane. Un'altra importante condizione è la Poliposi Adenomatosa Familiare (FAP), dovuta a mutazioni germinali del gene *APC* e

caratterizzata dalla comparsa di centinaia o migliaia di adenomi del colon-retto. In assenza di trattamento chirurgico profilattico, i soggetti affetti sviluppano quasi inevitabilmente il carcinoma coloretale.

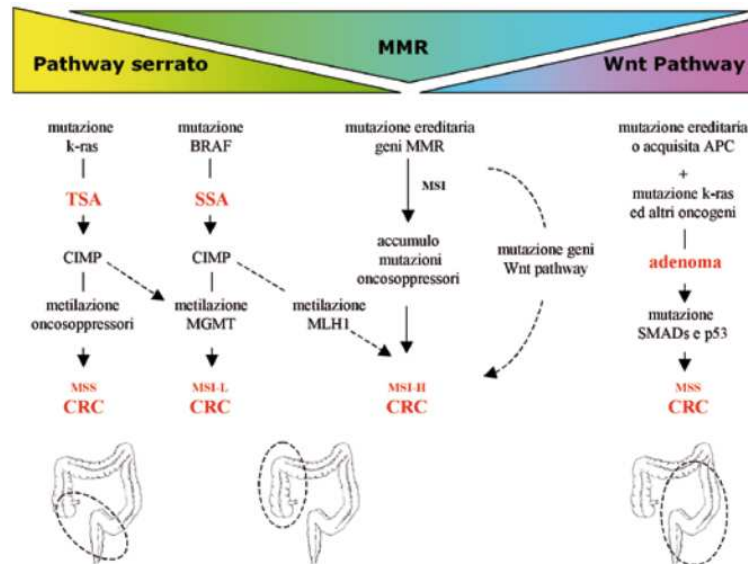


Figura 6. La mutazione del gene BRAS nello sviluppo dell'adenoma serrato tradizionale (TSA)¹⁰⁴.

La comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti nella progressione dalle lesioni precancerose al carcinoma invasivo ha permesso di sviluppare efficaci strategie di prevenzione e diagnosi precoce. In particolare, l'identificazione e la rimozione endoscopica dei polipi adenomatosi consentono di interrompere la sequenza adenoma-carcinoma, riducendo significativamente l'incidenza e la mortalità associate al carcinoma coloretale⁸

1.5 Stadiazione del carcinoma del colon retto secondo il sistema TNM

La stadiazione del carcinoma del colon-retto rappresenta uno degli aspetti fondamentali nella gestione clinica della malattia, poiché consente di valutare l'estensione anatomica del tumore, definire la prognosi del paziente e pianificare il trattamento più appropriato. Il sistema di stadiazione maggiormente utilizzato a livello internazionale è il sistema TNM, sviluppato dall'American Joint Committee on Cancer (AJCC) e dall'Union for International Cancer Control (UICC) (Tabella 1).

AJCC	TNM	Dukes	Astler-Coller
STADIO 0	Tis N0 M0		
STADIO I:	T1-2, N0, M0	A	A, B1
STADIO IIA	T3, N0, M0	B	B2
STADIO IIB:	T4, N0, M0	B	B3
STADIO IIIA:	T1-2, N1, M0	C	C1
STADIO IIIB:	T3-4, N1, M0	C	C2, C3
STADIO IIIC:	Qualsiasi T, N2, M0	C	C1, C2, C3
STADIO IV:	Qualsiasi T, qualsiasi N, M1		D

Tabella 1. Stadiazione TNM, del carcinoma del colon-retto, secondo Dukes o Astler-Coller.¹⁰⁵

L'acronimo TNM deriva dalle iniziali di tre parametri fondamentali:

- T -Tumor-: estensione del tumore primitivo;
- N -Nodes-: coinvolgimento dei linfonodi regionali;
- M -Metastasis-: presenza di metastasi a distanza.

La combinazione di questi parametri consente di classificare il carcinoma coloretale in differenti stadi clinici, ciascuno associato a specifiche implicazioni prognostiche e terapeutiche⁹. La categoria T descrive il grado di invasione del tumore nella parete intestinale e nei tessuti circostanti.

- Tis -Tumor in situ-: il tumore è confinato alla mucosa e non supera la membrana basale.
- T1: infiltrazione della sottomucosa.
- T2: invasione della tonaca muscolare propria.
- T3: estensione oltre la muscolare propria fino al tessuto adiposo pericolico o perirettale.
- T4a: invasione del peritoneo viscerale. T4b: infiltrazione diretta di organi o strutture adiacenti.

La profondità di invasione della parete intestinale rappresenta uno dei principali fattori prognostici, essendo correlata a un aumentato rischio di diffusione linfonodale e metastatica¹⁰. La categoria N valuta la presenza di metastasi nei linfonodi regionali.

- N0: assenza di metastasi linfonodali.
- N1a: metastasi in un singolo linfonodo regionale.
- N1b: metastasi in due o tre linfonodi regionali.
- N1c: assenza di metastasi linfonodali ma presenza di depositi tumorali nel tessuto pericolico o perirettale.
- N2a: metastasi in quattro-sei linfonodi regionali.

- N2b: metastasi in sette o più linfonodi regionali. Il numero di linfonodi coinvolti è direttamente correlato alla prognosi e rappresenta un elemento fondamentale nella scelta della terapia adiuvante.

La categoria M indica la presenza di diffusione tumorale in organi distanti rispetto alla sede primaria.

- M0: assenza di metastasi a distanza.
- M1a: metastasi limitate a un singolo organo o sede.
- M1b: metastasi in più organi o sedi.
- M1c: diffusione peritoneale con o senza ulteriori metastasi.

Le sedi metastatiche più frequentemente interessate nel carcinoma coloretale sono il fegato, il polmone, il peritoneo e, più raramente, le ossa e il sistema nervoso centrale. Infine, la combinazione delle categorie T, N e M permette di definire lo stadio complessivo della malattia. Stadio 0: Corrisponde al carcinoma in situ (Tis N0 M0). La lesione è limitata alla mucosa intestinale e non presenta capacità invasiva. La prognosi è eccellente e il trattamento consiste generalmente nella completa rimozione della lesione.

- Stadio I: Comprende tumori T1 o T2 senza coinvolgimento linfonodale né metastatico (N0, M0). La neoplasia è confinata alla parete intestinale e il trattamento chirurgico è spesso curativo.
- Stadio II: Include tumori che hanno oltrepassato la muscolare propria (T3-T4) ma senza interessamento dei linfonodi regionali (N0). Questo stadio viene ulteriormente suddiviso in IIA, IIB e IIC in base alla profondità di invasione. In alcuni casi selezionati può essere indicata una chemioterapia adiuvante dopo l'intervento chirurgico¹¹.
- Stadio III: È caratterizzato dalla presenza di metastasi linfonodali regionali indipendentemente dall'estensione del tumore primitivo. Lo stadio III viene classificato in IIIA, IIIB e IIC sulla base del numero di linfonodi coinvolti e della categoria T. In questi pazienti il trattamento standard prevede chirurgia seguita da chemioterapia adiuvante.
- Stadio IV: Lo stadio IV identifica la malattia metastatica. In questa fase il tumore si è diffuso a distanza e richiede generalmente un approccio multidisciplinare che può includere chirurgia, chemioterapia, terapie biologiche e immunoterapia. La prognosi dipende dalla sede e dall'estensione delle metastasi, nonché dalle caratteristiche molecolari del tumore¹².

1.6 Sintomatologia del carcinoma al colon retto in base alla localizzazione anatomica

La differente ampiezza del lume intestinale e la diversa consistenza del contenuto fecale lungo il tragitto del colon determinano una netta differenza nella presentazione clinica tra il settore destro e quello sinistro. A livello del colon destro, il lume intestinale presenta un diametro maggiore e le pareti sono più distensibili; inoltre, il contenuto fecale è ancora prevalentemente liquido. Di conseguenza, le masse tumorali possono raggiungere dimensioni considerevoli prima di determinare una sintomatologia ostruttiva. L'anemia sideropenica cronica è spesso il segno d'esordio principale, la quale deriva da un micro-sanguinamento occulto e continuo della superficie tumorale ulcerata. Per quanto riguarda i sintomi sistemici, il paziente riferisce frequentemente astenia marcata, pallore cutaneo-mucoso, dispnea da sforzo e un calo ponderale inspiegabile. Il dolore addominale si presenta solitamente come un fastidio sordo, localizzato ai quadranti destri o in sede periumbelicale, talvolta confuso con una sintomatologia appendicolare o colecistica. Nel colon sinistro il lume si restringe progressivamente e le feci, a causa dei processi di riassorbimento idrico, assumono una consistenza solida. Le neoplasie in questa sede hanno spesso una morfologia infiltrante, che tende a restringere il lume. L'alterazione dell'alvo chiamata Sindrome evacuativa è il sintomo cardine, caratterizzato dall'insorgenza recente e ingravescente di stipsi, oppure dall'alternanza di stipsi e diarrea; le feci possono apparire nastriformi a causa del passaggio attraverso il tratto stenotico e si presenta spesso dolore addominale di tipo colico, conseguente all'iperperistaltismo riflesso dell'intestino che tenta di superare l'ostacolo meccanico. Spesso si associa a meteorismo e distensione addominale¹³. La localizzazione rettale condivide alcune caratteristiche con il colon sinistro, ma presenta peculiarità legate alla funzione di serbatoio dell'organo e alla vicinanza con l'apparato sfinteriale. Le manifestazioni principali sono emissione di sangue rosso vivo dal retto, che può essere frammisto alle feci o verniciarle in superficie. Questo è il sintomo più frequente che spinge il paziente a consultare il medico, sebbene venga spesso erroneamente attribuito a patologia emorroidaria cronica. Sensazione costante e dolorosa di urgente bisogno di evacuare, non seguita da una reale espulsione di feci o seguita solo dall'emissione di muco e sangue e senso di evacuazione incompleta, dovuto alla percezione della massa tumorale come corpo estraneo da parte dei barocettori rettali¹⁴.

CAPITOLO 2. BIOCHIMICA E MARCATORI MOLECOLARI NEL TUMORE COLON-RETTALE

2.1 Definizione e caratteristiche dei biomarcatori

Negli ultimi anni, lo sviluppo della biologia molecolare e delle tecniche diagnostiche avanzate, ha profondamente modificato l'approccio al carcinoma del colon-retto. L'identificazione di specifici biomarcatori ha consentito una migliore comprensione dei meccanismi biologici della malattia e ha favorito l'introduzione di strategie diagnostiche e terapeutiche sempre più personalizzate¹⁵. Per biomarcatore si intende *“una caratteristica biologica misurabile in grado di fornire informazioni riguardo a un processo fisiologico, patologico oppure alla risposta dell'organismo a un determinato trattamento”*. In ambito oncologico, i biomarcatori rappresentano strumenti fondamentali per la diagnosi precoce, la valutazione prognostica, la scelta terapeutica e il monitoraggio della risposta ai trattamenti¹⁵. L'importanza dei biomarcatori nel carcinoma coloretale è aumentata parallelamente allo sviluppo della medicina di precisione. In questo contesto, le decisioni terapeutiche non vengono più basate esclusivamente sulle caratteristiche anatomopatologiche del tumore, ma integrano informazioni molecolari in grado di identificare sottogruppi di pazienti con differenti comportamenti biologici e diversa probabilità di risposta ai trattamenti. I biomarcatori consentono pertanto di orientare la scelta terapeutica verso strategie sempre più personalizzate, contribuendo a migliorare l'efficacia clinica e a ridurre l'esposizione a trattamenti potenzialmente inefficaci¹⁵. Un biomarcatore ideale dovrebbe possedere elevata sensibilità, consentendo l'identificazione della malattia anche nelle fasi iniziali, ed elevata specificità, in modo da ridurre il rischio di risultati falsamente positivi. Inoltre, dovrebbe essere facilmente misurabile, riproducibile e poco invasivo. I biomarcatori del carcinoma coloretale possono essere classificati secondo differenti criteri¹⁶. Dal punto di vista biologico, essi vengono generalmente suddivisi in:

- **marcatori sierici**, rilevabili nel sangue;
- **marcatori fecali**, identificabili nelle feci;
- **marcatori tissutali**, analizzati direttamente sul campione tumorale;
- **marcatori genetici e molecolari**, rappresentati da alterazioni genomiche, trascrittomiche o epigenetiche.

Dal punto di vista clinico-funzionale, invece, i biomarcatori possono essere distinti in:

- **biomarcatori diagnostici**, utilizzati per identificare la presenza della malattia;
- **biomarcatori prognostici**, che forniscono informazioni sull'evoluzione della patologia indipendentemente dal trattamento;
- **biomarcatori predittivi**, in grado di prevedere la risposta a una determinata terapia;
- **biomarcatori di monitoraggio**, utilizzati per valutare l'efficacia dei trattamenti e l'eventuale comparsa di recidive. Nel carcinoma coloretale molti biomarcatori possono appartenere contemporaneamente a più categorie funzionali¹⁷.

Nel presente capitolo i biomarcatori verranno descritti principalmente secondo la classificazione basata sull'origine biologica ossia sierici, fecali, tissutali e genetico-molecolari, evidenziandone contestualmente il ruolo diagnostico, prognostico e predittivo.

2.2 Marcatori sierici e fecali

I marcatori sierici sono molecole dosabili nel sangue periferico la cui concentrazione può risultare alterata in presenza di patologia neoplastica (Tabella 2). Sebbene nessuno di essi presenti caratteristiche sufficienti per essere impiegato come strumento diagnostico esclusivo o come test di screening nella popolazione generale, alcuni biomarcatori hanno dimostrato una significativa utilità nel miglioramento dei pazienti affetti da carcinoma coloretale, nella valutazione della risposta ai trattamenti e nella stima della prognosi. Parallelamente, i marcatori fecali hanno rivoluzionato le strategie di screening, permettendo l'identificazione di soggetti a rischio attraverso procedure non invasive caratterizzate da elevata accettabilità da parte della popolazione.

Marker	Utilizzo proposto	Fase di sviluppo	Livello di evidenza	Rif.
Marker sierici				
CEA	Prognosi	I livelli pre-operatori possono offrire informazioni prognostiche, ma viene usato di rado per scopi clinici	III	11-13
	Follow-up post-chirurgico	In uso nella pratica clinica in associazione con le indagini radiologiche e la valutazione clinica	I	16-20
	Monitoraggio della terapia nelle neoplasie in stadio avanzato	In uso nella pratica clinica in associazione con le indagini radiologiche e la valutazione clinica	III	11-13
CA19-9	Prognosi, follow-up post-chirurgico e monitoraggio delle neoplasie in stadio avanzato	In corso di valutazione	III-IV	30,31
TIMP-1	Screening della popolazione ad alto rischio, prognosi	In corso di valutazione	III	32,34,35
Marker fecali				
Sangue occulto	Screening della popolazione asintomatica	Dimostrazione in ampi trials randomizzati che il suo impiego riduce la mortalità per CRC.	I	46-50
Ricerca di mutazioni genetiche del DNA fecale (<i>k-ras</i> , <i>p53</i> , etc.)	Screening della popolazione asintomatica	Maggiore sensibilità del sangue occulto	III	54,55

Tabella 2. Marcatori di carcinoma del colon-retto. Livelli di evidenza secondo Hayes et al. Evidenza decrescente dal livello I al livello¹⁰⁶.

Tra i marcatori sierici maggiormente studiati, l'antigene carcinoembrionario (*CEA*) rappresenta senza dubbio il biomarcatore più utilizzato nella pratica clinica. È una glicoproteina appartenente alla famiglia delle immunoglobuline, coinvolta nei processi di adesione cellulare. Durante lo sviluppo embrionale viene espressa a livello del tratto gastrointestinale, mentre nell'adulto sano la sua produzione risulta notevolmente ridotta. Tuttavia, diversi tumori epiteliali, tra cui il carcinoma coloretale, determinano una ri-espressione di tale antigene, con conseguente incremento dei livelli sierici¹⁸. Le concentrazioni normali di *CEA* risultano generalmente inferiori a 5 ng/mL nei soggetti fumatori e inferiori a 3 ng/mL nei non fumatori. Valori elevati possono essere osservati in circa il 40–80% dei pazienti con carcinoma coloretale, con una sensibilità che aumenta proporzionalmente allo stadio della malattia. Nelle fasi iniziali del tumore, infatti, la sensibilità del test risulta limitata, mentre nelle forme metastatiche può superare il 70–80%¹⁸. L'impiego clinico del *CEA* trova la sua principale indicazione nel monitoraggio post-operatorio. Dopo resezione radicale del tumore, i livelli sierici tendono a normalizzarsi entro quattro-sei settimane; una successiva risalita dei valori può rappresentare un segnale precoce di recidiva locale o di metastasi, spesso anticipando di diversi mesi l'evidenza radiologica. Numerosi studi hanno dimostrato che elevati livelli preoperatori di *CEA* si associano a una prognosi peggiore, a un aumentato rischio di disseminazione metastatica e a una ridotta sopravvivenza globale¹⁹. Oltre al monitoraggio della recidiva, il *CEA* viene frequentemente utilizzato per valutare l'andamento della malattia durante i trattamenti sistemici. Variazioni seriali dei livelli sierici possono infatti riflettere la risposta terapeutica o la progressione della neoplasia, fornendo informazioni complementari rispetto alle metodiche radiologiche. Tuttavia, le modificazioni del marcatore devono essere interpretate con cautela e sempre integrate con il quadro clinico e strumentale del paziente¹⁹. Nonostante la sua utilità, il *CEA* presenta importanti limitazioni. Infatti, la specificità non è assoluta, poiché incrementi dei livelli sierici possono essere osservati in fumatori cronici e in numerose condizioni benigne, quali epatopatie, pancreatiti, malattie infiammatorie intestinali, broncopneumopatie croniche e insufficienza renale. Pertanto, l'interpretazione dei risultati deve sempre avvenire nel contesto clinico complessivo del paziente¹⁹. Un altro biomarcatore sierico oggetto di interesse è il *CA 19-9*, un antigene carboidratico derivante dall'antigene di Lewis. Sebbene il suo utilizzo sia consolidato soprattutto nel carcinoma pancreatico, diversi studi hanno evidenziato un aumento dei suoi livelli anche nel carcinoma coloretale avanzato. La

