



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO**

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA**

**TESI DI LAUREA**

**APPROCCI MULTIDIMENSIONALI NELLA GESTIONE DEL CARCINOMA  
MAMMARIO: DALLA PREVENZIONE ALLA TERAPIA PERSONALIZZATA**

**Relatore: Chiar.ma Prof.ssa Maria Teresa Conconi**

**Laureanda: Sara Diamante**

**Matr. 1197154**

**Anno Accademico 2023 - 2024**





## INDICE

<b>INTRODUZIONE</b>	1
<b>CAPITOLO 1</b>	3
<b>CARCINOMA MAMMARIO</b>	3
<i>1.1 Classificazione</i>	4
1.1.1 <i>Classificazione istopatologica</i>	4
1.1.2 <i>Classificazione clinica</i>	6
1.1.3 <i>Classificazione molecolare</i>	8
<i>1.2 Eziologia</i>	12
1.2.1 <i>Fattori genetici</i>	12
1.2.2 <i>Fattori non genetici</i>	14
<i>1.3 Patogenesi</i>	21
1.3.1 <i>Vie di segnalazione nell'oncogenesi mammaria</i>	24
1.3.2 <i>Il microambiente tumorale</i>	30
<b>CAPITOLO 2</b>	35
<b>TERAPIE ATTUALI PER IL CARCINOMA MAMMARIO</b>	35
<i>2.1 Approcci terapeutici personalizzati in base al sottotipo tumorale</i>	37
2.1.1 <i>Terapie per tumori ER+</i>	38
2.1.2 <i>Terapie per tumori HER2+</i>	42
2.1.3 <i>Terapie per tumori TNBC</i>	45
<b>CAPITOLO 3</b>	49
<b>PREVENZIONE</b>	49
<i>3.1 Previsione del rischio di carcinoma mammario</i>	49

<b><i>3.2 Opzioni preventive attualmente disponibili</i></b>	52
<i>3.2.1 Interventi chirurgici</i>	52
<i>3.2.2 Modifica dello stile di vita</i>	53
<i>3.2.3 Farmaci per la riduzione del rischio clinicamente disponibili</i>	55
<i>3.2.4 Nuovi agenti preventivi</i>	58
<b>CONCLUSIONE</b>	61
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	63

## INTRODUZIONE

Il carcinoma mammario rappresenta una delle principali cause di mortalità per cancro tra le donne, principalmente per la sua notevole eterogeneità, la possibile formazione di metastasi e la difficoltà di trattamento. Nonostante negli ultimi decenni siano emerse numerose nuove terapie mirate, che sono state rapidamente incorporate nelle cure di routine, la resistenza al trattamento rappresenta tuttora una sfida cruciale.

Nel presente elaborato, viene esaminata in modo dettagliato la classificazione del carcinoma mammario, basata su criteri istopatologici, clinici e molecolari. Questo approccio consente di suddividere tale carcinoma in diversi sottotipi, quali tumori ER+ (esprimenti il recettore degli estrogeni, ER), HER2+ (esprimenti il recettore 2 del fattore di crescita epiteliale umano, HER) e TNBC (carcinoma mammario triplo negativo), fondamentali per l'individuazione delle strategie terapeutiche ottimali e personalizzate per ogni singola paziente.

È stata poi approfondita l'eziologia del carcinoma mammario, che include fattori di rischio genetici e non, ciascuno dei quali contribuisce in modo significativo all'insorgenza del tumore. Inoltre, la complessità della malattia rende cruciale l'identificazione dei principali meccanismi patogenetici sottostanti, descritti nel presente elaborato, al fine di poter identificare i soggetti a rischio e implementare strategie preventive e terapeutiche efficaci.

Successivamente, si è dedicata particolare attenzione alle terapie attualmente disponibili per il trattamento del carcinoma mammario, differenziate in base ai diversi sottotipi molecolari. Nei tumori ER+, le terapie endocrine come il tamoxifene e gli inibitori dell'aromatasi costituiscono la principale scelta terapeutica, mentre nei tumori HER2+ vengono utilizzate terapie mirate come trastuzumab e pertuzumab, al fine di inibire la segnalazione del recettore HER2 e ridurre, di conseguenza, la proliferazione cellulare tumorale. La scelta terapeutica per i TNBC risulta essere più complessa perché si tratta di tumori estremamente eterogenei e aggressivi: le opzioni terapeutiche disponibili

includono chemioterapie convenzionali e nuove strategie come le terapie immunitarie e gli inibitori di PARP, che hanno dimostrato efficacia in specifici sottogruppi di pazienti.