sensibilità del *CA 19-9* nel CRC risulta tuttavia inferiore rispetto a quella del *CEA*, soprattutto negli stadi precoci, limitandone l'impiego diagnostico²⁰. L'associazione tra *CEA* e *CA 19-9* può incrementare moderatamente la capacità prognostica nei pazienti con malattia avanzata. Elevati livelli di entrambi i marcatori sembrano correlare con una maggiore aggressività biologica del tumore, con la presenza di metastasi epatiche e con una minore probabilità di risposta ai trattamenti sistemici²⁰. Tra gli altri marcatori sierici proposti figurano il Tissue Polypeptide Specific Antigen (*TPS*), il Tissue Polypeptide Antigen (*TPA*), il *CA 72-4* e la Tissue Inhibitor of Metalloproteinases-1 (*TIMP-1*). Questi biomarcatori riflettono differenti aspetti della biologia tumorale, quali la proliferazione cellulare, la degradazione della matrice extracellulare e i meccanismi di invasione metastatica. Sebbene alcuni studi abbiano evidenziato una potenziale associazione con la prognosi e con la risposta terapeutica, la mancanza di adeguata standardizzazione e l'insufficiente accuratezza diagnostica ne hanno limitato l'introduzione nella pratica clinica quotidiana²⁰. Negli ultimi anni particolare interesse è stato rivolto alla *TIMP-1*, una glicoproteina coinvolta nella regolazione delle metalloproteinasi della matrice extracellulare. Livelli sierici elevati di *TIMP-1* sono stati associati a stadi avanzati di malattia e a una ridotta sopravvivenza, suggerendo un possibile ruolo prognostico indipendente. Tuttavia, ulteriori studi prospettici risultano necessari per confermare tali evidenze²⁰. Accanto ai marcatori sierici, i marcatori fecali rappresentano oggi uno dei pilastri fondamentali delle strategie di screening del carcinoma coloretale. Il razionale biologico alla base del loro utilizzo deriva dal fatto che le lesioni neoplastiche e le lesioni adenomatose avanzate possono sanguinare o rilasciare materiale cellulare nel lume intestinale, rendendo possibile la loro identificazione attraverso l'analisi delle feci. Il test al sangue occulto fecale basato sul guaiaco (gFOBT) ha rappresentato per molti anni il metodo di screening maggiormente utilizzato. Tale metodica sfrutta l'attività pseudoperossidasi dell'eme per evidenziare la presenza di sangue occulto. Nonostante il contributo storico alla riduzione della mortalità da carcinoma coloretale, il gFOBT presenta diversi limiti, tra cui una sensibilità relativamente modesta e la possibilità di risultati falsamente positivi correlati all'assunzione di alcuni alimenti o farmaci²¹. L'introduzione del test immunochimico fecale (*FIT*) ha determinato un significativo progresso nell'ambito dello screening. Il *FIT* utilizza anticorpi specifici diretti contro la globina umana, consentendo di rilevare selettivamente il sanguinamento proveniente dal tratto intestinale inferiore. A differenza del gFOBT, non richiede restrizioni dietetiche e

presenta una migliore accettabilità da parte dei pazienti²². Numerosi studi hanno dimostrato che il *FIT* possiede una sensibilità superiore rispetto al gFOBT nell'identificazione sia dei carcinomi invasivi sia degli adenomi avanzati. La sensibilità per il carcinoma coloretale può superare il 75–80%, con specificità generalmente superiore al 90%, variabile in funzione del valore soglia adottato. La possibilità di modulare il cut-off, ossia il valore soglia, consente inoltre di adattare il programma di screening alle risorse disponibili e alle caratteristiche epidemiologiche della popolazione²². L'ampia diffusione del *FIT* nei programmi organizzati di screening ha contribuito in maniera significativa alla diagnosi precoce del carcinoma coloretale e alla riduzione della mortalità correlata alla malattia. I soggetti con risultato positivo vengono generalmente indirizzati all'esecuzione di colonscopia, considerata il gold standard diagnostico, ovvero il metodo più affidabile²². L'efficacia dei programmi di screening basati sul FIT dipende in larga misura dall'adesione della popolazione. La semplicità di esecuzione domiciliare, l'assenza di preparazione intestinale e la natura non invasiva del test hanno contribuito ad aumentare significativamente la partecipazione rispetto ad altre strategie di screening. Tale aspetto riveste particolare importanza poiché il beneficio di un programma di prevenzione non dipende esclusivamente dalle prestazioni diagnostiche del test, ma anche dalla sua accettazione da parte della popolazione target²¹. Tra i biomarcatori fecali emergenti, particolare interesse ha suscitato il test del DNA fecale. Tale metodica si basa sull'identificazione di alterazioni genetiche rilasciate nelle feci dalle cellule tumorali esfoliate. Le anomalie ricercate comprendono mutazioni di geni coinvolti nella carcinogenesi coloretale, alterazioni epigenetiche e marcatori di instabilità genomica²³. I test multitarget di DNA fecale combinano la ricerca di mutazioni specifiche, la valutazione di geni metilati e il dosaggio dell'emoglobina fecale mediante *FIT*. Questa strategia integrata ha mostrato una sensibilità elevata per il rilevamento dei carcinomi invasivi e una discreta capacità di identificare adenomi avanzati, sebbene a fronte di una specificità inferiore rispetto al *FIT* tradizionale e di costi maggiori come mostrato in Figura 7. Il test Multitarget DNA si propone di ricercare più biomarcatori come alterazioni del DNA o sangue occulto; è progettato per essere estremamente sensibile e per segnalare anche lesioni piccolissime. Tuttavia, essendo più "aggressivo" nel rilevare anomalie, ha un rischio maggiore di generare falsi positivi, ossia risultati positivi in persone che in realtà non hanno un cancro, ma magari solo un'inflammatione o una poliposi benigna. Il FIT è un test immunochimico più "selettivo" si limita dunque a cercare sangue, ed è

solitamente più specifico, ma rischia di non evidenziare alcuni tumori o polipi che non sanguinano, ha una sensibilità inferiore, indi per cui il Multitarget DNA è preferito in quanto, in medicina preventiva, la sensibilità è spesso considerata più importante della specificità²⁴.

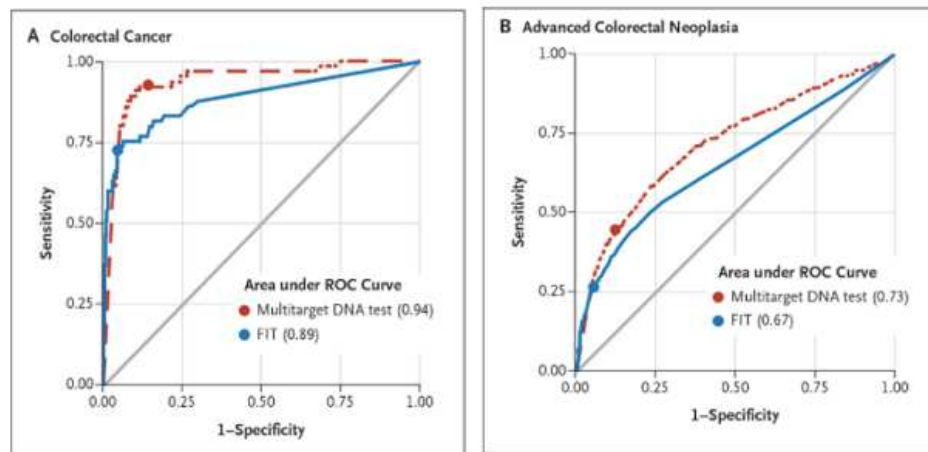


Figura 7. Curve ROC (Receiver Operating Characteristic) a confronto tra test del DNA e FIT per il rilevamento di neoplasie coloretali e neoplasie coloretali avanzate¹⁰⁷

Un ulteriore biomarcatore fecale studiato nel carcinoma coloretale è rappresentato dalla proteina piruvato chinasi tumorale di tipo M2 (*M2-PK*). Tale enzima glicolitico è espresso preferenzialmente dalle cellule neoplastiche caratterizzate da elevata attività proliferativa. Diversi studi hanno riportato una maggiore concentrazione fecale di *M2-PK* nei pazienti affetti da carcinoma coloretale e adenomi avanzati. Tuttavia, l'eterogeneità dei risultati e la limitata specificità ne hanno impedito l'adozione routinaria²⁵. Anche la calprotectina fecale, proteina derivata prevalentemente dai neutrofili, è stata valutata come potenziale marcatore nel carcinoma coloretale. Sebbene i suoi livelli possano risultare aumentati in presenza di neoplasia, il principale limite consiste nella scarsa specificità, poiché concentrazioni elevate si osservano frequentemente nelle patologie infiammatorie intestinali e in altre condizioni caratterizzate da infiammazione della mucosa gastrointestinale²⁶. L'evoluzione delle conoscenze nel campo dei biomarcatori fecali e sierici evidenzia il progressivo passaggio da strumenti prevalentemente orientati al monitoraggio clinico verso approcci integrati finalizzati alla diagnosi precoce e alla personalizzazione del percorso assistenziale. Attualmente il *CEA* continua a rappresentare il principale marcatore sierico raccomandato nel follow-up dei pazienti con carcinoma coloretale, mentre il *FIT* costituisce il cardine dei programmi di screening nella

popolazione generale. L'integrazione di metodiche tradizionali con biomarcatori innovativi potrebbe, in futuro, migliorare ulteriormente la capacità di identificare precocemente i soggetti a rischio, ridurre il ricorso a procedure invasive non necessarie e ottimizzare la gestione terapeutica dei pazienti. Tuttavia, affinché nuovi marcatori possano essere introdotti nella pratica clinica, sarà necessario disporre di solide evidenze derivanti da studi prospettici di ampie dimensioni, nonché di procedure analitiche standardizzate in grado di garantirne riproducibilità, accuratezza e sostenibilità economica.

2.3 Marcatori tissutali, genetici e molecolari

L'analisi molecolare del tessuto tumorale ha assunto un ruolo centrale nella gestione del carcinoma coloretale. Attraverso lo studio delle alterazioni genetiche presenti nelle cellule neoplastiche è possibile comprendere il comportamento biologico del tumore e selezionare le terapie più appropriate. L'introduzione della medicina di precisione ha profondamente modificato l'approccio diagnostico e terapeutico al carcinoma del colon-retto (CRC). Se in passato la classificazione della neoplasia si basava prevalentemente su criteri istopatologici tradizionali, oggi la caratterizzazione molecolare del tumore rappresenta un passaggio fondamentale nella definizione della prognosi e nella scelta delle strategie terapeutiche più appropriate. In questo contesto, i marcatori tissutali e genetici hanno assunto un ruolo centrale, consentendo una più accurata stratificazione dei pazienti e l'identificazione di specifici bersagli terapeutici (Tabella 3)²⁷.

<i>Marker genetici</i>				
APC	Identificazione di soggetti ad alto rischio di FAP	Utilizzo clinico in centri di alta specializzazione	Esperti del settore	63,64
MSI	Pre-screening per HNPCC	Utilizzo clinico in centri di alta specializzazione	Esperti del settore	63,64
MLH1/MSH2/MSH6/PMS2	Identificazione di soggetti ad alto rischio di HNPCC	Utilizzo clinico in centri di alta specializzazione	Esperti del settore	63,64
<i>Marker tissutali</i>				
TS	Prognosi	In valutazione. Una meta-analisi suggerisce che elevati livelli sono un indice prognostico negativo. Metodo non standardizzato.	I	36
	Predittivo della risposta alla chemioterapia con 5-FU nei tumori in stadio avanzato	In valutazione. Elevati livelli si associano ad una mancata risposta alla terapia con 5-FU.	III	36
MSI	Prognosi	In valutazione. Tumori con MSI si associano nel 15% dei casi ad una migliore prognosi rispetto ai tumori senza MSI	I	37-39
	Predittivo della risposta alla chemioterapia	Risultati non univoci. In valutazione	III	68
DCC	Prognosi	In valutazione. Il valore prognostico è stato confermato in una meta-analisi. Mancata standardizzazione metodologica.	I	40,41
<i>k-ras</i> e <i>p53</i> mutati	Prognosi	Deboli indicatori prognostici. Poco proponibile il loro impiego per scopi clinici.	I	44,45

Tabella 3. Marcatori di carcinoma del colon-retto. Livelli di evidenza secondo Hayes et al. Evidenza decrescente dal livello I al livello V¹⁰⁶.

I marcatori tissutali comprendono tutte quelle alterazioni identificabili direttamente sul campione tumorale mediante tecniche istologiche, immunoistochimiche o di ibridazione

in situ. Essi forniscono informazioni relative alle caratteristiche biologiche della neoplasia, alla sua aggressività e alla possibile risposta ai trattamenti farmacologici. Tra i principali marcatori tissutali utilizzati nella pratica clinica figurano le proteine del sistema di mismatch repair (MMR), il cui studio riveste un'importanza fondamentale sia dal punto di vista prognostico sia ai fini dell'identificazione di pazienti affetti da sindrome di Lynch. Il sistema MMR è deputato alla correzione degli errori di appaiamento che si verificano durante la replicazione del DNA. Le principali proteine coinvolte comprendono MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2²⁷. L'analisi immunoistochimica di tali proteine viene eseguita quotidianamente sui campioni di carcinoma coloretale resecati o biopsici. La presenza di una normale colorazione nucleare indica la conservazione della funzione del sistema MMR, mentre la perdita dell'espressione di una o più proteine suggerisce un deficit del meccanismo di riparazione (dMMR). Tale alterazione determina l'accumulo progressivo di errori replicativi, in particolare nelle regioni microsatellitari del genoma, dando origine al fenomeno dell'instabilità dei microsatelliti²⁸. L'instabilità dei microsatelliti (MSI) rappresenta una delle principali vie molecolari della carcinogenesi coloretale. Circa il 15% dei carcinomi colorettali presenta un fenotipo MSI elevato (MSI-H), derivante dalla perdita della funzione del sistema MMR. Nella maggior parte dei casi sporadici, tale condizione è conseguenza dell'ipermetilazione del promotore di MLH1, mentre una quota minore è attribuibile a mutazioni germinali responsabili della sindrome di Lynch. L'identificazione dell'instabilità dei microsatelliti ha inoltre contribuito a una migliore comprensione dell'eterogeneità biologica del carcinoma coloretale. I tumori MSI-H presentano infatti un profilo molecolare distinto rispetto alle forme microsatellite stable, caratterizzato da un elevato carico mutazionale e da una maggiore immunogenicità. Tali differenze biologiche spiegano, almeno in parte, il diverso comportamento clinico e la peculiare risposta terapeutica osservata in questi pazienti²⁷. Dal punto di vista clinico, i tumori MSI-H presentano caratteristiche peculiari. Essi sono più frequentemente localizzati nel colon destro, mostrano spesso una componente mucinosa o scarsamente differenziata e risultano associati a un marcato infiltrato linfocitario intratumorale. Nonostante alcuni aspetti istologici apparentemente sfavorevoli, i pazienti con tumori MSI-H in stadio iniziale presentano generalmente una prognosi migliore rispetto ai soggetti con tumori microsatellite stable (MSS)²⁸. L'identificazione dello stato MSI ha inoltre acquisito notevole rilevanza terapeutica. I tumori caratterizzati da deficit del sistema MMR mostrano infatti una maggiore

sensibilità ai farmaci immunoterapici inibitori dei checkpoint immunitari, probabilmente in relazione all'elevato carico mutazionale e alla conseguente produzione di neoantigeni immunogenici. Pertanto, la determinazione dello stato MMR/MSI è attualmente raccomandata in tutti i pazienti con nuova diagnosi di carcinoma coloretale²⁸. Oltre ai marcatori correlati al sistema MMR, l'immunoistochimica può essere utilizzata per valutare l'espressione di ulteriori proteine coinvolte nella progressione tumorale. Tra queste, p53 rappresenta uno dei biomarcatori maggiormente studiati. La proteina p53, codificata dal gene *TP53*, svolge un ruolo cruciale nel controllo del ciclo cellulare, nell'induzione dell'apoptosi e nel mantenimento dell'integrità genomica. Alterazioni della sua espressione sono riscontrabili in una quota significativa di carcinomi colorettali e riflettono spesso la presenza di mutazioni inattivanti del gene corrispondente²⁹. L'accumulo nucleare di p53 rilevato mediante immunoistochimica è stato associato, in alcuni studi, a una prognosi sfavorevole e a una maggiore aggressività biologica. Tuttavia, l'eterogeneità metodologica e la variabilità interpretativa hanno limitato l'utilizzo routinario di tale marcatore a fini prognostici²⁹. Per superare i limiti predittivi dei singoli biomarcatori, la ricerca clinica si è focalizzata sulla valutazione combinata di pannelli proteici multiparametrici. In questo scenario, assume un particolare rilievo nm23, noto anche come NME, una proteina ampiamente descritta come soppressore del potenziale metastatico. Mentre l'espressione fisiologica di nm23 è associata al contenimento della motilità cellulare e della progressione neoplastica, la sua downregolazione o perdita rappresenta un marker di transizione invasiva e di propensione alla disseminazione a distanza nel carcinoma coloretale (CRC)³⁰. La rilevanza clinica della co-espressione immunoistochimica di p53 e nm23 trova riscontro nella stratificazione prognostica dei pazienti affetti da CRC in stadio II e III. Come illustrato nelle curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier in Figura 8, l'analisi integrata dei due marcatori correla significativamente sia con la sopravvivenza globale (Overall Survival, Grafico C) sia con la sopravvivenza libera da malattia (Disease-free Survival, Grafico D). In particolare, il fenotipo caratterizzato dal mantenimento di nm23 e dall'assenza di alterazioni di p53 [nm23(+)/p53(-)] delinea la classe di pazienti a prognosi nettamente favorevole, identificata dalla curva superiore (linea arancione). Al contrario, la concomitante perdita dell'oncosoppressore nm23 associata all'accumulo aberrante di p53 [nm23(-)/p53(+)] definisce la sottopopolazione a più alto rischio clinico, evidenziando un drastico e precoce decremento degli indici di sopravvivenza (linea blu; $P = 0.000$). Tali evidenze

suggeriscono che l'interazione biologica tra l'instabilità genomica, guidata da p53 e l'acquisizione del fenotipo migrante, guidata dalla perdita di nm23, possa fornire un indicatore prognostico sinergico e più robusto rispetto all'analisi dei singoli fattori isolati³¹.

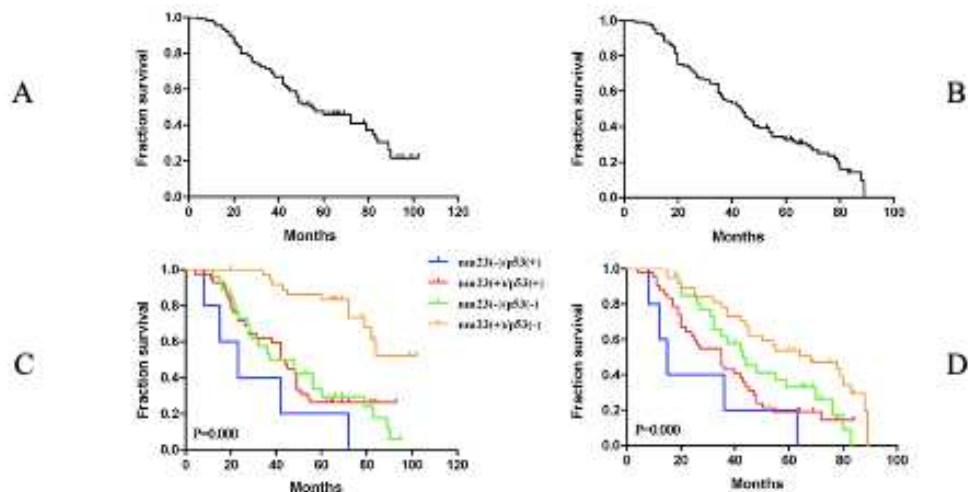


Figura 8. Curve di sopravvivenza di Kaplan-Meier per pazienti con CRC di stadio II e III. (A) Curva di sopravvivenza globale dei pazienti con CRC di stadio II e III. (B) Curva di sopravvivenza libera da malattia dei pazienti con CRC di stadio II e III. (C) Curva di sopravvivenza globale dei pazienti.¹⁰⁸.

Un altro parametro di interesse è rappresentato dall'indice proliferativo valutato mediante Ki-67, una proteina nucleare espressa nelle cellule in attiva proliferazione. Sebbene elevati valori di Ki-67 siano stati correlati a una maggiore attività proliferativa del tumore, il suo significato prognostico nel carcinoma coloretale rimane controverso e non ne giustifica l'impiego sistematico nella pratica clinica³². L'avvento delle tecniche di biologia molecolare ha consentito di identificare numerose alterazioni genetiche coinvolte nella patogenesi del carcinoma coloretale. La progressione dalla mucosa normale all'adenoma e successivamente al carcinoma invasivo è il risultato di un processo multistep caratterizzato dall'accumulo progressivo di mutazioni genetiche e alterazioni epigenetiche. Il gene *Adenomatous Polyposis Col* o *APC* rappresenta il principale evento molecolare precoce nella sequenza adenoma-carcinoma. *APC* è un gene oncosoppressore coinvolto nella regolazione della via di segnalazione Wnt/ β -catenina. La perdita della sua funzione determina l'accumulo intracellulare di β -catenina e l'attivazione di geni responsabili della proliferazione cellulare incontrollata. Mutazioni somatiche di *APC* sono presenti in circa il 70–80% dei carcinomi coloretali sporadici. Mutazioni germinali

di *APC* sono invece responsabili della poliposi adenomatosa familiare (FAP), una sindrome ereditaria autosomica dominante caratterizzata dalla comparsa di centinaia o migliaia di polipi adenomatosi del colon e da un rischio prossimo al 100% di sviluppare carcinoma coloretale in assenza di trattamento profilattico³³. Un ruolo fondamentale nella progressione neoplastica è svolto anche dal proto-oncogene *KRAS*, appartenente alla famiglia dei geni *RAS*. La proteina *KRAS* partecipa alla trasduzione del segnale a valle del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR), regolando processi quali proliferazione, differenziamento e sopravvivenza cellulare, come indicato in Figura 19³⁴.

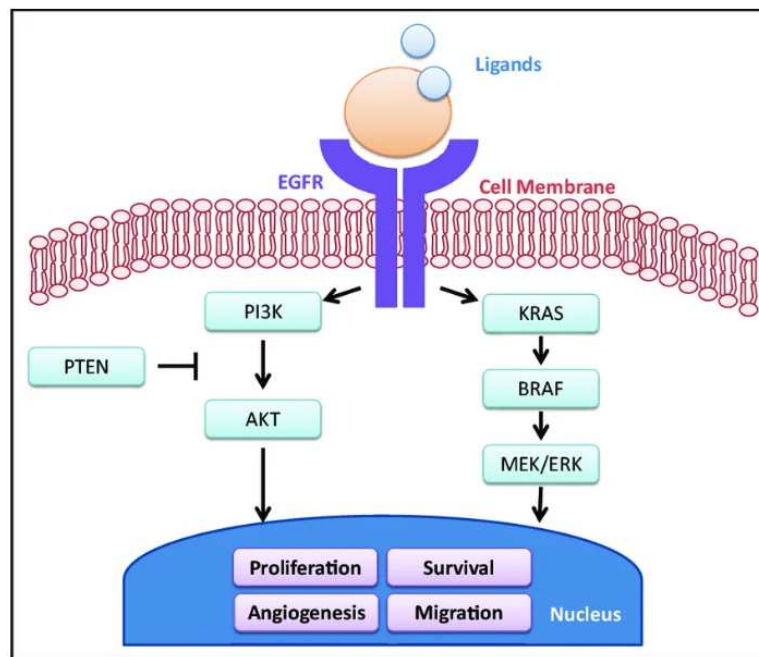


Figura 9. Panoramica della via di segnalazione dell'EGFR e delle vie di segnalazione a valle, inclusa quella di *KRAS*¹⁰⁹.

Mutazioni attivanti di *KRAS* sono riscontrabili in circa il 35–45% dei carcinomi coloretali e determinano una costitutiva attivazione delle vie di segnalazione intracellulari indipendentemente dalla stimolazione recettoriale. Dal punto di vista clinico, la determinazione dello stato mutazionale di *KRAS* riveste un'importanza predittiva fondamentale, poiché i pazienti portatori di tali mutazioni non traggono beneficio dal trattamento con anticorpi monoclonali anti-EGFR, quali cetuximab e panitumumab. Successivamente è emersa l'importanza dell'analisi del gene *NRAS*, anch'esso appartenente alla famiglia *RAS*. Mutazioni di *NRAS*, meno frequenti rispetto a quelle di *KRAS*, sono presenti in circa il 3–5% dei casi e risultano associate alla medesima

resistenza ai farmaci anti-EGFR. Per questo motivo, le linee guida internazionali raccomandano la determinazione estesa dello stato mutazionale dei geni *RAS* prima dell'inizio di tali terapie³⁴. Tra le alterazioni genetiche di maggiore rilevanza clinica figura anche la mutazione del gene *BRAF*, presente in circa l'8–12% dei carcinomi colorettali. La mutazione più comune è rappresentata dalla sostituzione V600E, che determina l'attivazione costitutiva della via MAPK. I tumori BRAF-mutati sono frequentemente localizzati nel colon prossimale, colpiscono più spesso soggetti di sesso femminile e risultano associati a prognosi sfavorevole³⁴. L'identificazione della mutazione *BRAF* assume un duplice significato. Da un lato contribuisce alla definizione prognostica del paziente; dall'altro possiede rilevanza terapeutica, poiché ha favorito lo sviluppo di strategie mirate basate sull'associazione di inibitori di *BRAF*, anti-EGFR e, in alcuni casi, inibitori di *MEK*³⁴. Altri geni coinvolti nella carcinogenesi colorettale comprendono *PIK3CA* e *SMAD4*. Nello specifico, *PIK3CA* codifica una subunità della fosfatidilinositolo-3-chinasi ed è implicato nella regolazione della crescita e della sopravvivenza cellulare. Le sue mutazioni sono presenti in circa il 10–20% dei carcinomi colorettali e potrebbero influenzare la risposta ad alcune terapie bersaglio, sebbene il loro significato clinico definitivo sia ancora oggetto di studio³⁵. *SMAD4*, invece, rappresenta un mediatore della via del TGF- β o *transforming growth factor- β* . La perdita della sua funzione è stata associata a una maggiore aggressività tumorale, ad un aumentato rischio di metastatizzazione e a una prognosi meno favorevole³⁶. L'analisi delle alterazioni genetiche può essere effettuata mediante differenti metodiche di laboratorio. Tra queste trovano impiego la reazione a catena della polimerasi (PCR), il sequenziamento di Sanger, le tecniche di real-time PCR e, più recentemente, il sequenziamento di nuova generazione (Next Generation Sequencing, NGS). Quest'ultimo consente la valutazione simultanea di numerosi geni attraverso pannelli multigenici, garantendo elevata sensibilità, rapidità e ottimizzazione delle risorse biologiche disponibili. L'NGS ha profondamente trasformato la diagnostica molecolare del carcinoma colorettale, rendendo possibile un approccio integrato e personalizzato. La caratterizzazione genetica completa del tumore permette infatti di identificare alterazioni suscettibili di trattamento mirato, di valutare la prognosi e di orientare il paziente verso protocolli terapeutici innovativi o studi clinici sperimentali³⁷. L'impiego crescente del sequenziamento di nuova generazione sta inoltre favorendo la scoperta di alterazioni molecolari rare ma potenzialmente rilevanti dal punto di vista terapeutico. La possibilità di analizzare simultaneamente numerosi geni consente

infatti di identificare bersagli farmacologici emergenti e di ampliare l'accesso dei pazienti a protocolli sperimentali basati su trattamenti mirati. Questo approccio rappresenta uno dei principali presupposti per l'evoluzione futura dell'oncologia di precisione³⁷. Nel complesso, l'integrazione dei marcatori tissutali e genetici ha determinato un cambiamento sostanziale nella gestione del carcinoma coloretale. Se inizialmente tali biomarcatori erano utilizzati prevalentemente a fini descrittivi e prognostici, oggi essi costituiscono strumenti indispensabili per la selezione terapeutica e l'applicazione dei principi della medicina di precisione. La crescente comprensione dei meccanismi molecolari alla base della carcinogenesi coloretale lascia inoltre prevedere l'identificazione di nuovi biomarcatori capaci di migliorare ulteriormente la stratificazione dei pazienti e di ottimizzare l'efficacia dei trattamenti disponibili.

2.4 Nuovi biomarcatori emergenti

Negli ultimi anni, il rapido sviluppo delle tecnologie di sequenziamento ad alta processività e delle metodiche di analisi molecolare ha consentito l'identificazione di numerosi biomarcatori emergenti potenzialmente in grado di migliorare la diagnosi precoce, la stratificazione prognostica e la personalizzazione terapeutica del carcinoma del colon-retto (CRC). Sebbene molti di questi marcatori non siano ancora entrati stabilmente nella pratica clinica routinaria, essi rappresentano una delle aree di ricerca più promettenti nell'ambito dell'oncologia di precisione. Tra le innovazioni più significative riveste particolare importanza la biopsia liquida, definita come l'analisi di componenti tumorali rilasciate nel circolo ematico o in altri fluidi biologici. A differenza della biopsia tissutale tradizionale, essa costituisce una metodica minimamente invasiva, ripetibile nel tempo e potenzialmente in grado di fornire una rappresentazione dinamica dell'evoluzione molecolare della neoplasia. Uno dei principali elementi studiati mediante biopsia liquida è il DNA tumorale circolante (ctDNA). Tale frazione di DNA deriva dalla lisi delle cellule neoplastiche e contiene le stesse alterazioni genetiche presenti nel tumore primitivo o nelle metastasi. La presenza di ctDNA nel plasma può essere rilevata attraverso metodiche ad elevata sensibilità, quali la digital droplet PCR e il Next Generation Sequencing (NGS)³⁸. L'interesse clinico nei confronti del ctDNA è legato alle sue molteplici applicazioni. In primo luogo, esso consente la valutazione della malattia minima residua dopo resezione chirurgica. Diversi studi hanno dimostrato che la persistenza di ctDNA nel periodo postoperatorio rappresenta un forte indicatore di

malattia microscopica residua e si associa a un elevato rischio di recidiva. Al contrario, la negativizzazione del ctDNA dopo trattamento radicale sembra correlare a una prognosi favorevole³⁸. La crescente attenzione nei confronti del ctDNA deriva anche dalla sua capacità di fornire informazioni in tempo reale sull'evoluzione biologica della malattia. A differenza delle analisi effettuate sul tessuto tumorale al momento della diagnosi, il monitoraggio seriale del ctDNA consente di seguire dinamicamente le modificazioni molecolari che si verificano durante il decorso clinico, offrendo una rappresentazione più aggiornata dell'eterogeneità tumorale (Figura 10)^{38,39}.

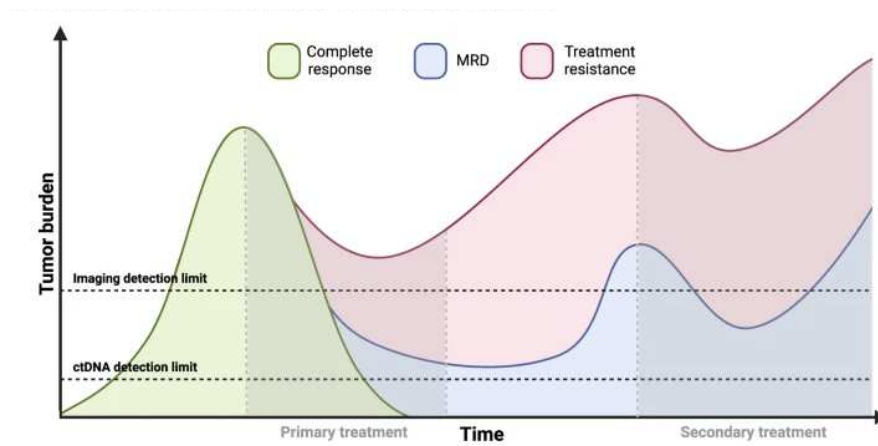


Figura 10. Livelli di ctDNA per monitorare la risposta al trattamento¹¹⁰.

Dal punto di vista cinetico, il vantaggio cruciale del monitoraggio molecolare risiede nella sua spiccata sensibilità analitica rispetto alle metodiche radiologiche tradizionali. Come schematizzato in Figura 10, i saggi basati su ctDNA possiedono un limite di rilevamento (*ctDNA detection limit*) drasticamente inferiore rispetto alla soglia dei comuni sistemi di imaging (*Imaging detection limit*). Ciò consente di identificare la malattia residua minima (MRD) in una fase precoce e subclinica come evidenziato dalla linea Blu in figura, intercettando la recidiva molecolare mesi prima che questa si traduca in una progressione macroscopica visibile radiologicamente. La medesima cinetica permette inoltre di discriminare tempestivamente i profili di risposta completa al trattamento primario, linea Verde, dai casi di resistenza intrinseca o precoce alla terapia, linea Rossa³⁸. L'identificazione del ctDNA potrebbe inoltre contribuire alla selezione dei pazienti candidabili alla chemioterapia adiuvante, evitando trattamenti inutili nei soggetti a basso rischio e intensificando il monitoraggio nei pazienti maggiormente suscettibili a

sviluppare recidive. Tale approccio, definito "terapia guidata dal ctDNA", rappresenta una delle prospettive più innovative della medicina personalizzata³⁹. Un ulteriore impiego del ctDNA riguarda il monitoraggio della risposta ai trattamenti sistemici nelle forme metastatiche. La quantificazione seriale delle alterazioni molecolari può consentire l'identificazione precoce di meccanismi di resistenza terapeutica, come la comparsa di mutazioni nei geni della famiglia *RAS* durante il trattamento con anticorpi anti-EGFR. Ciò potrebbe permettere un tempestivo adattamento delle strategie terapeutiche⁴⁰. Accanto al ctDNA, un altro biomarcatore emergente è rappresentato dalle cellule tumorali circolanti (CTCs). Si tratta di cellule neoplastiche vitali che si staccano dal tumore primitivo o dalle metastasi e penetrano nel circolo sanguigno. Le CTCs costituiscono un passaggio cruciale del processo metastatico e il loro numero è stato associato alla prognosi della malattia. Nei pazienti con carcinoma coloretale metastatico, elevate concentrazioni di CTCs correlano frequentemente con una minore sopravvivenza libera da progressione e con una ridotta sopravvivenza globale. Inoltre, l'analisi fenotipica e genetica di tali cellule potrebbe fornire informazioni utili sull'eterogeneità tumorale e sui potenziali bersagli terapeutici. Tuttavia, le difficoltà tecniche legate all'isolamento e alla caratterizzazione delle CTCs ne limitano ancora l'applicazione routinaria⁴¹. Negli ultimi anni ha suscitato notevole interesse anche lo studio dei microRNA (miRNA), piccole molecole di RNA non codificante costituite da circa 18–25 nucleotidi. I miRNA regolano l'espressione genica a livello post-trascrizionale, influenzando numerosi processi biologici quali proliferazione, differenziamento, apoptosi e invasione cellulare⁴². Alterazioni del profilo di espressione dei miRNA sono state descritte in tutte le fasi della carcinogenesi coloretale. Alcuni miRNA risultano sovraespressi e agiscono come oncogeni denominato oncomiR, mentre altri presentano una ridotta espressione e svolgono un ruolo di soppressione tumorale. Tra i più studiati figurano miR-21, miR-92a, miR-29a e miR-135b⁴². In particolare, miR-21 rappresenta uno dei biomarcatori più promettenti. La sua sovraespressione è stata associata a maggiore invasività, aumentato rischio di metastasi e prognosi sfavorevole. Analogamente, elevati livelli plasmatici di miR-92a e miR-29a sono stati osservati nei pazienti affetti da carcinoma coloretale e adenomi avanzati, suggerendo un possibile ruolo nella diagnosi precoce. I miRNA possono essere rilevati nel sangue, nelle feci e in altri fluidi biologici grazie alla loro notevole stabilità. Tale caratteristica li rende candidati ideali per lo sviluppo di test non invasivi. Tuttavia, la variabilità metodologica e l'assenza di protocolli standardizzati

rappresentano ancora importanti ostacoli alla loro introduzione nella pratica clinica⁴². Un altro ambito di ricerca riguarda gli RNA lunghi non codificanti (long non-coding RNA, lncRNA), molecole di RNA superiori a 200 nucleotidi prive di attività codificante ma coinvolte nella regolazione dell'espressione genica. Numerosi lncRNA sono stati associati alla progressione del carcinoma coloretale, alla chemioresistenza e alla capacità metastatica⁴³. Tra i lncRNA maggiormente studiati figurano HOTAIR, CCAT1 e MALAT1. La loro deregolazione è stata correlata a caratteristiche clinico-patologiche sfavorevoli e a una ridotta sopravvivenza³⁸. Sebbene i dati disponibili siano ancora preliminari, tali molecole potrebbero rappresentare futuri biomarcatori prognostici e predittivi⁴³. Recentemente l'attenzione si è concentrata anche sugli esosomi, piccole vescicole extracellulari di dimensioni comprese tra 30 e 150 nm secrete da numerosi tipi cellulari, comprese le cellule tumorali. Gli esosomi contengono proteine, DNA, RNA messaggeri, miRNA e lipidi che riflettono le caratteristiche biologiche della cellula di origine⁴⁴. Nel carcinoma coloretale gli esosomi sembrano svolgere un ruolo determinante nella comunicazione intercellulare, nella modulazione del microambiente tumorale e nella formazione della nicchia pre-metastatica. L'analisi del loro contenuto molecolare potrebbe consentire l'identificazione di biomarcatori utili per la diagnosi precoce, la valutazione prognostica e il monitoraggio della risposta terapeutica⁴⁴. Un ulteriore settore emergente riguarda lo studio delle alterazioni epigenetiche. A differenza delle mutazioni genetiche, tali modificazioni non comportano variazioni della sequenza nucleotidica ma influenzano l'espressione genica attraverso meccanismi reversibili. Tra queste, la metilazione del DNA rappresenta il fenomeno maggiormente studiato. L'ipermetilazione dei promotori genici può determinare il silenziamento di geni oncosoppressori coinvolti nel controllo della proliferazione cellulare. Nel carcinoma coloretale, la metilazione del gene *SEPT9* ha ricevuto particolare attenzione. Il test ematico per la ricerca del DNA metilato di *SEPT9* costituisce una metodica non invasiva approvata in alcuni contesti per lo screening dei soggetti che rifiutano le procedure tradizionali. Sebbene la sensibilità risulti inferiore rispetto ai programmi basati sul FIT e sulla colonscopia, tale approccio testimonia il potenziale delle alterazioni epigenetiche come biomarcatori clinici⁴⁵. Sempre nell'ambito dell'epigenetica, il cosiddetto fenotipo metilatore delle isole CpG (CIMP) identifica un sottogruppo di tumori caratterizzati da estese alterazioni della metilazione genomica. I tumori CIMP-positivi presentano frequentemente mutazioni di *BRAF* e caratteristiche clinico-patologiche peculiari. Nonostante il loro significato

prognostico non sia ancora completamente definito, essi contribuiscono a delineare l'eterogeneità biologica del carcinoma coloretale⁴⁶. Negli ultimi anni è emerso anche il possibile ruolo del microbiota intestinale come fonte di biomarcatori innovativi. Numerose evidenze suggeriscono che specifiche alterazioni della composizione batterica possano contribuire alla carcinogenesi coloretale attraverso meccanismi infiammatori, immunologici e metabolici. Tra i microrganismi maggiormente associati al carcinoma coloretale figurano *Fusobacterium nucleatum*, *Escherichia coli* produttore di colibactina e alcuni ceppi di *Bacteroides fragilis enterotossigeni*. In particolare, *Fusobacterium nucleatum* è stato correlato a una prognosi sfavorevole, a una maggiore aggressività tumorale e a possibili fenomeni di resistenza terapeutica. La caratterizzazione del microbiota fecale potrebbe pertanto integrare, in futuro, i programmi di screening e la valutazione prognostica⁴⁷. Infine, la crescente disponibilità di tecnologie “multi-omiche” sta favorendo lo sviluppo di modelli integrati capaci di combinare informazioni genomiche, trascrittomiche, proteomiche, metabolomiche e microbiologiche. Tali approcci potrebbero consentire una classificazione sempre più accurata dei pazienti e l'identificazione di firme molecolari altamente predittive⁴⁸. Nonostante il notevole entusiasmo suscitato da questi biomarcatori emergenti, la loro applicazione clinica routinaria richiede ulteriori validazioni. Saranno necessari studi prospettici multicentrici, protocolli analitici standardizzati e valutazioni di costo-efficacia prima che tali strumenti possano essere pienamente integrati nei percorsi diagnostico-terapeutici. Tuttavia, le evidenze attualmente disponibili indicano chiaramente che il futuro della gestione del carcinoma del colon-retto sarà sempre più orientato verso strategie personalizzate basate sulla caratterizzazione molecolare dinamica della malattia, con l'obiettivo di migliorare la diagnosi precoce, ottimizzare le scelte terapeutiche e incrementare la sopravvivenza dei pazienti.