A conclusione si è voluto affrontare il tema della prevenzione del carcinoma mammario, analizzando le varie opzioni preventive disponibili. Evidenze scientifiche sottolineano come un cambiamento nello stile di vita, che può includere una dieta equilibrata, attività fisica regolare e limitato consumo di alcol, possa contribuire in modo significativo a ridurre il rischio di sviluppare la malattia. Un'ulteriore misura riguarda l'uso di farmaci preventivi come il tamoxifene e il raloxifene, che vengono utilizzati in donne ad alto rischio di sviluppare carcinoma mammario per ridurre il rischio di insorgenza della malattia. Infine, per le donne con mutazioni nei geni BRCA1 e BRCA2, gli interventi chirurgici preventivi come la mastectomia bilaterale rappresentano una strategia efficace per ridurre drasticamente il rischio di sviluppare il carcinoma mammario.

## CAPITOLO 1

### CARCINOMA MAMMARIO

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da *Nolan, J.Lindeman e E.Visvader (2023)* e da *L.Britt, Cuzick e Phillips (2020)*

Il carcinoma mammario costituisce un problema di portata globale, rappresentando il tumore più diffuso tra le donne, con oltre 2,3 milioni di nuovi casi stimati e più di 685.000 decessi registrati nel 2020. Nonostante l'elevata incidenza di questa malattia in tutto il mondo, notevoli miglioramenti nei tassi di sopravvivenza si sono verificati nel corso degli ultimi vent'anni. Tale progresso è in gran parte attribuibile a pratiche di screening come la mammografia e allo sviluppo di nuove terapie, ma probabilmente anche alle strategie preventive attualmente in uso.

Il carcinoma mammario è un insieme di malattie biologicamente diverse, ciascuna con variazioni nelle caratteristiche patologiche, genomiche e nell'espressione genica, così come nel microambiente tumorale circostante. Questa diversità influisce sul modo in cui la malattia progredisce e su come risponde al trattamento. Pertanto, è fondamentale identificare le cause e i meccanismi molecolari che portano allo sviluppo della patologia, al fine di individuare la strategia terapeutica più efficace.

## ***1.1 Classificazione***

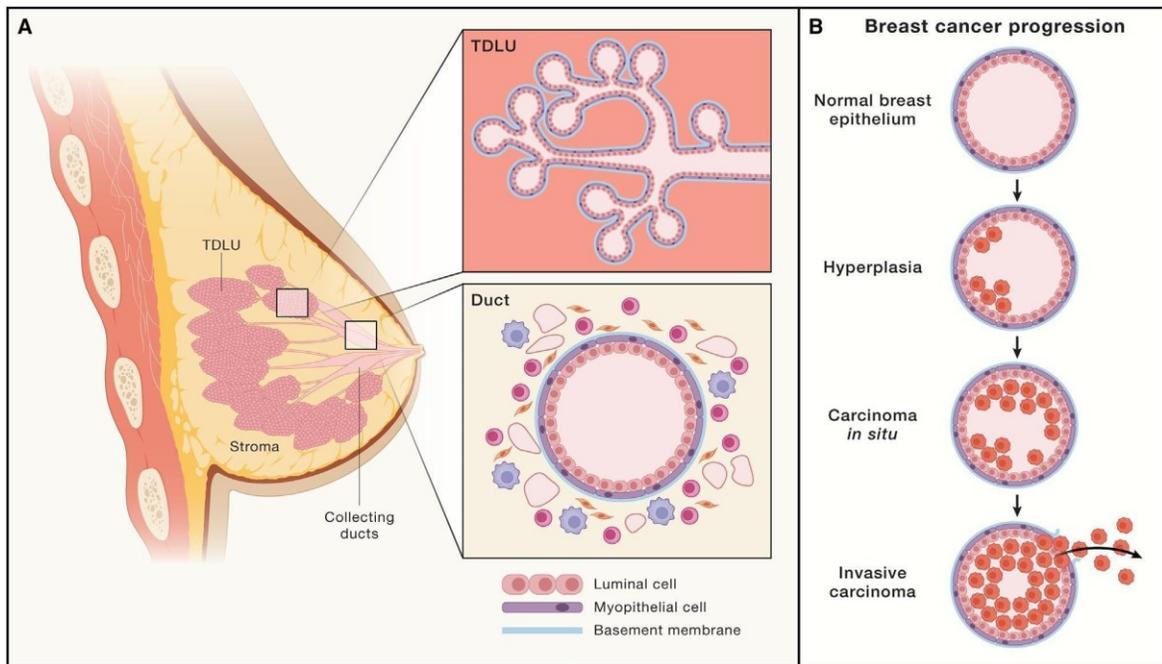
I tumori mammari sono classificati considerando diversi aspetti, tra cui l'istopatologia, le caratteristiche cliniche dei pazienti e le caratteristiche molecolari delle cellule tumorali.