2.5 Limiti e potenzialità

L'identificazione di biomarcatori sempre più accurati rappresenta uno degli obiettivi principali della moderna oncologia del carcinoma del colon-retto (CRC). L'introduzione di marcatori sierici, fecali, tissutali e genetici ha profondamente modificato l'approccio clinico alla malattia, consentendo una migliore stratificazione prognostica, l'ottimizzazione dei programmi di screening e la selezione di terapie personalizzate. Tuttavia, nonostante gli indiscutibili progressi compiuti negli ultimi anni,

nessun biomarcatore possiede, singolarmente, caratteristiche ideali tali da soddisfare contemporaneamente i requisiti di elevata sensibilità, elevata specificità, riproducibilità, semplicità di esecuzione, sostenibilità economica e applicabilità universale. Di conseguenza, l'impiego dei biomarcatori nel carcinoma coloretale richiede una valutazione critica dei loro punti di forza e delle relative limitazioni⁴⁹.

I **marcatori sierici** rappresentano gli strumenti più consolidati per il monitoraggio clinico della malattia. Tra questi, l'antigene carcinoembrionario (CEA) costituisce il biomarcatore maggiormente utilizzato nella pratica clinica. La principale potenzialità del CEA consiste nella sua disponibilità, nel basso costo e nella possibilità di effettuare dosaggi seriatî nel tempo mediante semplici prelievi ematici. Il monitoraggio dinamico delle concentrazioni sieriche consente infatti di individuare precocemente eventuali recidive dopo resezione chirurgica radicale, di valutare indirettamente la risposta ai trattamenti sistemici e di ottenere informazioni prognostiche utili nella gestione del follow-up. Tuttavia, il CEA presenta importanti limitazioni. La sua sensibilità nelle fasi iniziali della malattia risulta modesta e non ne consente l'impiego come test di screening nella popolazione generale. Inoltre, la specificità è limitata dalla possibilità di riscontrare valori elevati in numerose condizioni non neoplastiche, quali epatopatie croniche, pancreatiti, malattie infiammatorie intestinali e abitudine tabagica. Pertanto, il CEA deve essere interpretato come strumento complementare all'interno di un percorso diagnostico integrato e non come indicatore assoluto della presenza o dell'assenza di neoplasia. Considerazioni analoghe riguardano altri marcatori sierici, quali CA 19-9, CA 72-4, TPS, TPA e TIMP-1. Sebbene alcuni studi abbiano evidenziato una possibile utilità prognostica, soprattutto nelle forme avanzate di malattia, l'assenza di adeguata standardizzazione e la limitata accuratezza diagnostica ne hanno impedito un utilizzo routinario. La loro principale criticità consiste nel ridotto valore aggiunto rispetto al CEA, a fronte di costi aggiuntivi e di evidenze scientifiche ancora insufficienti⁴⁹.

I **biomarcatori fecali** hanno invece rivoluzionato le strategie di screening del carcinoma coloretale, offrendo metodiche non invasive caratterizzate da buona accettabilità da parte della popolazione. Il test immunochimico fecale (FIT) rappresenta attualmente il cardine dei programmi organizzati di screening. Tra i suoi principali punti di forza figurano la semplicità di esecuzione, il costo relativamente contenuto, la maggiore sensibilità rispetto ai tradizionali test al guaiaco e l'assenza di restrizioni dietetiche. L'ampia diffusione del FIT ha contribuito significativamente alla riduzione della mortalità correlata al carcinoma

colorettale attraverso l'identificazione precoce delle lesioni. Nonostante tali vantaggi, il FIT presenta alcuni limiti intrinseci. La sua capacità di rilevare adenomi avanzati risulta inferiore rispetto a quella osservata per i carcinomi invasivi, e un singolo test negativo non esclude con certezza la presenza di lesioni neoplastiche. Inoltre, la sensibilità del metodo dipende dal valore soglia adottato: soglie più basse aumentano la capacità diagnostica ma comportano un incremento dei falsi positivi e del numero di colonscopie necessarie. Ciò rende necessario un bilanciamento tra accuratezza diagnostica e sostenibilità organizzativa⁴⁹. I test fecali basati sull'analisi del DNA rappresentano una delle evoluzioni più promettenti nell'ambito dello screening. La loro principale potenzialità consiste nella possibilità di identificare alterazioni molecolari direttamente correlate alla carcinogenesi colorettale, incrementando la sensibilità soprattutto nei confronti delle lesioni precancerose avanzate. Tuttavia, tali metodiche presentano costi elevati, una minore specificità rispetto al FIT e una disponibilità ancora limitata in molti contesti sanitari. Di conseguenza, il loro impiego diffuso richiede ulteriori valutazioni in termini di costo-efficacia⁴⁹.

I **marcatori tissutali** costituiscono oggi uno strumento indispensabile per la caratterizzazione biologica del tumore. L'analisi immunoistochimica delle proteine del sistema mismatch repair (MMR) rappresenta uno degli esempi più rilevanti di applicazione clinica di un biomarcatore. La determinazione dello stato MMR/MSI possiede infatti valore prognostico, predittivo e diagnostico, consentendo l'identificazione di pazienti con possibile sindrome di Lynch e la selezione dei soggetti candidabili all'immunoterapia⁵⁰. La principale potenzialità di tali marcatori risiede nella loro capacità di guidare decisioni terapeutiche concrete. Tuttavia, la loro determinazione richiede campioni tissutali adeguati, laboratori specializzati e personale esperto nell'interpretazione dei risultati. Inoltre, l'eterogeneità intratumorale può occasionalmente determinare discrepanze tra differenti aree della neoplasia, influenzando l'accuratezza diagnostica⁵⁰.

L'introduzione dei **biomarcatori genetici** ha rappresentato uno dei progressi più significativi nella gestione del carcinoma colorettale metastatico. La valutazione dello stato mutazionale dei geni *KRAS*, *NRAS* e *BRAF* ha consentito di superare l'approccio terapeutico uniforme, orientando la scelta dei trattamenti sulla base delle caratteristiche molecolari individuali del tumore. In particolare, la determinazione delle mutazioni di

RAS permette di evitare l'impiego inefficace degli anticorpi anti-EGFR nei pazienti non responsivi, riducendo tossicità inutili e ottimizzando l'allocazione delle risorse sanitarie. Nonostante tali benefici, i biomarcatori genetici presentano alcune criticità. Le analisi molecolari richiedono infrastrutture tecnologiche avanzate e costi superiori rispetto alle metodiche tradizionali. Inoltre, l'evoluzione clonale del tumore può determinare modificazioni del profilo mutazionale nel tempo, rendendo talvolta insufficiente la caratterizzazione effettuata al momento della diagnosi iniziale. La presenza di eterogeneità genetica tra tumore primitivo e metastasi rappresenta un'ulteriore fonte di complessità interpretativa⁵⁰. L'avvento delle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS) ha consentito di superare alcuni limiti delle analisi mirate tradizionali. Attraverso pannelli multigenici, l'NGS permette infatti la valutazione simultanea di numerose alterazioni molecolari, aumentando la probabilità di identificare bersagli terapeutici potenzialmente utilizzabili. Tale approccio favorisce una visione più completa della biologia tumorale e si integra pienamente con i principi della medicina di precisione. Tuttavia, la crescente quantità di dati generata dall'NGS pone nuove sfide interpretative. Non tutte le varianti identificate possiedono un significato clinico definito e la distinzione tra mutazioni "driver" e alterazioni prive di rilevanza terapeutica può risultare complessa. Inoltre, la necessità di bioinformatici specializzati, l'elevato costo delle piattaforme e i tempi di elaborazione rappresentano fattori che ne limitano l'accessibilità universale⁵⁰.

Tra i **biomarcatori emergenti**, il DNA tumorale circolante (ctDNA) appare uno degli strumenti più promettenti. Le sue principali potenzialità risiedono nella natura minimamente invasiva, nella possibilità di effettuare prelievi seriali e nella capacità di monitorare in tempo reale l'evoluzione molecolare della malattia. Il ctDNA potrebbe consentire l'identificazione della malattia minima residua dopo chirurgia radicale, la diagnosi precoce delle recidive e il riconoscimento tempestivo di meccanismi di resistenza terapeutica⁵¹. Nonostante l'entusiasmo suscitato da tali applicazioni, persistono importanti limiti. Nei tumori in fase iniziale la quantità di ctDNA può risultare estremamente ridotta, con conseguente rischio di falsi negativi. Inoltre, l'assenza di protocolli standardizzati e la variabilità delle metodiche analitiche rendono ancora difficile l'interpretazione uniforme dei risultati. Anche il costo delle tecnologie impiegate costituisce un elemento da considerare prima di un'eventuale implementazione routinaria. Le cellule tumorali circolanti (CTCs) rappresentano un ulteriore esempio di biomarcatore ad elevato potenziale innovativo. Esse consentono non soltanto una valutazione

prognostica, ma anche lo studio diretto delle caratteristiche biologiche delle cellule responsabili della disseminazione metastatica. Tuttavia, la loro estrema rarità nel circolo ematico e le difficoltà tecniche associate al loro isolamento e alla loro caratterizzazione ne limitano attualmente l'applicazione clinica⁵¹. I microRNA e gli RNA lunghi non codificanti costituiscono un'interessante prospettiva futura grazie alla loro stabilità nei fluidi biologici e alla stretta correlazione con i processi di carcinogenesi. Essi potrebbero rappresentare strumenti utili per la diagnosi precoce, la stratificazione prognostica e la previsione della risposta terapeutica. Tuttavia, le differenze nei protocolli di estrazione, nelle piattaforme analitiche e nei criteri di normalizzazione costituiscono importanti ostacoli alla riproducibilità dei risultati ottenuti nei diversi studi⁵¹. Anche gli esosomi e il microbiota intestinale stanno emergendo come potenziali fonti di biomarcatori innovativi. Gli esosomi offrono il vantaggio di riflettere in maniera dinamica il contenuto molecolare delle cellule tumorali, mentre lo studio del microbiota potrebbe fornire informazioni sul rischio di sviluppo della neoplasia e sul comportamento biologico del tumore. Tuttavia, entrambi gli ambiti di ricerca risultano ancora in una fase preliminare, caratterizzata da elevata eterogeneità metodologica e dalla necessità di ulteriori validazioni cliniche. Un ulteriore aspetto da considerare riguarda l'integrazione dei biomarcatori nei percorsi decisionali clinici multidisciplinari. L'interpretazione delle informazioni molecolari richiede infatti una stretta collaborazione tra anatomopatologi, biologi molecolari, oncologi, gastroenterologi e chirurghi. La crescente complessità dei dati ottenuti mediante tecniche avanzate di profilazione genomica rende sempre più importante l'approccio integrato dei *molecular tumor board*, finalizzato a tradurre le informazioni biologiche in decisioni terapeutiche concrete e personalizzate⁵⁰. Nel complesso, il principale limite dei biomarcatori nel carcinoma del colon-retto risiede nell'impossibilità di individuare un singolo test in grado di rispondere a tutte le esigenze cliniche. La complessità biologica della malattia, l'eterogeneità interindividuale e l'evoluzione dinamica del tumore rendono improbabile l'identificazione di un biomarcatore universale. Al contrario, il futuro sembra orientato verso l'integrazione di differenti informazioni biologiche mediante approcci multiparametrici⁵¹. La combinazione di dati derivanti da biomarcatori sierici, fecali, tissutali, genetici e da nuove tecnologie di biopsia liquida potrebbe consentire una caratterizzazione sempre più accurata della malattia, favorendo programmi di screening più efficaci, strategie terapeutiche realmente personalizzate e un monitoraggio dinamico dell'evoluzione tumorale. In tale prospettiva, le future sfide riguarderanno non soltanto

l'identificazione di nuovi biomarcatori, ma soprattutto la loro validazione clinica, la standardizzazione delle metodiche analitiche e la definizione di modelli sostenibili in grado di garantire un accesso equo alle innovazioni della medicina di precisione.

CAPITOLO 3. APPROCCIO FARMACOLOGICO AL CARCINOMA DEL COLON- RETTO

3.1. Principi della terapia oncologica

Il trattamento del carcinoma del colon-retto (CRC) ha subito una profonda evoluzione negli ultimi decenni, passando da un approccio terapeutico basato esclusivamente sulla chirurgia e sulla chemioterapia citotossica ad una strategia integrata che comprende farmaci biologici, immunoterapia e trattamenti personalizzati sulla base delle caratteristiche molecolari del tumore. Attualmente, la gestione terapeutica del paziente affetto da carcinoma coloretale richiede un approccio multidisciplinare che coinvolga oncologi medici, chirurghi, radioterapisti, anatomopatologi, biologi molecolari e farmacisti clinici, con l'obiettivo di garantire il miglior risultato terapeutico possibile⁵². La scelta del trattamento dipende da numerosi fattori, tra cui lo stadio della malattia secondo la classificazione TNM, la localizzazione del tumore, le caratteristiche biologiche e molecolari della neoplasia, l'età del paziente, la presenza di comorbidità e le preferenze individuali del soggetto. Nei tumori localizzati, la chirurgia rappresenta il trattamento di scelta e può essere associata a chemioterapia adiuvante per ridurre il rischio di recidiva. Nelle forme metastatiche, invece, l'obiettivo terapeutico può variare dalla guarigione, nei casi selezionati suscettibili di resezione delle metastasi, al controllo della malattia, al prolungamento della sopravvivenza e al miglioramento della qualità di vita⁵². I farmaci utilizzati nel trattamento del CRC possono essere distinti in tre grandi categorie:

- agenti citotossici tradizionali
- farmaci biologici a bersaglio molecolare
- immunoterapici.

Gli agenti citotossici interferiscono con la sintesi del DNA o con la divisione cellulare, colpendo prevalentemente le cellule caratterizzate da elevata attività proliferativa, i farmaci biologici agiscono invece su specifiche vie di segnalazione coinvolte nella crescita tumorale e nell'angiogenesi, mentre l'immunoterapia mira a riattivare la risposta immunitaria antitumorale. L'introduzione dei principi della medicina di precisione ha ulteriormente modificato l'approccio terapeutico, rendendo indispensabile la caratterizzazione molecolare del tumore mediante la valutazione dello stato mutazionale di geni quali *KRAS*, *NRAS* e *BRAF*, nonché dello stato di instabilità dei microsatelliti

(MSI) e del sistema mismatch repair (MMR). Tali informazioni consentono di selezionare i pazienti candidabili a specifici trattamenti, evitando terapie inefficaci e limitando l'esposizione a tossicità inutili⁵³.

3.2. Chemioterapia tradizionale

La chemioterapia tradizionale rappresenta uno dei cardini storici della terapia oncologica sistemica e si basa sull'impiego di farmaci citotossici in grado di interferire con i processi fondamentali della proliferazione cellulare, in particolare la sintesi e la replicazione degli acidi nucleici. Il razionale di questi trattamenti deriva dalla maggiore sensibilità delle cellule tumorali, caratterizzate da elevata velocità proliferativa e perdita dei normali meccanismi di controllo del ciclo cellulare. Tuttavia, l'azione non è selettiva esclusivamente per le cellule neoplastiche, ma coinvolge anche tessuti fisiologicamente ad alto turnover, come midollo osseo, mucosa gastrointestinale e follicoli piliferi, determinando il tipico profilo di tossicità sistemica. In ambito clinico, la chemioterapia tradizionale viene spesso utilizzata in regimi di combinazione al fine di aumentare l'efficacia terapeutica, ridurre il rischio di resistenza farmacologica e agire su differenti fasi del ciclo cellulare o su diversi bersagli molecolari. Tra i principali farmaci impiegati nei tumori solidi, in particolare nei carcinomi gastrointestinali, rientrano le fluoropirimidine, i derivati del platino e gli inibitori della topoisomerasi I⁵³.

I principali chemioterapici tradizionali sono:

- 5-fluorouracile (5-FU)
- Capecitabina
- Oxaliplatino
- Irinotecan

Il 5-fluorouracile è una fluoropirimidina, antimetabolita ampiamente utilizzata in oncologia da diversi decenni e costituisce ancora oggi uno dei pilastri terapeutici nei tumori solidi, in particolare nei carcinomi del tratto gastrointestinale. Il suo meccanismo d'azione, come mostrato in Figura 11, è complesso e multifattoriale. Il 5-FU viene intracellularmente convertito in diversi metaboliti attivi che interferiscono principalmente con la sintesi dei nucleotidi pirimidinici. Il principale bersaglio è la timidilato sintetasi (TS), enzima chiave nella produzione di Timidina Monofosfato (dTMP), essenziale per la sintesi del DNA. L'inibizione della TS determina una deplezione di dTMP e

[illegible]

Dal punto di vista clinico, il farmaco può essere somministrato in bolo endovenoso o in infusione continua, modalità quest'ultima spesso associata a un diverso profilo di tossicità e maggiore efficacia in alcuni protocolli. Il 5-FU è frequentemente utilizzato nei regimi per carcinoma del colon-retto, spesso in associazione con altri citotossici o con modulanti dell'acido folinico⁵⁴. La capecitabina è una fluoropirimidina orale, classificata come profarmaco del 5-FU, progettata per consentire una somministrazione più selettiva e conveniente. Dopo assunzione per via orale, la molecola subisce una serie di conversioni enzimatiche a livello epatico e tumorale, l'ultima delle quali è catalizzata dalla timidina fosforilasi, enzima spesso espresso in maggiore quantità nei tessuti neoplastici rispetto a quelli normali. Questo meccanismo consente una maggiore attivazione intratumorale del principio attivo, contribuendo potenzialmente a un miglior indice terapeutico⁵⁵. Dal punto di vista farmacodinamico, la capecitabina riproduce gli effetti del 5-FU, agendo sull'inibizione della timidilato sintetasi e sull'interferenza con la sintesi degli acidi nucleici. È ampiamente impiegata nel trattamento del carcinoma del colon-retto e della mammella, sia in monoterapia sia in combinazione. Il vantaggio principale risiede nella

somministrazione orale, che migliora la qualità di vita del paziente e riduce la necessità di accessi venosi, pur richiedendo un'attenta aderenza terapeutica⁵⁵. L'oxaliplatino è un composto appartenente alla classe dei derivati del platino di terza generazione, caratterizzato da un profilo di attività specifico nei tumori gastrointestinali. Il suo meccanismo d'azione si basa sulla formazione di legami covalenti con il DNA, con conseguente formazione di cross-link intra- e inter-filamento. Queste alterazioni strutturali impediscono la corretta replicazione e trascrizione del DNA, attivando vie di risposta al danno genotossico che culminano nell'apoptosi cellulare⁵⁶. Rispetto ad altri tassani del platino, l'oxaliplatino presenta un diverso spettro di resistenza e una maggiore efficacia in combinazione con fluoropirimidine, come nei regimi FOLFOX. Un aspetto clinicamente rilevante è la neurotossicità periferica, che può manifestarsi in forma acuta, spesso indotta o aggravata dall'esposizione al freddo, oppure in forma cronica cumulativa, potenzialmente dose-limitante. Tale tossicità è legata all'interferenza del farmaco con i canali del sodio neuronali e con la funzionalità assonale⁵⁶. L'irinotecan è un derivato semisintetico della camptotecina e agisce come inibitore della topoisomerasi I, enzima responsabile del rilassamento della struttura superavvolta del DNA durante la replicazione e la trascrizione come illustrato in Figura 12.

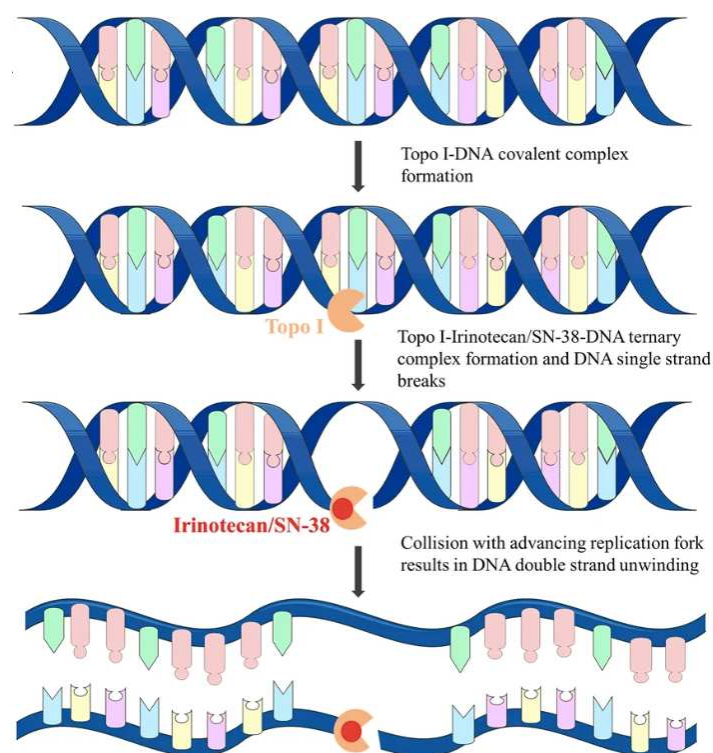


Figura 12. Meccanismo antitumorale di Irinotecan¹¹².

Il farmaco viene convertito a livello epatico nel metabolita attivo SN-38, significativamente più potente del composto progenitore. L'inibizione della topoisomerasi I determina la stabilizzazione del complesso DNA-enzima e la formazione di rotture a singolo filamento, che durante la replicazione si trasformano in danni irreversibili al DNA, inducendo apoptosi⁵⁷. Clinicamente, l'irinotecan è impiegato soprattutto nel carcinoma del colon-retto metastatico, frequentemente in associazione con 5-FU e leucovorina secondo lo schema FOLFIRI. Il profilo di tossicità è caratterizzato in particolare da diarrea, che può presentarsi in forma precoce colinergica o tardiva secretoria, e da mielosoppressione, rendendo necessaria una gestione clinica attenta e personalizzata⁵⁷.

3.3. Protocolli chemioterapici in uso

Nella pratica clinica dei tumori solidi, in particolare del carcinoma del colon-retto, la chemioterapia tradizionale non viene generalmente impiegata come singolo agente, ma all'interno di schemi terapeutici combinati. L'obiettivo della polichemioterapia è quello di aumentare l'efficacia antitumorale attraverso l'associazione di farmaci con meccanismi d'azione differenti, ridurre il rischio di resistenza clonale e ottenere un effetto sinergico sulle diverse fasi del ciclo cellulare. Tra i regimi più consolidati e largamente utilizzati in ambito oncologico vi sono:

- FOLFOX
- FOLFIRI
- CAPOX

Questi ultimi costituiscono lo standard terapeutico in numerose linee di trattamento del carcinoma coloretale metastatico e, in alcuni casi, anche in setting adiuvanti. Il regime FOLFOX è una combinazione di 5-fluorouracile (5-FU), leucovorina, una forma attiva dell'acido folinico, e oxaliplatino. Questo protocollo rappresenta uno degli schemi più utilizzati nel trattamento del carcinoma del colon-retto⁵⁸. Dal punto di vista farmacologico, il razionale della combinazione si basa sulla sinergia tra i diversi meccanismi d'azione. Il 5-FU agisce come antimetabolita inibendo la timidilato sintetasi, mentre l'oxaliplatino induce danno diretto al DNA attraverso la formazione di cross-link. La leucovorina non possiede attività citotossica diretta significativa, ma potenzia l'effetto del 5-FU stabilizzando il legame tra il suo metabolita attivo e la timidilato sintetasi, aumentando così l'inibizione enzimatica. Clinicamente, FOLFOX è considerato uno

standard sia in prima linea metastatica sia nel setting adiuvante nei pazienti con rischio elevato di recidiva. Il principale limite dose-riducente del regime è la neurotossicità periferica cumulativa associata all'oxaliplatino, che può condizionare la durata complessiva del trattamento⁵⁸. Il regime FOLFIRI associa 5-FU, leucovorina e irinotecan, rappresentando un'alternativa fondamentale al FOLFOX, soprattutto in prima o seconda linea terapeutica⁵⁹. In questo schema, il razionale farmacologico si basa sull'associazione tra un antimetabolita (5-FU) e un inibitore della topoisomerasi I (irinotecan). L'irinotecan, attraverso il suo metabolita attivo SN-38, stabilizza il complesso DNA-topoisomerasi I, impedendo la risoluzione delle rotture a singolo filamento durante la replicazione e inducendo danno letale al DNA. Anche in questo caso, la leucovorina potenzia l'azione del 5-FU aumentando l'inibizione della timidilato sintetasi. Il profilo di tossicità di FOLFIRI è differente rispetto a FOLFOX: la neurotossicità è meno rilevante, mentre assumono maggiore importanza sintomi come la diarrea e la mielosoppressione, che possono richiedere aggiustamenti posologici o terapie di supporto⁴⁷. Il regime CAPOX, noto anche come XELOX, combina capecitabina e oxaliplatino e rappresenta un'alternativa a FOLFOX con una gestione più semplificata dal punto di vista della somministrazione⁶⁰. In questo schema, la capecitabina sostituisce il 5-FU infusionale, mantenendo un meccanismo d'azione analogo grazie alla sua conversione intracellulare in 5-FU. L'oxaliplatino esercita il suo effetto citotossico tramite danno al DNA, come già descritto nei regimi precedenti. La combinazione consente quindi di mantenere il razionale farmacologico del FOLFOX, ma con il vantaggio di una terapia orale, che riduce la complessità assistenziale e il ricorso a dispositivi venosi centrali. Dal punto di vista clinico, CAPOX è ampiamente utilizzato sia in fase adiuvante sia metastatica. Il profilo di tossicità è sovrapponibile a quello del FOLFOX, con particolare attenzione alla neuropatia periferica da oxaliplatino e alla sindrome mano-piede associata alla capecitabina, che può influenzare la qualità di vita e la compliance del paziente⁶⁰.

3.4. Farmaci biologici

L'introduzione dei farmaci biologici ha rappresentato un importante avanzamento nella terapia del carcinoma del colon-retto metastatico, segnando il passaggio da un approccio esclusivamente citotossico a strategie molecularmente mirate. A differenza della chemioterapia tradizionale, questi farmaci sono anticorpi monoclonali progettati per interferire in modo selettivo con specifici bersagli coinvolti nella crescita tumorale,

nell'angiogenesi e nella trasduzione del segnale. Nel carcinoma coloretale, i principali bersagli terapeutici sono rappresentati dal *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) e dall'*Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR). L'inibizione di questi pathway consente rispettivamente di ridurre la neoangiogenesi tumorale e di bloccare la proliferazione e la sopravvivenza cellulare neoplastica.

I principali farmaci biologici sono:

- Bevacizumab
- Cetuximab
- Panitumumab

Il bevacizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il VEGF-A (Figura 13), uno dei principali mediatori dell'angiogenesi tumorale. Il suo meccanismo d'azione consiste nel legame al VEGF circolante, impedendone l'interazione con i recettori VEGFR-1 e VEGFR-2 presenti sulla superficie delle cellule endoteliali⁶¹. L'inibizione del segnale VEGF determina una riduzione della formazione di nuovi vasi sanguigni tumorali e una “normalizzazione” del letto vascolare esistente, con conseguente riduzione dell'apporto di ossigeno e nutrienti alla massa neoplastica e potenziale miglioramento della distribuzione della chemioterapia concomitante.

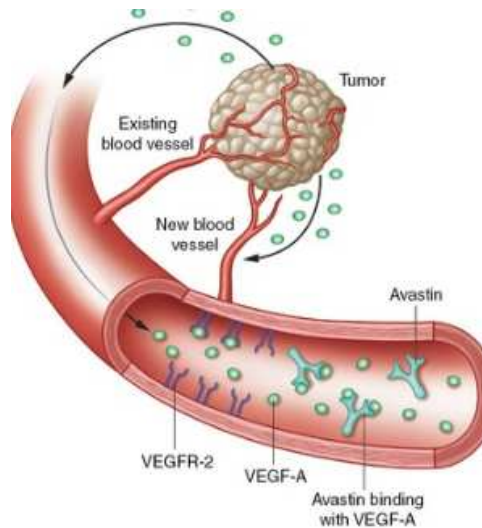


Figura 13. Bevacizumab (Avastin). Cambridge Universit¹¹³.

Clinicamente, bevacizumab non è utilizzato come monoterapia, ma sempre in associazione a schemi chemioterapici (FOLFOX, FOLFIRI o CAPOX). Il suo impiego è indipendente dallo stato mutazionale di *RAS*. Il profilo di tossicità è caratterizzato

principalmente da ipertensione arteriosa, rischio tromboembolico, sanguinamenti e possibile ritardo nella cicatrizzazione delle ferite, effetti legati all'inibizione fisiologica dell'angiogenesi⁶¹. Il cetuximab è un anticorpo monoclonale chimerico diretto contro il recettore EGFR, espresso sulla superficie di molte cellule tumorali del colon-retto. Il legame con EGFR impedisce l'attivazione della cascata di segnalazione intracellulare a valle (RAS-RAF-MEK-ERK e PI3K-AKT), che regola proliferazione, sopravvivenza e angiogenesi cellulare come illustrato in Figura 14⁶².

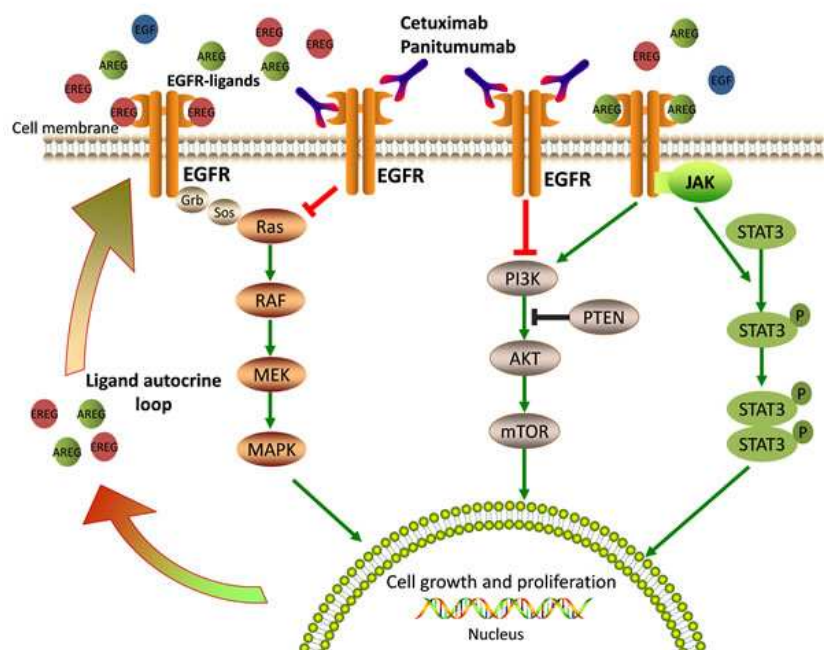


Figura 14. Meccanismi di resistenza alla terapia anti-EGFR nel carcinoma del colon retto.¹¹⁴

L'efficacia del cetuximab è strettamente dipendente dallo stato molecolare del tumore: è attivo esclusivamente nei pazienti con gene RAS wild-type, poiché mutazioni a livello di KRAS o NRAS rendono il segnale costitutivamente attivo a valle del recettore, rendendo inutile il blocco di EGFR. Dal punto di vista clinico, viene utilizzato in combinazione con chemioterapia, spesso FOLFIRI o FOLFOX, o in alcuni casi selezionati, in monoterapia. Gli effetti avversi caratteristici includono reazioni cutanee acneiformi, che correlano paradossalmente con la risposta clinica, e reazioni infusionali⁶². Il panitumumab è un anticorpo monoclonale completamente umano diretto anch'esso contro EGFR, con meccanismo d'azione sovrapponibile a quello del cetuximab come illustrato in Figura 14. Si lega al dominio extracellulare del recettore impedendone l'attivazione e la conseguente

trasduzione del segnale proliferativo. Anche panitumumab presenta indicazione esclusiva nei tumori *RAS* wild-type, ma rispetto al cetuximab ha una struttura completamente umana, il che si associa a una minore immunogenicità e a un rischio ridotto di reazioni infusionali⁶³. È utilizzato sia in associazione con chemioterapia sia, in pazienti selezionati, in monoterapia. Il profilo di tossicità è simile a quello degli anti-EGFR, con predominanza di tossicità cutanea, diarrea e alterazioni elettrolitiche, in particolare ipomagnesiemia⁶³. L'introduzione dei farmaci anti-VEGF e anti-EGFR ha permesso di personalizzare significativamente il trattamento del carcinoma del colon-retto metastatico. In particolare, la scelta terapeutica è oggi guidata da fattori molecolari predittivi, come lo stato mutazionale di *RAS* e *BRAF*, oltre che da caratteristiche cliniche del paziente e dalla sede del tumore primitivo. In questo contesto, la terapia biologica non sostituisce la chemioterapia tradizionale, ma ne rappresenta un importante potenziamento sinergico, migliorando gli outcome clinici in termini di sopravvivenza globale e sopravvivenza libera da progressione.

3.5. Immunoterapia

Negli ultimi decenni, l'avvento dell'immunoterapia ha rivoluzionato il paradigma terapeutico in oncologia, affiancandosi alla chemioterapia citotossica tradizionale e alle terapie a bersaglio molecolare o *targeted therapy*. A differenza dei trattamenti convenzionali, che mirano a distruggere direttamente le cellule neoplastiche, l'immunoterapia si propone di riattivare e potenziare il sistema immunitario del paziente, consentendogli di riconoscere ed eliminare selettivamente le cellule tumorali. Tra le strategie immunoterapeutiche di maggior successo clinico si distinguono gli inibitori dei checkpoint immunitari (ICIs), tra cui gli anticorpi monoclonali diretti contro il recettore *Programmed Death-1* (PD-1)⁶⁴:

- Pembrolizumab
- Nivolumab

Il pembrolizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il recettore PD-1 espresso sui linfociti T. Il legame tra PD-1 e i suoi ligandi (PD-L1/PD-L2), espressi dalle cellule tumorali o dal microambiente tumorale, induce normalmente un segnale inibitorio che riduce l'attivazione e la proliferazione dei linfociti T. Bloccando quindi PD-1, pembrolizumab, impedisce questa interazione e ripristina la risposta immunitaria antitumorale, come mostrato in Figura 15.

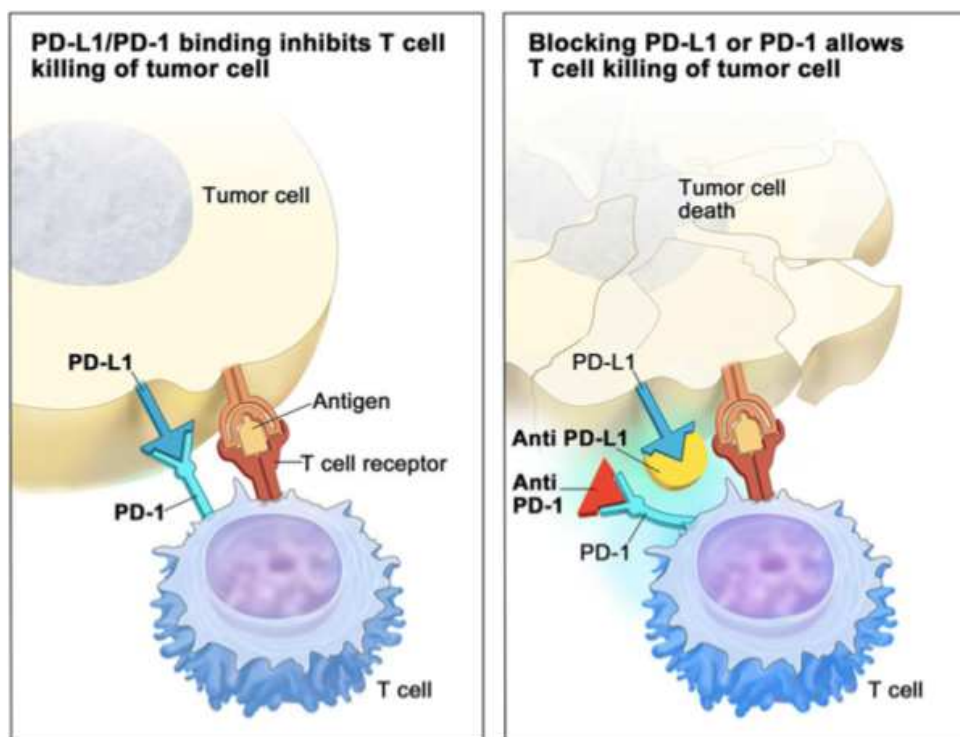


Figura 15. Pembrolizumab e Nivolumab per il carcinoma al colon retto.¹¹⁵

Nel carcinoma del colon-retto metastatico, pembrolizumab è indicato nei pazienti con MSI-H/dMMR, sia in prima linea sia in linee successive, con evidenze di maggiore efficacia rispetto alla chemioterapia standard in questo sottogruppo. Dal punto di vista clinico, è somministrato per via endovenosa ad intervalli regolari e presenta un profilo di tossicità peculiare, definito da eventi avversi immuno-correlati, che possono coinvolgere diversi organi e tessuti, quali dermatiti, coliti, epatiti, endocrinopatie come tiroiditi o ipofisiti⁶⁵. Il nivolumab è anch'esso un anticorpo monoclonale anti-PD-1, con meccanismo d'azione sovrapponibile a quello del pembrolizumab (Figura 15). Blocca il recettore PD-1 sui linfociti T, impedendo l'inibizione mediata dal microambiente tumorale e favorendo la riattivazione della risposta immunitaria antitumorale⁶⁶. Nel carcinoma del colon-retto metastatico, nivolumab è utilizzato principalmente nei pazienti MSI-H/dMMR, e può essere impiegato anche in combinazione con altri. Il profilo di sicurezza è simile a quello degli altri inibitori del checkpoint immunitario, con eventi avversi immuno-mediati che richiedono riconoscimento precoce e gestione con immunosoppressione nei casi più severi⁶⁶.