### ***1.1.1 Classificazione istopatologica***

La classificazione istopatologica dei tumori alla ghiandola mammaria si basa sulla loro morfologia, rilevabile tramite osservazione al microscopio.

La mammella umana è costituita principalmente da tessuto ghiandolare, tessuto adiposo e tessuto connettivo. Le ghiandole mammarie sono composte da lobuli, che producono latte durante la gravidanza e l'allattamento, e da dotti che trasportano il latte verso il capezzolo. I lobuli terminali e i dotti terminali costituiscono le unità duttali lobulari terminali (TDLUs), le unità funzionali della ghiandola mammaria. Durante la gravidanza e l'allattamento, le TDLUs subiscono un'importante espansione e un aumento dell'attività secretoria per produrre e rilasciare latte attraverso i dotti terminali verso i capezzoli. Il tessuto adiposo circonda e supporta le ghiandole mammarie, mentre il tessuto connettivo fornisce struttura e sostegno all'intera mammella (**Figura 1A**).

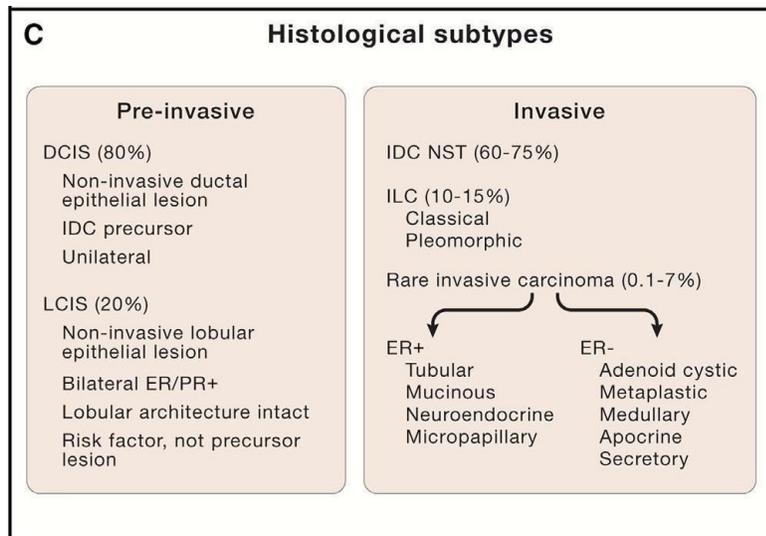
I tumori mammari possono essere divisi in due categorie principali sulla base della loro localizzazione all'interno della mammella: carcinomi in situ e carcinomi invasivi. Nei carcinomi in situ, le cellule tumorali proliferano rimanendo confinate all'interno dei dotti o dei lobuli, dove formano lesioni pre-invasive. Quando queste cellule attraversano la membrana basale e diffondono nel tessuto circostante, si parla di carcinoma invasivo (**Figura 1B**).



**Figura 1.** **A)** Rappresentazione schematica della struttura della mammella tratta da *Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023)*. **B)** Modello semplificato della patogenesi del carcinoma mammario tratta da *Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023)*

Il carcinoma duttale in situ (DCIS) è il tipo più comune di tumore pre-invasivo, e solo una percentuale limitata di casi (10-30%) progredisce verso il cancro invasivo (**Figura 2**). Al momento, non esistono biomarcatori definitivi per prevedere con precisione se e quando il tumore diventerà invasivo o se diffonderà formando metastasi in altre zone dell'organismo.