3.7. Aderenza terapeutica

L'aderenza terapeutica rappresenta un elemento cruciale nella gestione delle patologie oncologiche e, in particolare, nei regimi di chemioterapia e terapie di supporto del carcinoma del colon-retto. In ambito oncologico, il concetto di aderenza non si limita alla semplice assunzione del farmaco secondo prescrizione, ma include anche la corretta tempistica di somministrazione, il rispetto dei cicli terapeutici, la gestione delle terapie domiciliari e la continuità del trattamento nel tempo, elementi tutti determinanti per l'efficacia complessiva della strategia terapeutica. Nel contesto dei tumori solidi, l'aderenza è fortemente influenzata dalla complessità dei regimi terapeutici, dalla durata prolungata dei trattamenti e dalla frequente comparsa di effetti avversi⁵⁵. Inoltre, l'introduzione di farmaci orali, come la capecitabina, ha spostato parte della responsabilità terapeutica dall'ambiente ospedaliero al paziente, rendendo ancora più rilevante il ruolo dell'educazione terapeutica e del monitoraggio clinico. Il miglioramento dell'aderenza terapeutica rappresenta un obiettivo fondamentale nella pratica oncologica moderna e si basa su un approccio multidisciplinare che coinvolge oncologi, farmacisti e infermieri⁶⁷. Tra le principali strategie si annoverano:

- educazione terapeutica del paziente, con spiegazione chiara del regime e dei possibili effetti collaterali;
- counseling farmacologico, in particolare per terapie orali come capecitabina;
- monitoraggio clinico e farmacologico continuo, anche tramite follow-up ravvicinati;
- gestione proattiva della tossicità, per prevenire interruzioni non necessarie;
- supporto psicologico e sociale, per ridurre l'impatto emotivo della malattia;
- utilizzo di strumenti di promemoria e semplificazione dei regimi terapeutici, quando possibile.

Nel trattamento del carcinoma del colon-retto, l'aderenza terapeutica rappresenta un determinante fondamentale dell'efficacia clinica, spesso paragonabile per importanza alla scelta del regime farmacologico stesso. La crescente complessità delle terapie e l'aumento dell'impiego di farmaci orali e mirati rendono indispensabile un approccio centrato sul paziente, in cui la personalizzazione della terapia includa non solo aspetti biologici e molecolari, ma anche fattori comportamentali e organizzativi⁶⁸.

CAPITOLO 4. PREVENZIONE E RUOLO DEL FARMACISTA

4.1. Prevenzione primaria

La prevenzione rappresenta uno degli strumenti più efficaci nella lotta contro il carcinoma del colon-retto (CRC), una delle neoplasie a maggiore impatto epidemiologico nei Paesi industrializzati. Nonostante i significativi progressi compiuti nell'ambito diagnostico e terapeutico, la riduzione dell'incidenza e della mortalità correlate a questa patologia continua a dipendere in larga misura dall'adozione di strategie preventive efficaci. In particolare, la prevenzione primaria mira a impedire l'insorgenza della malattia attraverso il controllo e la modifica dei fattori di rischio suscettibili di intervento, promuovendo comportamenti e stili di vita salutari nella popolazione generale⁶⁹. L'eziologia del carcinoma coloretale è multifattoriale e deriva dall'interazione tra predisposizione genetica e fattori ambientali. Sebbene l'età avanzata e alcune sindromi ereditarie rappresentino elementi di rischio non modificabili, numerose evidenze scientifiche hanno dimostrato come una quota significativa dei casi di carcinoma coloretale sia attribuibile a fattori comportamentali e ambientali potenzialmente correggibili. Si stima infatti che una consistente percentuale dei tumori del colon-retto potrebbe essere prevenuta attraverso adeguati interventi sugli stili di vita. Tra i principali fattori di rischio modificabili assume particolare rilevanza l'alimentazione. Le abitudini alimentari tipiche dei Paesi occidentali, caratterizzate da elevato consumo di carni rosse e carni lavorate, alimenti ad alta densità energetica, grassi saturi e zuccheri raffinati, risultano associate a un incremento del rischio di sviluppare il carcinoma coloretale. In particolare, il consumo frequente di carni processate è stato classificato come cancerogeno per l'uomo, mentre le carni rosse sono considerate probabilmente cancerogene. Diversi meccanismi biologici sono stati proposti per spiegare tale associazione, tra cui la formazione di composti N-nitroso, ammine eterocicliche e idrocarburi policiclici aromatici durante la lavorazione o la cottura ad alte temperature⁷⁰. Al contrario, un'alimentazione ricca di fibre, cereali integrali, frutta e verdura sembra esercitare un effetto protettivo. Le fibre alimentari contribuiscono ad aumentare il volume fecale, ridurre il tempo di transito intestinale e favorire la produzione di acidi grassi a catena corta derivanti dalla fermentazione batterica, come il butirrato, dotato di proprietà

antinfiammatorie e antiproliferative nei confronti delle cellule della mucosa intestinale. Inoltre, frutta e verdura costituiscono importanti fonti di vitamine, minerali e composti fitochimici ad azione antiossidante, in grado di contrastare i processi di danno ossidativo al DNA⁷¹. Un ulteriore fattore di rischio modificabile è rappresentato dall'obesità. Numerosi studi epidemiologici hanno evidenziato una correlazione tra eccesso ponderale e aumento dell'incidenza del carcinoma coloretale, soprattutto nel sesso maschile. Tale associazione appare mediata da molteplici meccanismi, tra cui insulino-resistenza, iperinsulinemia, aumento dei livelli di fattori di crescita insulino-simili, alterazioni del metabolismo degli ormoni sessuali e instaurarsi di uno stato infiammatorio cronico di basso grado⁷². Parallelamente, la sedentarietà costituisce un importante fattore predisponente. L'attività fisica regolare esercita infatti un ruolo protettivo attraverso differenti meccanismi fisiopatologici, contribuendo al mantenimento del peso corporeo, al miglioramento della sensibilità insulinica, alla modulazione dei processi infiammatori e alla riduzione del tempo di permanenza delle sostanze potenzialmente cancerogene all'interno del lume intestinale. Le principali linee guida internazionali raccomandano almeno 150 minuti settimanali di attività fisica moderata o 75 minuti di attività intensa, associati ad esercizi di rafforzamento muscolare⁷³. Anche il consumo di alcol e l'abitudine tabagica rappresentano fattori di rischio consolidati. L'assunzione elevata di bevande alcoliche è stata associata a un incremento del rischio di carcinoma coloretale attraverso meccanismi che comprendono l'azione tossica dell'acetaldeide, l'aumento dello stress ossidativo e l'interferenza con il metabolismo dei folati. Analogamente, il fumo di sigaretta espone l'organismo a numerose sostanze cancerogene che possono contribuire alla formazione e alla progressione degli adenomi coloretali e favorire l'insorgenza di neoplasie invasive. Negli ultimi anni, crescente interesse è stato rivolto anche al ruolo del microbiota intestinale nella carcinogenesi coloretale. Alterazioni qualitative e quantitative della composizione microbica, definite complessivamente come disbiosi, sembrano favorire processi infiammatori cronici e modificazioni metaboliche in grado di contribuire allo sviluppo tumorale. Sebbene le conoscenze attuali non consentano ancora di formulare specifiche raccomandazioni preventive basate sulla modulazione del microbiota, questo ambito rappresenta una promettente prospettiva per future strategie di prevenzione. Alla luce di tali evidenze, la prevenzione primaria del carcinoma coloretale deve fondarsi su interventi educativi mirati alla promozione di corretti stili di vita. In questo contesto, il farmacista può svolgere un ruolo fondamentale nell'attività di

counseling sanitario, sensibilizzando i cittadini sull'importanza di un'alimentazione equilibrata, dell'attività fisica regolare, della cessazione del fumo e della moderazione nel consumo di alcol. Grazie alla sua capillare presenza sul territorio e al frequente contatto con la popolazione, il farmacista rappresenta una figura privilegiata nella diffusione di messaggi di prevenzione e nella promozione della salute⁷³.

4.2. Prevenzione secondaria

Se la prevenzione primaria mira a ridurre l'incidenza della malattia, la prevenzione secondaria ha come obiettivo l'identificazione precoce delle lesioni precancerose o dei tumori in fase iniziale, quando le possibilità di guarigione risultano significativamente più elevate. Nel carcinoma del colon-retto, tale strategia riveste un'importanza fondamentale, considerando la lenta progressione della sequenza adenoma-carcinoma e la possibilità di intervenire prima che la lesione evolva verso forme invasive⁷⁴. Lo screening del carcinoma coloretale rappresenta uno degli esempi più efficaci di prevenzione oncologica organizzata. Numerosi studi hanno dimostrato che la diagnosi precoce consente di ridurre significativamente sia l'incidenza sia la mortalità della malattia, grazie all'identificazione e alla rimozione degli adenomi avanzati e al trattamento tempestivo dei carcinomi diagnosticati in stadi iniziali. Tra gli strumenti maggiormente utilizzati nei programmi di screening figura il test immunochimico fecale (FIT), basato sulla ricerca dell'emoglobina umana nelle feci mediante anticorpi specifici. Rispetto ai tradizionali test al guaiaco, il FIT presenta una maggiore sensibilità e specificità, non richiede restrizioni dietetiche e risulta caratterizzato da una migliore accettabilità da parte della popolazione. La semplicità di esecuzione e il costo relativamente contenuto ne hanno favorito l'adozione nei programmi organizzati di numerosi Paesi, compresa l'Italia⁷⁵. In Piemonte, il FIT rappresenta il test di primo livello adottato dal programma regionale di screening oncologico «Prevenzione Serena», che offre gratuitamente il controllo periodico alla popolazione target e consente la gestione degli appuntamenti e la consultazione degli esiti attraverso il portale Salute Piemonte. Nel contesto nazionale, i programmi di screening prevedono generalmente l'offerta gratuita del FIT ogni due anni ai soggetti appartenenti alle fasce d'età considerate a rischio medio, generalmente comprese tra i 50 e i 69 anni, sebbene alcune regioni abbiano progressivamente esteso tali limiti anagrafici. In presenza di un risultato positivo, il paziente viene indirizzato all'esecuzione di una colonscopia di approfondimento⁷⁵. La

colonscopia rappresenta infatti il gold standard diagnostico, consentendo la visualizzazione diretta della mucosa intestinale, l'esecuzione di biopsie e la contestuale rimozione delle lesioni polipoidi. Oltre al valore diagnostico, essa possiede quindi una funzione terapeutica e preventiva, interrompendo il naturale processo evolutivo della sequenza adenoma-carcinoma. Tuttavia, la natura invasiva dell'esame, la necessità di una preparazione intestinale adeguata e la minore accettabilità da parte di alcuni pazienti ne limitano l'utilizzo come metodica di screening di primo livello nella popolazione generale⁷⁶. Negli ultimi anni sono stati sviluppati ulteriori strumenti diagnostici, tra cui i test fecali basati sull'analisi del DNA tumorale, in grado di identificare specifiche alterazioni molecolari associate alla carcinogenesi coloretale. Sebbene tali metodiche abbiano mostrato risultati promettenti, soprattutto in termini di sensibilità nei confronti delle lesioni avanzate, il loro impiego su larga scala è ancora limitato da costi elevati e dalla necessità di ulteriori valutazioni di costo-efficacia. Un aspetto cruciale per il successo dei programmi di screening riguarda l'adesione della popolazione target. Nonostante le consolidate evidenze scientifiche a supporto della loro efficacia, i tassi di partecipazione risultano ancora inferiori agli obiettivi auspicati in molte realtà territoriali. Paura dell'esame, scarsa percezione del rischio, carenza di informazioni e difficoltà organizzative rappresentano alcune delle principali barriere all'adesione⁷⁷. In tale contesto, l'educazione sanitaria assume un ruolo determinante. La diffusione di informazioni corrette e facilmente comprensibili contribuisce ad aumentare la consapevolezza dei cittadini circa l'importanza della diagnosi precoce e dei benefici derivanti dalla partecipazione ai programmi di screening. Anche in questo ambito il farmacista, grazie alla sua accessibilità e al rapporto di fiducia instaurato con il cittadino, può svolgere una funzione strategica nell'attività di informazione e orientamento, favorendo l'adesione ai percorsi preventivi e contribuendo al raggiungimento degli obiettivi di salute pubblica.

4.3. Farmacia dei servizi

Negli ultimi anni il ruolo del farmacista ha subito una profonda trasformazione, evolvendo progressivamente da figura prevalentemente deputata alla dispensazione del farmaco a professionista sanitario attivamente coinvolto nella promozione della salute, nella prevenzione delle malattie e nella presa in carico del paziente. Tale cambiamento è stato favorito sia dall'aumento delle patologie croniche e dell'aspettativa di vita della

popolazione, sia dalla necessità di rendere il Servizio Sanitario Nazionale maggiormente orientato al territorio e alla prossimità delle cure. In questo contesto si inserisce il concetto di "farmacia dei servizi", che attribuisce alla farmacia territoriale nuove funzioni assistenziali e preventive, valorizzando le competenze professionali del farmacista e il suo rapporto diretto con il cittadino. In Italia, l'evoluzione normativa della professione trova il proprio fondamento nel Decreto Legislativo 3 ottobre 2009, n. 153, che ha introdotto la possibilità per le farmacie convenzionate di erogare nuovi servizi sanitari nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale. Tale modello organizzativo riconosce alla farmacia il ruolo di presidio sanitario di prossimità, facilmente accessibile alla popolazione e capace di contribuire in maniera significativa alle strategie di prevenzione e tutela della salute pubblica⁷⁸. L'ampia diffusione delle farmacie sul territorio nazionale rappresenta uno dei principali punti di forza di questo modello assistenziale. La possibilità di accedere facilmente ai servizi offerti, spesso senza necessità di prenotazione, favorisce infatti il contatto diretto con fasce di popolazione che potrebbero incontrare difficoltà nell'interfacciarsi con altre strutture sanitarie. Il farmacista si configura pertanto come uno dei professionisti maggiormente coinvolti nelle attività di educazione sanitaria e di counseling, contribuendo alla diffusione di informazioni corrette e basate sulle evidenze scientifiche⁷⁹. Nel contesto del carcinoma del colon-retto, il farmacista può svolgere un ruolo rilevante lungo l'intero percorso preventivo e assistenziale. In primo luogo, egli partecipa attivamente alla promozione degli stili di vita salutari, sensibilizzando la popolazione circa l'importanza di una dieta equilibrata ricca di fibre, della pratica regolare di attività fisica, del mantenimento di un adeguato peso corporeo e della riduzione del consumo di alcol e tabacco. Attraverso il counseling individuale, il farmacista contribuisce ad aumentare la consapevolezza dei cittadini rispetto ai fattori di rischio modificabili associati allo sviluppo della neoplasia coloretale⁸⁰. Particolarmente significativa è la partecipazione delle farmacie ai programmi di screening organizzato per il carcinoma coloretale. In numerose realtà regionali italiane, infatti, le farmacie territoriali collaborano con le aziende sanitarie locali nella distribuzione dei kit per la ricerca del sangue occulto fecale mediante test immunochimico (FIT), nella raccolta dei campioni e nella trasmissione degli stessi ai laboratori di riferimento. Tale coinvolgimento ha consentito di semplificare le procedure di accesso allo screening, ridurre gli ostacoli logistici e incrementare la partecipazione della popolazione target⁸¹. L'intervento del farmacista non si limita alla consegna del dispositivo diagnostico, egli

svolge un'importante funzione informativa, illustrando le modalità corrette di esecuzione del test, chiarendo eventuali dubbi e rassicurando il cittadino circa la semplicità e l'utilità della procedura. Inoltre, il farmacista può contribuire a contrastare paure e convinzioni errate che frequentemente rappresentano una barriera all'adesione ai programmi di screening. Diversi studi hanno evidenziato come il coinvolgimento delle farmacie territoriali nei programmi di prevenzione possa determinare un incremento significativo dei tassi di adesione, soprattutto nei soggetti meno propensi a ricorrere spontaneamente ai servizi sanitari tradizionali. Il rapporto fiduciario instaurato con il cittadino, unito alla facilità di accesso alla farmacia, favorisce infatti un'interazione più immediata e continuativa rispetto ad altri contesti assistenziali⁸¹. Il ruolo del farmacista assume particolare rilevanza anche nei confronti dei pazienti già sottoposti a trattamento per carcinoma coloretale. In questi soggetti, il professionista può contribuire al monitoraggio dell'aderenza terapeutica, soprattutto nel caso di terapie orali quali la capecitabina, verificando la corretta assunzione dei farmaci e promuovendo comportamenti finalizzati a migliorare la compliance. L'aderenza al trattamento costituisce infatti un elemento fondamentale per garantire il raggiungimento dei risultati terapeutici attesi e ridurre il rischio di progressione della malattia⁸². Contestualmente, il farmacista può fornire indicazioni utili per la gestione degli effetti indesiderati correlati alle terapie antineoplastiche, orientando il paziente verso adeguate strategie di supporto e favorendo, quando necessario, un tempestivo contatto con il medico curante o con il team oncologico di riferimento. Tale attività risulta particolarmente importante nella gestione di tossicità frequenti, quali diarrea, nausea, mucosite, sindrome mano-piede e neuropatia periferica, che possono compromettere significativamente la qualità di vita e influenzare negativamente l'aderenza ai trattamenti. Un ulteriore ambito di intervento riguarda l'identificazione di possibili interazioni farmacologiche. I pazienti oncologici sono spesso sottoposti a politerapie, sia per il trattamento della neoplasia sia per la gestione delle comorbidità concomitanti. Grazie alle proprie competenze farmacologiche, il farmacista è in grado di valutare il profilo terapeutico complessivo del paziente, individuando eventuali criticità e collaborando con gli altri professionisti sanitari per ottimizzare la sicurezza delle cure⁸³. L'evoluzione della professione verso un modello di assistenza centrato sul paziente richiede tuttavia un costante aggiornamento scientifico e il consolidamento della collaborazione interdisciplinare. La crescente complessità dei percorsi diagnostico-terapeutici impone infatti al farmacista l'acquisizione di competenze

sempre più avanzate in ambito oncologico, farmacologico e comunicativo, al fine di rispondere in maniera efficace ai bisogni assistenziali della popolazione. In conclusione, la prevenzione del carcinoma del colon-retto rappresenta un obiettivo prioritario di sanità pubblica che richiede l'integrazione di molteplici strategie, dalla promozione di stili di vita salutari all'implementazione dei programmi di screening organizzato. In tale scenario, il farmacista emerge come una figura professionale strategica, capace di coniugare competenze scientifiche, accessibilità territoriale e vicinanza al cittadino. Attraverso le attività proprie della farmacia dei servizi, il farmacista può contribuire concretamente all'aumento dell'adesione agli interventi preventivi, al miglioramento dell'educazione sanitaria e al supporto dei pazienti lungo tutto il percorso di cura, confermando il proprio ruolo centrale all'interno di un sistema sanitario orientato alla prevenzione, alla prossimità e alla continuità assistenziale.

CAPITOLO 5. PROSPETTIVE FUTURE

5.1. Nuove strategie terapeutiche

Negli ultimi decenni il trattamento del carcinoma del colon-retto ha conosciuto un'evoluzione significativa grazie all'introduzione di nuove conoscenze biologiche e molecolari che hanno consentito di superare progressivamente il tradizionale approccio basato esclusivamente sulla chemioterapia citotossica. L'identificazione dei principali meccanismi coinvolti nella carcinogenesi coloretale ha infatti aperto la strada allo sviluppo di strategie terapeutiche innovative, orientate verso bersagli molecolari specifici e caratterizzate da una maggiore selettività d'azione. Tra le prospettive più promettenti rientra il continuo sviluppo delle terapie biologiche. Sebbene farmaci come bevacizumab, cetuximab e panitumumab abbiano già modificato in modo sostanziale la gestione del carcinoma coloretale metastatico, la ricerca è attualmente focalizzata sull'identificazione di nuovi bersagli terapeutici in grado di ampliare ulteriormente le opzioni disponibili. L'obiettivo consiste nel superare i meccanismi di resistenza che frequentemente limitano l'efficacia dei trattamenti attualmente impiegati e nel migliorare la selezione dei pazienti che possono realmente beneficiare di una determinata terapia⁸⁵. Particolare interesse è rivolto alle alterazioni molecolari rare ma clinicamente rilevanti. Negli ultimi anni sono stati sviluppati farmaci diretti contro specifiche mutazioni genetiche, come quelle del gene *BRAF*, che caratterizzano una quota limitata ma significativa di pazienti affetti da carcinoma coloretale. L'associazione di inibitori di *BRAF* con farmaci anti-EGFR ha dimostrato risultati incoraggianti, evidenziando come l'approccio terapeutico stia progressivamente evolvendo verso una sempre maggiore personalizzazione⁸⁶. Un altro ambito di sviluppo riguarda i cosiddetti anticorpi bispecifici, molecole progettate per riconoscere simultaneamente due differenti bersagli biologici. Questa tecnologia consente di aumentare la specificità dell'azione terapeutica e di favorire un'interazione più efficace tra sistema immunitario e cellule tumorali. Sebbene molti di questi farmaci siano ancora oggetto di sperimentazione clinica, i risultati preliminari suggeriscono potenziali applicazioni future anche nel trattamento del carcinoma coloretale. Tra le innovazioni emergenti si collocano inoltre gli *antibody-drug conjugates* (ADC), costituiti dall'unione di un anticorpo monoclonale e di una molecola citotossica. Questo approccio consente di veicolare il farmaco direttamente verso le cellule tumorali che esprimono uno

specifico antigene, riducendo l'esposizione dei tessuti sani e migliorando il rapporto tra efficacia e tossicità. Gli ADC rappresentano una delle strategie più promettenti nell'ambito dell'oncologia moderna e potrebbero trovare applicazione sempre più ampia anche nel carcinoma coloretale⁸⁷. Un concetto particolarmente innovativo è rappresentato dal cosiddetto "digital twin" o "gemello digitale", spesso indicato in letteratura come *biological twinning* o *digital twinning*. Tale approccio prevede la creazione di un modello virtuale del paziente ottenuto mediante l'integrazione di dati clinici, genomici, radiologici, patologici e farmacologici. Attraverso sofisticati algoritmi computazionali, il gemello digitale potrebbe consentire di simulare la risposta individuale a differenti trattamenti prima della loro effettiva somministrazione, permettendo una selezione terapeutica sempre più precisa e personalizzata. Sebbene questa tecnologia sia ancora nelle fasi iniziali di sviluppo, essa rappresenta una delle prospettive più affascinanti della medicina di precisione⁸⁸. Parallelamente, la ricerca continua a esplorare nuove combinazioni terapeutiche che associano chemioterapia, farmaci biologici e immunoterapia. L'obiettivo consiste nel colpire simultaneamente differenti meccanismi coinvolti nella crescita tumorale, riducendo la probabilità di sviluppo di resistenze e aumentando l'efficacia complessiva del trattamento. In futuro, tali strategie potrebbero consentire di ottenere risultati sempre più soddisfacenti anche nei pazienti con malattia avanzata.

5.2. Terapie personalizzate

L'affermazione della medicina di precisione rappresenta una delle più importanti trasformazioni che stanno interessando l'oncologia contemporanea. A differenza dell'approccio tradizionale, basato principalmente sulle caratteristiche anatomopatologiche della neoplasia, la medicina personalizzata si fonda sull'identificazione delle specifiche alterazioni biologiche e molecolari presenti nel tumore di ciascun paziente. Nel carcinoma del colon-retto, la caratterizzazione molecolare è già entrata a far parte della pratica clinica routinaria attraverso la determinazione dello stato mutazionale di *KRAS*, *NRAS* e *BRAF* e la valutazione dell'instabilità dei microsatelliti (MSI). Tali biomarcatori consentono di selezionare i pazienti maggiormente responsivi a specifiche terapie e di evitare trattamenti potenzialmente inefficaci⁸⁹. L'evoluzione delle tecnologie di sequenziamento genomico sta tuttavia ampliando in maniera considerevole le possibilità offerte dalla medicina

personalizzata. Le piattaforme di *Next Generation Sequencing* (NGS) consentono infatti di analizzare simultaneamente centinaia di geni, permettendo l'identificazione di alterazioni molecolari potenzialmente utilizzabili come bersagli terapeutici. Grazie a tali tecnologie, diventa possibile definire un vero e proprio profilo molecolare individuale del tumore. In prospettiva futura, il concetto di personalizzazione potrebbe estendersi oltre la semplice analisi genomica. L'integrazione di informazioni provenienti da trascrittomica, proteomica, metabolomica e microbiomica consentirà probabilmente una comprensione sempre più completa della biologia tumorale. Questo approccio multidimensionale potrebbe favorire lo sviluppo di strategie terapeutiche altamente individualizzate, capaci di adattarsi alle caratteristiche biologiche specifiche di ciascun paziente. Un ruolo sempre più rilevante sarà inoltre svolto dalla biopsia liquida. L'analisi del DNA tumorale circolante (ctDNA) permette infatti di monitorare in tempo reale l'evoluzione molecolare della malattia attraverso un semplice prelievo ematico. Questa tecnologia potrebbe consentire l'identificazione precoce di recidive, il monitoraggio della risposta ai trattamenti e il riconoscimento tempestivo dei meccanismi di resistenza terapeutica, favorendo un adattamento dinamico delle strategie di cura⁹⁰. Le terapie personalizzate non si limitano tuttavia agli aspetti biologici della malattia. Anche caratteristiche individuali quali età, condizioni cliniche generali, comorbidità, assetto farmacogenetico e preferenze del paziente contribuiscono alla definizione di percorsi terapeutici sempre più personalizzati. In questo contesto, la personalizzazione delle cure assume una dimensione globale che pone il paziente al centro del processo decisionale⁹¹.

5.3. Intelligenza artificiale

L'intelligenza artificiale (AI) rappresenta una delle tecnologie emergenti con il maggiore potenziale di trasformazione nell'ambito dell'oncologia. La crescente disponibilità di grandi quantità di dati clinici e biologici ha infatti reso possibile l'applicazione di algoritmi avanzati capaci di supportare numerosi aspetti del percorso diagnostico e terapeutico⁹². Nel carcinoma del colon-retto, l'intelligenza artificiale trova applicazione innanzitutto nell'ambito della diagnosi precoce. Sistemi di apprendimento automatico sono già utilizzati per migliorare l'accuratezza dell'analisi delle immagini endoscopiche, facilitando il riconoscimento di polipi e lesioni precancerose durante la colonscopia. Tali strumenti possono contribuire a ridurre il rischio di lesioni non

identificate e aumentare l'efficacia complessiva dei programmi di screening. Un ulteriore campo di applicazione riguarda l'anatomia patologica digitale. Gli algoritmi di AI sono in grado di analizzare immagini istologiche ad alta risoluzione, identificando caratteristiche microscopiche associate a specifiche alterazioni molecolari o a differenti prognosi cliniche; questo approccio potrebbe favorire una diagnosi più rapida, standardizzata e riproducibile⁹². In aggiunta, l'intelligenza artificiale assume inoltre un ruolo centrale nell'analisi dei dati genomici; infatti, la crescente complessità delle informazioni generate dalle tecnologie di sequenziamento richiede strumenti avanzati in grado di elaborare grandi quantità di dati e identificare correlazioni biologicamente rilevanti. Attraverso algoritmi di machine learning, sarà possibile individuare nuovi biomarcatori, prevedere la risposta ai trattamenti e sviluppare modelli prognostici sempre più accurati. Anche la ricerca farmacologica potrebbe beneficiare significativamente dell'applicazione dell'intelligenza artificiale. Gli algoritmi predittivi consentono infatti di accelerare l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici e di simulare l'interazione tra farmaci e sistemi biologici, riducendo tempi e costi associati allo sviluppo di nuove molecole. Nonostante le enormi potenzialità, l'utilizzo dell'AI pone tuttavia importanti questioni etiche e organizzative. La qualità dei risultati dipende strettamente dall'affidabilità dei dati utilizzati per addestrare gli algoritmi e dalla trasparenza dei processi decisionali. Pertanto, l'intelligenza artificiale deve essere considerata come uno strumento di supporto alle decisioni cliniche e non come un sostituto del giudizio professionale del medico e degli altri operatori sanitari⁹³.

5.4. Evoluzione del ruolo del farmacista oncologo

L'evoluzione delle conoscenze scientifiche, l'introduzione di terapie sempre più innovative e la crescente complessità dei percorsi assistenziali stanno determinando una profonda trasformazione del ruolo del farmacista nell'ambito oncologico. Se in passato la sua attività era prevalentemente concentrata sulla preparazione e dispensazione dei farmaci antineoplastici, oggi il farmacista oncologo rappresenta una figura professionale sempre più integrata nei team multidisciplinari che si occupano della gestione del paziente affetto da tumore⁹⁴. L'oncologia moderna è caratterizzata da una rapida espansione delle opzioni terapeutiche disponibili. L'introduzione di farmaci biologici, immunoterapici, terapie target e trattamenti personalizzati richiede competenze altamente specialistiche in ambito farmacologico, farmacocinetico e farmacogenetico. In questo contesto, il

farmacista oncologo assume un ruolo fondamentale nella valutazione dell'appropriatezza prescrittiva, nella gestione delle interazioni farmacologiche e nel monitoraggio della sicurezza dei trattamenti⁹⁵. Una delle principali aree di sviluppo riguarda la medicina di precisione. La crescente disponibilità di biomarcatori molecolari e di test genomici rende necessario il coinvolgimento di professionisti in grado di interpretare correttamente le informazioni farmacogenetiche e di supportare il clinico nella scelta della terapia più appropriata. Il farmacista potrà contribuire alla valutazione del profilo farmacologico del paziente, individuando eventuali fattori che possano influenzare efficacia e tossicità dei trattamenti e favorendo una gestione sempre più personalizzata delle cure⁹⁶. Un ruolo particolarmente importante è rappresentato dalla gestione delle terapie orali. L'aumento del numero di farmaci somministrabili a domicilio ha infatti modificato profondamente il rapporto tra paziente e trattamento. Se da un lato tali terapie migliorano il comfort e la qualità di vita, dall'altro richiedono una maggiore responsabilizzazione del paziente e un monitoraggio più attento dell'aderenza terapeutica. In questo scenario il farmacista può svolgere attività di counseling, educazione sanitaria e follow-up, contribuendo a garantire la corretta assunzione dei farmaci e a ridurre il rischio di errori terapeutici⁹⁷. La farmacovigilanza rappresenta un ulteriore ambito di crescente rilevanza. Le nuove terapie oncologiche presentano spesso profili di tossicità differenti rispetto alla chemioterapia tradizionale e possono determinare eventi avversi complessi che richiedono un monitoraggio continuo. Il farmacista oncologo partecipa attivamente all'identificazione, alla segnalazione e alla gestione delle reazioni avverse, contribuendo al miglioramento della sicurezza dei trattamenti e alla raccolta di dati utili per la pratica clinica⁹⁸. Parallelamente, l'integrazione delle tecnologie digitali sta modificando le modalità operative della professione. Cartelle cliniche elettroniche, sistemi informatizzati di prescrizione, piattaforme di telemedicina e strumenti di monitoraggio remoto consentono una gestione più efficiente e sicura dei percorsi terapeutici. In futuro, il farmacista sarà sempre più coinvolto nell'utilizzo di tali tecnologie, partecipando all'analisi dei dati clinici e contribuendo alla definizione di strategie assistenziali basate sulle evidenze⁹⁹. Un altro aspetto rilevante riguarda la partecipazione ai *Molecular Tumor Board*, gruppi multidisciplinari costituiti da oncologi, anatomopatologi, genetisti, biologi molecolari e farmacisti, finalizzati alla discussione dei casi clinici complessi e all'interpretazione dei risultati delle analisi molecolari. In questi contesti il farmacista può contribuire alla valutazione delle opzioni terapeutiche disponibili, fornendo competenze specifiche

relative ai farmaci e ai possibili percorsi di trattamento¹⁰⁰. L'evoluzione della professione richiederà inevitabilmente un continuo aggiornamento delle competenze. Le rapide innovazioni che caratterizzano l'oncologia moderna impongono infatti percorsi formativi sempre più avanzati, finalizzati all'acquisizione di conoscenze in ambito genomico, bioinformatico, farmacoeconomico e gestionale. La formazione continua rappresenterà pertanto uno strumento indispensabile per consentire al farmacista di rispondere efficacemente alle nuove esigenze assistenziali. Nel contesto territoriale, il farmacista continuerà inoltre a svolgere un ruolo essenziale nella promozione della salute e nella prevenzione oncologica. L'evoluzione della farmacia dei servizi e il progressivo rafforzamento dell'assistenza territoriale potrebbero ampliare ulteriormente il coinvolgimento del farmacista nelle attività di screening, educazione sanitaria e supporto ai pazienti oncologici, favorendo una maggiore integrazione tra ospedale e territorio.

CONCLUSIONE

Il carcinoma del colon-retto rappresenta una delle principali sfide sanitarie a livello mondiale, sia per l'elevata incidenza sia per il significativo impatto clinico, sociale ed economico associato alla malattia. Negli ultimi decenni, i progressi ottenuti nella comprensione dei meccanismi biologici e molecolari alla base della carcinogenesi coloretale hanno profondamente modificato l'approccio diagnostico e terapeutico, consentendo lo sviluppo di strategie sempre più efficaci e personalizzate. L'identificazione di biomarcatori sierici, fecali, tissutali e genetici ha migliorato le possibilità di diagnosi precoce, prognosi e monitoraggio della malattia, contribuendo alla diffusione dei principi della medicina di precisione. Parallelamente, l'introduzione di farmaci biologici e immunoterapici ha ampliato in maniera significativa le opzioni terapeutiche disponibili, offrendo nuove prospettive di trattamento soprattutto nei pazienti con malattia avanzata. Le future innovazioni in ambito oncologico saranno probabilmente caratterizzate da una crescente integrazione tra genomica, biopsia liquida, intelligenza artificiale e tecnologie digitali. Tali strumenti consentiranno una caratterizzazione sempre più accurata della malattia e una selezione terapeutica altamente personalizzata, con l'obiettivo di massimizzare l'efficacia dei trattamenti e ridurre gli effetti indesiderati. In questo scenario in continua evoluzione, il farmacista è destinato ad assumere un ruolo sempre più centrale. Le competenze farmacologiche, unite alla capacità di operare in contesti multidisciplinari e di interagire direttamente con il paziente, rendono questa figura professionale un elemento fondamentale lungo tutto il percorso di prevenzione, diagnosi e cura del carcinoma coloretale. L'espansione della farmacia dei servizi, l'impiego delle nuove tecnologie e lo sviluppo della medicina personalizzata offriranno ulteriori opportunità di crescita professionale, rafforzando il contributo del farmacista all'interno dei moderni sistemi sanitari. Alla luce delle attuali conoscenze scientifiche e delle prospettive future, appare evidente come la gestione del carcinoma del colon-retto richieda un approccio sempre più integrato, multidisciplinare e orientato alla personalizzazione delle cure. Solo attraverso la collaborazione tra differenti figure professionali, l'innovazione tecnologica e il continuo avanzamento della ricerca sarà possibile migliorare ulteriormente i risultati clinici e la qualità di vita dei pazienti affetti da questa patologia.

Bibliografia

1. Anatomia umana. Kenneth S. Saladin. (2017)
2. Standring S (Ed.). Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice. 42nd Edition. Elsevier; 2020
3. Kenhub. Large intestine: Anatomy, blood supply and innervation (2025)
4. Nayak, S. B., & Anilkumar, A. C. (2023). Physiology, Large Intestine. In StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
5. Ma J, Giovannucci E, Pollack M, et al. A prospective study of plasma C-peptide and colo-rectal cancer risk in man. J Natl Cancer Inst 2004
6. Ye W, Romelsjo A, Augustsson K et al. No excess risk of colo- rectal cancer among alcoholics followed for up to 25 years. Br J Cancer 2003
7. Lewis JD, Ng K, Hung KE et al. Detection of proximal adenomatous polyps by screening sigmoidoscopy: a systematic review and meta-analysis of screening colonoscopy. Arch Intern Med 2003
8. Anna Romano, Raffaella Gatta. Lesioni precancerose: tumore gastrico e del colon-retto. AIRC (2025)
9. Sobin LH, Wittekind C (eds). TNM: Classification of Ma- lignant Tumors. 6th Ed. New York, NY: Wiley-Liss; 2002.
10. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al. (eds). AJCC Cancer Staging Manuel. 6th Ed. New York, NY: Springer, 2002.
11. Benson III AB, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for Stage II colon cancer. J Clin Oncol 2004; 22:3408-19.
12. Compton CC. Greene FL. The staging of colorectal cancer: 2004 and beyond. CA Cancer J Clin 2004; 54:295-308.
13. Ganesh, K., et al. (2019). *The biology and clinical management of colorectal cancer*. The Lancet, 394(10212), 1953-1966.
14. National Cancer Institute. (2024). *Colorectal Cancer Screening (PDQ®)–Health Professional Version*. National Institutes of Health (NIH). * World Health Organization. (2023). *Colorectal cancer fact sheet*. International Agency for Research on Cancer (IARC).
15. Sveen A, Kopetz S, Lothe RA. Biomarker-guided therapy for colorectal cancer: strength in complexity. Nat Rev Clin Oncol. 2020;17(1):11-32.
16. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK, et al. Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline from the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. J Clin Oncol. 2017;35(13):1453-1486.
17. Zhang J, Zhu H, Liu W, Miao J, Mao Y, Li Q. Prognostic and predictive molecular biomarkers in colorectal cancer. Front Oncol. 2025; 15:1532924.
18. Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? Clin Chem. 2001;47(4):624-630.
19. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. J Clin Oncol. 2006;24(33):5313-5327.
20. Aranda E, Cervantes A, Arnold D, et al. Ibero-American consensus review and incorporation of new biomarkers for clinical practice in colorectal cancer. Cancers (Basel). 2023; 15:4034.
21. Bosch LJW, Carvalho B, Fijneman RJA, et al. Molecular tests for colorectal cancer screening. Clin Colorectal Cancer. 2011;10(1):8-23.
22. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, Levin TR, Lavin P, Lidgard GP, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. N Engl J Med. 2014;370(14):1287-1297.
23. Lee JK, Liles EG, Bent S, Levin TR, Corley DA. Accuracy of fecal immunochemical tests for colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. Ann Intern Med. 2014;160(3):171-181
24. Imperiale, T. F., et al. (2014). *Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening*. The New England Journal of Medicine, 370(14), 1287-1297.
25. Tonus, C., et al. (2012). *Faecal pyruvate kinase isoenzyme type M2 for colorectal cancer screening: A meta-analysis*. World Journal of Gastroenterology, 18(30), 4004-4011.
26. Vyas, D., et al. (2014). *Fecal calprotectin: diagnostic marker and target in colorectal cancer*. Frontiers in Oncology, 4, 13.
27. Boland CR, Goel A. Microsatellite instability in colorectal cancer. Gastroenterology. 2010;138(6):2073-2087.
28. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nat Med. 2015;21(11):1350-1356.
29. Munro, A. J., et al. (2005). *p53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review*. British Journal of Cancer, 92(3), 434-444.