I tumori invasivi alla ghiandola mammaria variano nella loro morfologia e vengono classificati principalmente in carcinoma duttale invasivo (IDC), che costituisce la maggior parte dei casi (60-75%), e carcinoma lobulare invasivo (ILC), che comprende circa il 10-15% dei tumori. L'IDC può essere ulteriormente suddiviso in vari sottotipi con differenti forme di crescita, tra i quali il "no special type" (NST) è il più comune. L'ILC, invece, si caratterizza per una morfologia in cui le cellule tumorali infiltrano lo stroma circostante in modo dis-coesivo, seguendo un modello a fila indiana. Oltre a questi tipi comuni, esistono varianti istologiche rare che costituiscono una piccola percentuale (0.1-7%) dei tumori al seno (**Figura 2**).



**Figura 2.** Principali sottotipi istologici delle lesioni pre-invasive e dei carcinomi mammari invasivi. Tratta da *Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023)*. DCIS: carcinoma duttale *in situ*; LCIS: carcinoma lobulare *in situ*; IDC NST: carcinoma duttale invasivo, tipo non speciale; ILC: carcinoma lobulare invasivo; TNBC: carcinoma mammario triplo negativo; GES: gene expression signature.

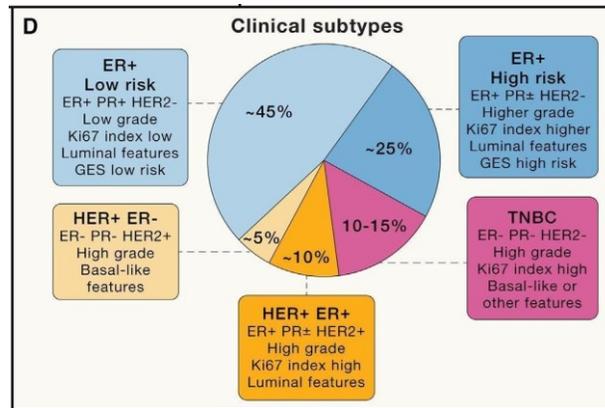
L'analisi istopatologica dei carcinomi duttali e lobulari viene sfruttata dal sistema di classificazione di Bloom Richardson, che valuta il grado di differenziazione dei tumori basandosi su tre criteri: la forma e la dimensione dei nuclei, il numero di mitosi e la formazione di strutture ghiandolari. I tumori vengono classificati in grado 1 (ben differenziati), grado 2 (moderatamente differenziati) e grado 3 (poco differenziati) in base al punteggio ottenuto. Questo sistema aiuta a determinare l'aggressività del tumore e a guidare le decisioni di trattamento.

### 1.1.2 Classificazione clinica

I tumori alla ghiandola mammaria possono essere classificati clinicamente in base all'espressione di alcuni recettori, tra cui il recettore degli estrogeni (ER, essenziale per la classificazione clinica), il recettore del progesterone (PR, marcatore accessorio) e il recettore 2 del fattore di crescita epiteliale umano (HER2/ERBB2). Si distinguono tre principali gruppi:

- 1) **Tumori ER+**, che esprimono recettori degli estrogeni (ER) sulla loro superficie cellulare e costituiscono circa il 70% di tutti i tumori. La presenza di ER suggerisce che il tumore è sensibile agli estrogeni e può rispondere a terapie che bloccano o riducono l'azione di questi ormoni. Come evidenziato nella **Figura 3**, i tumori ER+ possono essere distinti in ER+ ad alto o basso rischio, in base a fattori come il grado del tumore e la sua attività di proliferazione (misurata attraverso l'indice Ki67);
- 2) **Tumori HER2+**, che esprimono livelli elevati di HER2, associati a una crescita cellulare accelerata e una maggiore aggressività; possono essere ulteriormente suddivisi in base all'espressione di ER in due sottogruppi principali: HER2+ER+ (~70%) e HER2+ER- (~30%), i quali hanno caratteristiche molecolari e prognostiche distinte. I tumori HER2+ rappresentano circa il 15% di tutti i tumori e sono estremamente eterogenei;
- 3) **Carcinoma mammario triplo negativo (TNBC)**, costituisce approssimativamente il 15% di tutti i tumori. Si distingue per la mancanza di espressione dei recettori degli estrogeni (ER), del recettore del progesterone (PR) e del recettore 2 del fattore di crescita epiteliale umano (HER2). Questi tumori sono pertanto considerati clinicamente molto aggressivi, con un grado più elevato e una prognosi sfavorevole. I pazienti affetti da TNBC sono più inclini a recidive precoci e metastasi, che contribuiscono in modo significativo alla mortalità correlata al carcinoma mammario.