30. Nitti, D., et al. (2002). *Evaluation of nm23-H1 protein expression in colorectal carcinoma by immunohistochemistry: a clinicopathological and prognostic study*. Clinical Cancer Research, 8(11), 3433-3437.
31. Zheng, H., et al. (2014). *Multiparametric protein panels including p53 and NME1 for prognostic stratification in stage II and III colorectal cancer*. Tumor Biology, 35(6), 5211-5219.
32. Luo, Z. W., et al. (2019). *Prognostic value of Ki-67 expression in colorectal cancer: A meta-analysis*. BMC Gastroenterology, 19(1), 123.
33. Muzny, D. M., et al. (The Cancer Genome Atlas Network). (2012). *Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer*. Nature, 487(7407), 330-337.
34. De Roock W, Claes B, Bernasconi D, et al. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. Lancet Oncol. 2010;11(8):753-762.
35. Cathomas, G., et al. (2012). *PIK3CA mutations in colorectal cancer: a review of their clinical and biological significance*. International Journal of Colorectal Disease, 27(12), 1547-1553.
36. Isaksson-Mettävainio, M., et al. (2012). *SMAD4 expression is a strong independent prognostic factor in colorectal cancer*. Modern Pathology, 25(12), 1610-1617.
37. Vasan, N., et al. (2019). *A roadmap for next-generation sequencing in clinical oncology*. Nature Reviews Clinical Oncology, 16(11), 665-681.
38. Henriksen, T. V., et al. (2022). *Circulating Tumor DNA Analysis for Assessment of Recurrence Risk, Benefit of Adjuvant Therapy, and Early Relapse Detection in Colon Cancer*. Journal of Clinical Oncology, 40(16), 1783-1794.
39. Kotani, D., et al. (GALAXY study - CIRCULATE-Japan). (2023). *Circulating tumor DNA dynamics and recurrence risk in patients with resectable colorectal cancer*. Nature Medicine, 29(4), 931-939.
40. Siravegna, G., et al. (2015). *Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients*. Nature Medicine, 21(5), 50-53.
41. Pantel, K., & Alix-Panabières, C. (2019). *Liquid biopsy and minimal residual disease — latest advances and implications for cure*. Nature Reviews Clinical Oncology, 16(7), 409-424.
42. Bartel, D. P. (2004). *MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function*. Cell, 116(2), 281-297.
43. Sun, Z., et al. (2019). *The role of long non-coding RNAs in colorectal cancer: From molecular mechanism to clinical application*. International Journal of Molecular Sciences, 20(9), 2321.
44. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol. 2007;9(6):654-659.
45. Song, L., et al. (2020). *The performance of the SEPT9 gene methylation test in the screening and diagnosis of colorectal cancer: A meta-analysis*. Frontiers in Oncology, 10, 1515.
46. Weisenberger, D. J., et al. (2006). *CpG island methylator phenotype underlies sporadic colorectal cancers with BRAF mutation*. Nature Genetics, 38(7), 787-793.
47. Rubinstein, M. R., et al. (2013). *Fusobacterium nucleatum promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/β-catenin signaling via its FadA adhesin*. Cell Host & Microbe, 14(2), 195-206.
48. Hasin, Y., et al. (2017). *Multi-omics approaches to disease*. Genome Biology, 18(1), 1-15.
49. Duffy, M. J., et al. (2014). *Clinical utility of biomarkers in colorectal cancer*. International Journal of Cancer, 134(11), 2513-2522.
50. Ganesh, K., et al. (2019). *The biology and clinical management of colorectal cancer*. The Lancet, 394(10212), 1953-1966.
51. Lovich-Sapola, J., et al. (2019). *Biomarkers for colorectal cancer screening*. Geriatrics, 4(1), 7.
52. Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, eds. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 14th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2022.
53. European Society for Medical Oncology (ESMO). *Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines*. Ann Oncol. 2022. Available from: <https://www.esmo.org/guidelines/gastrointestinal-cancers/metastatic-colorectal-cancer>
54. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. Nat Rev Cancer. 2003;3(5):330-338.
55. Walko CM, Lindley C. Capecitabine: a review. Clin Ther. 2005;27(1):23-44.
56. Raymond E, Faivre S, Woynarowski JM, Chaney SG. Oxaliplatin: mechanism of action and molecular pharmacology. Semin Oncol. 1998;25(2 Suppl 5):4-12.
57. Cunningham D, Pyrhönen S, James RD, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care vs supportive care alone. N Engl J Med. 1998;339:113-119.
58. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment of colon cancer. N Engl J Med. 2004;350:2343-2351.
59. Tournigand C, André T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX vs reverse sequence in metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2004;22(2):229-237.
60. Cassidy J, Clarke S, Diaz-Rubio E, et al. XELOX vs FOLFOX-4 in metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2008;26(12):2006-2012.
61. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan/5-FU/leucovorin in metastatic CRC. N Engl J Med. 2004;350:2335-2342.

62. Van Cutsem E, Köhne CH, Láng I, et al. Cetuximab plus chemotherapy in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2009;360:1408–1417.
63. Douillard JY, Siena S, Cassidy J, et al. Panitumumab vs best supportive care in KRAS wild-type mCRC. *J Clin Oncol*. 2010;28(31):4697–4705.
64. Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch-repair deficiency predicts response to PD-1 blockade. *N Engl J Med*. 2015;372:2509–2520.
65. André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in MSI-H metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2020;383:2207–2218.
66. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in mismatch-repair deficient metastatic CRC. *J Clin Oncol*. 2017;35(7):745–753.
67. Osterberg L, Blaschke T. Adherence to medication. *N Engl J Med*. 2005;353:487–497.
68. DiMatteo MR. Variations in patients' adherence to medical recommendations. *Med Care*. 2004;42(3):200–209.
69. World Health Organization. *Cancer: Key facts*. Geneva: WHO; 2024.
70. World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. *Diet, Nutrition, Physical Activity and Colorectal Cancer*. Continuous Update Project Expert Report 2018.
71. Song M, Garrett WS, Chan AT. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. **Gastroenterology**. 2015;148(6):1244–1260.e16.
72. Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**. 2019;16(12):713–732.
73. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. **Lancet**. 2019;394(10207):1467–1480.
74. Ganesh, K., et al. (2019). *The biology and clinical management of colorectal cancer*. The Lancet, 394(10212), 1953-1966.
75. Argilés, G., et al. (ESMO Guidelines Committee). (2020). *Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. *Annals of Oncology*, 31(10), 1291-1305.
76. Rex, D. K., et al. (2017). *Screening for colorectal cancer: United States Multi-Society Task Force recommendations*. *Gastroenterology*, 153(1), 307-323.
77. Honein-AbouHaidar, G. N., et al. (2016). *Barriers and facilitators of colorectal cancer screening uptake: a systematic review of qualitative research*. *BMJ Open*, 6(7), e011564.
78. Decreto Legislativo 3 ottobre 2009, n. 153. *Individuazione di nuovi servizi erogati dalle farmacie nell'ambito del Servizio sanitario nazionale, in attuazione dell'articolo 11 della legge 18 giugno 2009, n. 69*. (Gazzetta Ufficiale Serie Generale n. 257 del 04-11-2009).
79. Mossialos, E., et al. (2015). *From "shopkeepers" to health care professionals: Is there a future for community pharmacy in European health systems?* *Health Policy*, 119(4), 548-561.
80. Sanci, A., et al. (2021). *The pivotal role of community pharmacies in colorectal cancer screening campaigns: A systematic review*. *Research in Social and Administrative Pharmacy*, 17(10), 1675-1683.
81. Sanci, A., et al. (2021). *The pivotal role of community pharmacies in colorectal cancer screening campaigns: A systematic review*. *Research in Social and Administrative Pharmacy*, 17(10), 1675-1683.
82. Macintosh, P. W., et al. (2015). *Adherence to oral chemotherapy in colorectal cancer: Focus on capecitabine*. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 21(3), 198-206.
83. Kavanagh, D. J., et al. (2020). *Collaboration between community pharmacists and oncology teams: a systematic review of integrated care models*. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 45(4), 601-614.
84. Edwards, S. J., et al. (2014). *An integrated health system approach to oral chemotherapy management: Patient-centered care in action*. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 71(21), 1855-1863.
85. Kopetz S, Grothey A, Yaeger R, et al. Encorafenib, Cetuximab, and Binimetinib in BRAF V600E-Mutated Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2019;381:1632–1643.
86. Parseghian CM, Loree JM, Morris VK, et al. Anti-EGFR-resistant clones decay exponentially after progression. *Ann Oncol*. 2019;30(2):243–249.
87. Siravegna G, Marsoni S, Siena S, Bardelli A. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14(9):531–548.
88. Clara Mosquera-Lopez, Peter G. Jacobs. Digital twins and artificial intelligence in metabolic disease research. 2024 Jun;35(6):549-557.
89. Echle A, Grabsch HI, Quirke P, et al. Clinical-grade detection of microsatellite instability in colorectal tumors by artificial intelligence. *Nat Med*. 2020;26(7):1054–1056.
90. Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, et al. Liquid biopsies come of age. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(4):223–238.
91. Vogenberg FR, Isaacson Barash C, Pursel M. Personalized medicine: part 1. Evolution and development into theranostics. *Pharm Ther*. 2010;35(10):560–576.
92. Jiang F, Jiang Y, Zhi H, et al. Artificial intelligence in healthcare: past, present and future. *Stroke Vasc Neurol*. 2017;2(4):230–243.
93. Topol EJ. High-performance medicine: the convergence of human and artificial intelligence. *Nat Med*. 2019;25(1):44–56.
94. Cavallo J, Formica V, Iaffaioli RV, et al. The evolving role of the oncology pharmacist in multidisciplinary cancer care. *J Oncol Pharm Pract*. 2021;27(5):1200–1208.

94. Patel JM, Holle LM. Role of oncology pharmacists in the management of oral anticancer therapies. *Am J Health Syst Pharm.* 2018;75(9):e214–e222.
95. Krynetskiy, E., & Bader, D. E. (2015). *Pharmacogenomics in clinical practice: the role of the clinical pharmacist*. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 8, 49-57.
96. O'Bryant, C. L., et al. (2014). *Advanced pharmacy practice framework for oral chemotherapy management*. *Journal of the Advanced Practitioner in Oncology*, 5(4), 254-266.
97. Thiel, M., et al. (2021). *The role of clinical pharmacists in adverse drug reaction management in oncology: a systematic review*. *European Journal of Cancer Care*, 30(3), e13410.
98. Margolis, A. R., et al. (2019). *Telehealth applications in oncology pharmacy practice*. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 76(18), 1425-1432.
99. Luchini, C., et al. (2020). *The European Society for Medical Oncology (ESMO) Precision Medicine Glossary*. *Annals of Oncology*, 31(11), 1433-1442.
100. Van Der Velden, D. L., et al. (2017). *The Molecular Tumor Board of the Center for Personalized Cancer Treatment: Is it feasible?* *The Oncologist*, 22(5), 515-522.
101. Standring S, editor. *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 42nd ed. London: Elsevier; 2020.
102. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet.* 2019;394(10207):1467-1480.
103. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell.* 1990;61(5):759-767.
104. Di Pietro M. Vie molecolari alternative di cancerogenesi nel cancro colo-rettale. *Giorn Ital End Dig.* 2008.
105. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009.
106. Plebani M, Basso D. Vecchi e nuovi marcatori del cancro del colon. *Riv Ital Med Lab.* 2008.
107. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH, et al. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med.* 2014;370(14):1287-1297. doi:10.1056/NEJMoa1311194.
108. Wu Y, Fu Y, Guo L, et al. Combined detection of Nm23-H1 and p53 is correlated with survival rates of patients with stage II and III colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2017;13(3):1297-1303.
109. Hubbard JM, Alberts SR. Alternate dosing of cetuximab for patients with metastatic colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res.* 2013;6(2):47-55.
110. Mauri G, Vitiello PP, Sogari A, et al. Liquid biopsies to monitor and direct cancer treatment in colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2022;127(4):394-407.
111. Tsukihara H, Nakagawa F, Sakamoto K, et al. Folic acid-metabolizing enzymes affect the efficacy of 5-fluorouracil-based chemotherapy in colorectal cancer. *PLoS One.* 2016;11(9):e0163961.
112. Chai Y, Zhang Y, Zhou X, et al. The effective combination therapies with irinotecan for colorectal cancer. *Front Pharmacol.* 2024.
113. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(5):391-400.
114. Zhao B, Wang L, Qiu H, et al. Mechanisms of resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017;8(3):3980-4000.
115. Oliveira AF, Bretes L, Furtado I. Review of PD-1/PD-L1 inhibitors in metastatic dMMR/MSI-H colorectal cancer. *Front Oncol.* 2019;9:396.

Ringraziamenti

Alla mia mamma, sei stata la persona che più di chiunque altro ha creduto in me, anche quando io stessa faticavo a farlo. Grazie per avermi sempre sostenuta, per aver saputo trovare le parole giuste nei momenti di sconforto, per avermi dato forza e incoraggiato a non arrendermi mai. Ogni esame, ogni difficoltà e ogni piccolo traguardo li abbiamo affrontati insieme: questa laurea è anche tua, perché senza il tuo amore, la tua pazienza e la tua fiducia costante in me, questo percorso non sarebbe stato lo stesso.

Al mio papà, grazie per aver reso questo percorso un po' più leggero, per avermi sempre strappato un sorriso nei momenti di sconforto e per avermi ricordato che un esame andato male non è mai la fine del mondo. Grazie per avermi consolato quando ne avevo bisogno e per essere stato sempre fiero di me, in ogni traguardo raggiunto e in ogni difficoltà affrontata.

Al mio cagnolino Teo, sei arrivato nell'estate che ha preceduto l'inizio di questa avventura universitaria e sei diventato da subito il mio migliore amico. Abbiamo trascorso insieme giornate interminabili di studio, momenti di stanchezza, ansie pre-esame e piccole grandi soddisfazioni. Grazie per esserci sempre stato, con la tua presenza silenziosa, il tuo affetto incondizionato e la capacità di rendere più belle anche le giornate più difficili. Sei l'amore della mia vita e, in fondo, questa laurea è anche un po' tua.

Alla mia nonna Esa, perché ogni esame l'abbiamo vissuto insieme. Non aspettavo altro che venire da te e raccontarti tutto, che fosse un successo da festeggiare o una delusione da superare. Tu hai sempre condiviso con me ogni emozione, gioendo dei miei traguardi e soffrendo per le mie difficoltà come se fossero le tue. Grazie per esserci stata sempre, con il tuo affetto, il tuo interesse sincero e il tuo amore incondizionato.

Ad Alessandro, Carola, Carlo e Samuele, i miei migliori amici da sempre. Grazie per aver condiviso con me ogni momento di questo percorso, per aver ascoltato sfoghi, ansie, gioie e delusioni.

Non vedevo l'ora che arrivasse il weekend per stare con voi, ridere fino alle lacrime e dimenticare, anche solo per qualche ora, la pesantezza degli esami e dell'università.

Grazie per essere stati la mia valvola di sfogo, il mio porto sicuro e la dimostrazione che le amicizie più belle sono quelle che crescono insieme e ci accompagnano in ogni fase della vita. Vi voglio bene.

A Marta, Camilla, Giorgia, Guendalina e Andrea, le mie amiche del cuore, arrivate in momenti diversi della mia vita, ma diventate tutte indispensabili. Grazie per essermi state accanto come poche persone hanno saputo fare: per ogni in bocca al lupo prima di un esame, per ogni messaggio di incoraggiamento e per ogni parola di conforto nei momenti più difficili. Avete condiviso con me ansie, gioie, traguardi e delusioni, facendomi sentire amata e sostenuta in ogni passo di questo percorso. Vi amo immensamente e non so davvero come avrei fatto senza di voi. Questa laurea porta con sé anche un pezzetto di ciascuna di voi.

Ai "Falzi", grazie per aver reso questi sei anni molto più di un semplice percorso universitario. Con voi ho trovato un gruppo speciale, capace di trasformare anche le giornate più pesanti in momenti indimenticabili. Non vedevo l'ora di arrivare in università ogni mattina, perché sapevo che avrei passato la giornata a ridere, scherzare e creare ricordi bellissimi. Porterò sempre nel cuore ogni avventura, ogni esperienza condivisa e tutte quelle risate che hanno reso più leggere ansie, lezioni ed esami. Grazie per aver colorato un percorso così impegnativo e per avermi regalato alcuni dei ricordi più belli della mia vita. Quando ripenserò a questi sei anni, penserò soprattutto a noi, alle nostre giornate insieme e alla felicità che mi avete fatto vivere.

Ad Altea, una delle scoperte più belle che questo percorso universitario mi abbia regalato. Non pensavo che da una semplice compagna di università saresti diventata la mia migliore amica, e invece in poco tempo sei entrata nella mia vita in modo naturale e speciale. Grazie per aver condiviso con me ansie, risate, giornate infinite in università e momenti che porterò sempre nel cuore. Grazie per esserci stata con leggerezza e presenza sincera, e per aver trasformato un incontro nato tra libri ed esami in un legame così importante. Non avrei potuto desiderare compagna migliore per affrontare questa avventura.

A Lavinia, la mia gemella, la mia compagna di viaggio in questa avventura. Abbiamo iniziato questo percorso insieme, affrontando gli stessi sogni, le stesse paure e gli stessi

traguardi, e oggi lo concludiamo fianco a fianco. Non avrei potuto desiderare una persona migliore con cui condividere questi sei anni. Grazie per aver studiato con me, per aver vissuto ogni esame, ogni ansia e ogni soddisfazione al mio fianco, sempre pronta a sostenermi e a ricordarmi che insieme tutto sembrava un po' più semplice. Sono infinitamente orgogliosa di noi e non vedo l'ora di scoprire dove ci porterà il futuro, insieme.

Alla Professoressa Garavaglia, mia relatrice, conosciuta al secondo anno di università, quando la laurea sembrava solo un sogno. Grazie per avermi accompagnato in questi anni con la sua disponibilità, la sua gentilezza e la sua costante presenza. Mi ha visto crescere, affrontare difficoltà e raggiungere traguardi, sempre pronta a sostenermi e a dedicarmi tempo e attenzione. La ringrazio di cuore per aver reso questo percorso ancora più significativo e per avermi guidata fino alla conclusione di questa tesi.

Infine, ringrazio me stessa. Per non aver mai smesso di crederci, anche quando sembrava impossibile. Per aver avuto il coraggio di andare avanti, nonostante siano stati gli anni più difficili della mia vita e nonostante le tante volte in cui ho pensato di non essere all'altezza. Oggi mi guardo indietro con gratitudine e avanti con orgoglio: questa laurea è il simbolo della mia forza, della mia determinazione e della persona che sono diventata.