La classificazione in base a ER, PR e HER2 aiuta a determinare il profilo biologico del tumore e guida le decisioni terapeutiche, contribuendo a personalizzare il trattamento per ciascun paziente.



**Figura 3.** Confronto tra i principali sottotipi clinici di carcinoma mammario, in base a caratteristiche istologiche ed espressione dei recettori ER, PR ed HER2 e del marcatore di proliferazione Ki67. Tratta da Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023).

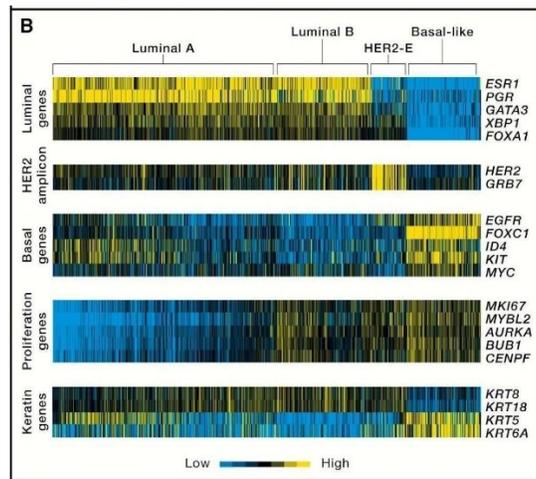
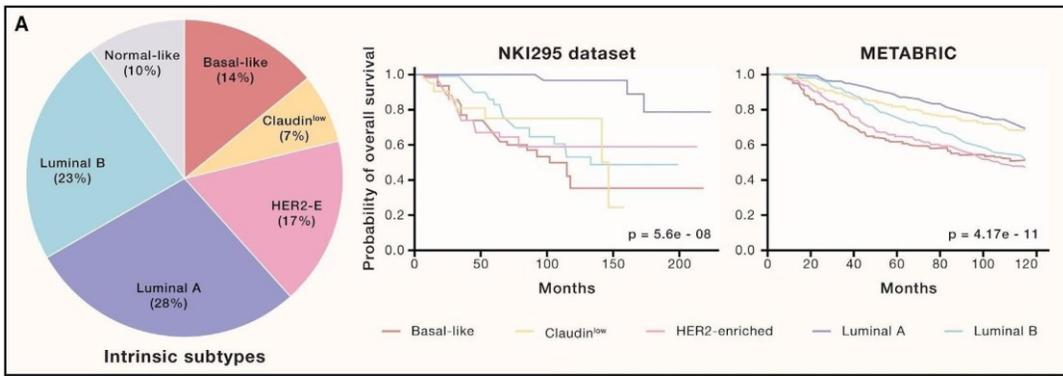
### 1.1.3 Classificazione molecolare

Grazie a studi innovativi di profilazione dell'espressione genica, sono stati identificati cinque principali sottotipi molecolari intrinseci, ciascuno caratterizzato da proprietà biologiche, prognostiche e cliniche distinte (**Figura 4A e 4B**):

- 1) **Tumori luminal A**, sono solitamente di natura ER+PR+ e mostrano un basso livello di espressione di HER2. Sono caratterizzati da un basso grado di aggressività e solitamente rispondono bene alla terapia ormonale. Esprimono alcuni geni specifici, tipici dei tumori sensibili agli estrogeni, quali ESR1, GATA3, XBP1 e FOXA1. Questi tumori sono generalmente a crescita lenta e hanno una prognosi più favorevole rispetto agli altri sottotipi di tumore.
- 2) **Tumori luminal B**, esprimono anch'essi recettori degli estrogeni (ER+), ma mostrano livelli più elevati di proliferazione cellulare rispetto ai tumori luminal A. Sono quindi più propensi ad una crescita rapida e meno sensibili al trattamento rispetto ai tumori luminal A.
- 3) **Tumori HER2-arricchiti (HER2-E)**, si caratterizzano per la presenza di un'elevata espressione del gene HER2/ERBB2, coinvolto nella regolazione della crescita cellulare. L'elevata espressione di HER2 promuove la crescita cellulare accelerata e

l'aggressività del tumore e porta ad una prognosi spesso meno favorevole rispetto ad altri sottotipi. Tuttavia, possono rispondere bene alla terapia anti-HER2 e ai trattamenti combinati, offrendo un'opportunità di miglioramento della prognosi e della sopravvivenza. Anche se la maggior parte dei tumori clinicamente positivi per HER2 appartiene al sottotipo molecolare HER2-E, non tutti i tumori HER2+ appartengono a questo sottotipo. Allo stesso modo, alcuni tumori che non sono clinicamente positivi per HER2 possono comunque mostrare il profilo molecolare HER2-E.

- 4) **Tumori basal-like**, per la maggior parte caratterizzati dalla mancanza di espressione di ER, PR e HER2. Mostrano un'elevata attività proliferativa e una tendenza a metastatizzare precocemente. Inoltre, esprimono tipicamente marcatori associati alle cellule basali dell'epitelio mammario, come le citocheratine 5/6 e 17, che ne facilitano l'identificazione tramite immunistochemica. Inoltre, questi tumori sono spesso associati a mutazioni ereditarie nel gene BRCA1, coinvolto nella riparazione del DNA, e presentano di conseguenza una maggiore instabilità cromosomica. Per i sottotipi basal-like la terapia ormonale è spesso inefficace, e il trattamento coinvolge solitamente chemioterapia, immunoterapia o terapie mirate a specifici bersagli molecolari.
- 5) **Tumori claudin-low**, sono una forma meno comune di carcinoma mammario e prendono il nome dalla bassa espressione delle claudine, proteine coinvolte nella formazione delle giunzioni occludenti tra cellule epiteliali, caratteristica molecolare distintiva di questo sottotipo di tumore. Questi tumori sono spesso tripli negativi e sono caratterizzati dall'espressione di marcatori associati alle cellule staminali (indifferenziate) e da una aumentata risposta immunitaria. Queste caratteristiche possono contribuire alla loro resistenza alla terapia e alla loro tendenza a recidivare, pertanto i tumori claudin-low possono richiedere un trattamento personalizzato e aggressivo per gestire la malattia.



**Figura 4. A)** Rappresentazione della frequenza e della prognosi dei sottotipi intrinseci di cancro al seno. Tratta da *Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023)*. **B)** Dati di espressione genica dei geni chiave associati ai sottotipi intrinseci di cancro al seno. Tratta da *Nolan, J. Lindeman e E. Visvader (2023)*.

La delineazione di sottotipi molecolari intrinseci ha portato allo sviluppo di nuovi test che guardano alle caratteristiche molecolari del tumore e rappresentano un valido aiuto per i medici nella scelta del trattamento più adatto per le pazienti affette. Questi test, o firme prognostiche, sono divisi in due generazioni. Quelli di prima generazione includono:

- **Oncotype DX**, che misura l'espressione di un pannello di 21 geni nel tumore e aiuta a predire il rischio di recidiva dopo il trattamento. Ha dimostrato di essere utile soprattutto nell'identificazione di pazienti con tumori ER+, senza coinvolgimento linfonodale, che possono beneficiare della chemioterapia oltre alla terapia ormonale;

- **MammaPrint**, che misura l'espressione di 70 geni associati alla prognosi del tumore. Si dimostra efficace nell'identificare pazienti a basso rischio di recidiva che potrebbero evitare la chemioterapia;
- **Indice di grado genomico (GGI)**, che analizza l'espressione di un insieme di geni correlati all'aggressività del tumore, valutandone la complessità genomica e fornendo una valutazione della sua aggressività.

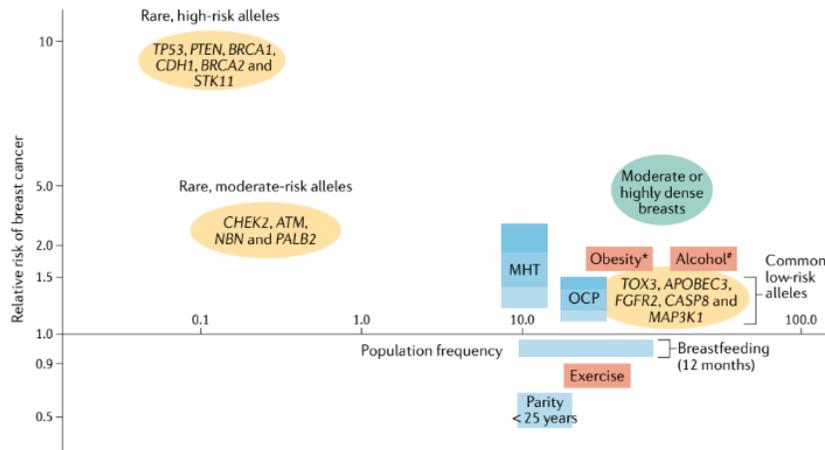
Ci sono, inoltre, test di seconda generazione che offrono informazioni diverse, i quali, però, non sono stati tuttora convalidati:

- **Prosigna**, utilizza una firma di 50 geni associati ai sottotipi molecolari tra cui luminal A, luminal B, HER2-E e basal-like, per prevedere il rischio di recidiva e identificare il tipo di tumore nelle donne in post-menopausa;
- **Endopredict**, valuta l'espressione genica di un pannello di 12 geni associati al rischio di recidiva nei tumori ER+, fornendo una valutazione del rischio di recidiva a lungo termine e della risposta alla terapia ormonale;
- **Breast Cancer Index**, combina l'analisi dell'espressione genica di un pannello di geni associati alla proliferazione cellulare con l'analisi del recettore degli estrogeni (ER). Fornisce informazioni sul rischio di recidiva a lungo termine e sulla risposta alla terapia ormonale nei tumori ER+.

In sintesi, questi test risultano essere fondamentali per la personalizzazione del trattamento del carcinoma mammario, evitando la chemioterapia quando non è necessaria e riducendo gli effetti collaterali per le pazienti.

## 1.2 Eziologia

Le cause del carcinoma mammario coinvolgono una serie fattori che influenzano notevolmente il rischio di sviluppare la malattia. Tali rischi possono essere distinti in due categorie: genetici e non genetici (**Figura 5**).



**Figura 5.** Rappresentazione grafica dei modificatori di rischio del carcinoma mammario e frequenza nella popolazione. Tratta da *L. Britt, Cuzick e Phillips (2020)*

### 1.2.1 Fattori genetici

I fattori genetici risultano avere un forte impatto sulla probabilità di sviluppare il carcinoma mammario. Le mutazioni genetiche ereditarie sono responsabili dei casi di carcinoma familiare. Nella maggior parte dei casi, si tratta di mutazioni rare ad alta penetranza nei geni associati al carcinoma mammario BRCA1 e BRCA2, oppure più raramente in altri geni (a penetranza alta, media o bassa); in altri casi si tratta di polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) a bassa penetranza che possono influenzare il rischio complessivo di sviluppare il tumore.

**Mutazioni genetiche ereditarie.** Si stima che circa il 5-10% di tutti i casi di carcinoma mammario sia dovuto a mutazioni genetiche ereditarie a livello dei geni BRCA1 e BRCA2, che risultano essere le più comuni e altamente penetranti. Tali geni, situati rispettivamente nei cromosomi 17q21 e 13q12-13, sono essenziali per il mantenimento dell'integrità del DNA e svolgono un ruolo critico nella riparazione delle rotture del DNA a doppio filamento

tramite il meccanismo della ricombinazione omologa. Questi tumori associati a mutazioni in BRCA1 e BRCA2 mostrano caratteristiche uniche: i tumori BRCA1-mutati sono spesso triplo negativi, tipicamente più aggressivi, con esordio precoce e maggiore resistenza alle terapie, mentre quelli BRCA2-mutati sono spesso ER+ o, più raramente, triplo negativi e manifestano una maggiore sensibilità alle terapie ormonali. Le donne portatrici di mutazioni BRCA1 e BRCA2 mostrano un notevole rischio nello sviluppo di carcinoma mammario nel corso della vita: si stima, infatti, che i portatori di mutazioni BRCA1 abbiano un rischio cumulativo del 72%, mentre gli individui con mutazioni BRCA2 del 69%. Inoltre, tali mutazioni sono associate a un aumento del rischio di cancro ovarico.

Sono state inoltre identificate mutazioni in altri geni che aumentano il rischio di sviluppare la malattia, sebbene meno comuni rispetto alle mutazioni BRCA1 e BRCA2. Interessano geni, tra cui CHEK2, PALB2, TP53, PTEN e altri, che sono coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA e nella regolazione della crescita cellulare.

**Varianti genetiche (a basso rischio).** I polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) sono varianti genetiche comuni che coinvolgono la sostituzione di un singolo nucleotide nel DNA; queste varianti possono essere presenti in regioni del genoma che influenzano la suscettibilità al carcinoma mammario, come regioni associate alla regolazione della crescita cellulare, alla risposta infiammatoria e alla metabolizzazione degli ormoni. Circa il 20% dei casi di carcinoma mammario familiare è causato da SNPs; sebbene ciascun SNP singolarmente abbia un impatto modesto sul rischio di sviluppare il tumore, quando combinati insieme possono contribuire in modo cumulativo al rischio complessivo.

L'identificazione di tutti questi fattori genetici, integrata con la classificazione clinica, ha permesso di comprendere meglio le caratteristiche dei diversi sottotipi di tumore, favorendo lo sviluppo di trattamenti personalizzati mirati ed efficaci. Nel carcinoma mammario, infatti, sono stati identificati numerosi processi mutazionali che contribuiscono alla diversità e alla complessità della malattia. In particolare, le mutazioni più frequenti sono state individuate a livello della chinasi lipidica PIK3CA e del soppressore tumorale TP53. Inoltre, sebbene le mutazioni nei geni "driver" siano cruciali, sembra che i cambiamenti nel numero di copie dei geni (CNA) siano predominanti nel quadro genetico complessivo di questa malattia.

### *1.2.2 Fattori non genetici*

I fattori di rischio non genetici nel carcinoma mammario includono una serie di influenze ambientali, comportamentali e stili di vita che possono aumentare la probabilità di sviluppare questa malattia.

#### **Fattori ormonali**

Il ruolo degli ormoni esogeni nel rischio di carcinoma mammario ha subito un notevole cambiamento nell'ultimo secolo; l'uso prolungato di contraccettivi ormonali e terapie ormonali sostitutive per la menopausa (MHT) è associato ad un aumentato rischio di cancro ER+. Attualmente, la pillola contraccettiva orale risulta essere il metodo contraccettivo più utilizzato, con circa un quarto delle donne in età fertile nei paesi ad alto reddito che ne fanno uso. L'età di inizio e la durata dell'utilizzo influenzano il rischio, con un aumento significativo in caso di uso precoce e prolungato soprattutto per le donne con una storia familiare di carcinoma mammario.

Analogamente, la terapia ormonale durante la menopausa può aumentare il rischio di carcinoma mammario, soprattutto se include sia estrogeni che progestinici. Questo rischio aumenta con la durata dell'utilizzo e persiste anche dopo la cessazione della terapia, incrementando l'incidenza di tumori che rispondono agli estrogeni (ER+).

#### **Età del menarca**

Un inizio precoce del menarca è stato associato a un aumentato rischio di sviluppare il carcinoma mammario, con un incremento del 5% del rischio per ogni anno in anticipo rispetto all'età media del menarca.

Diversi fattori influenzano l'età delle prime mestruazioni, tra cui l'esposizione al fumo di sigaretta durante la gravidanza, la dieta, lo stato emotivo, il peso corporeo della madre e l'Indice di Massa Corporea (IMC). In particolare, è stata riscontrata una stretta relazione inversa tra l'IMC e l'età del menarca: studi recenti hanno identificato 30 nuovi loci genetici associati al momento della comparsa del menarca, che codificano per proteine coinvolte nel metabolismo lipidico e nella crescita cellulare.

## **Età della menopausa**

Un'insorgenza più tardiva della menopausa è stata associata ad un maggiore rischio di carcinoma mammario, con un incremento del 2,9% per ogni anno di ritardo rispetto all'età media della menopausa naturale, che attualmente è compresa tra i 51,4 e i 53,4 anni. Fattori come lo status socio-economico, il numero di figli, l'uso della pillola anticoncezionale e il fumo possono influenzare l'età della menopausa, oltre a fattori di natura ereditaria.

## **Gravidanza**

Le donne nullipare sono più esposte al rischio di sviluppare carcinoma mammario. È stato osservato che il parto prima dei 35 anni offre una difesa a lungo termine contro questa malattia, con una notevole diminuzione del rischio fino al 70% per le donne che partoriscono prima dei 20 anni. Questo effetto protettivo è stato principalmente osservato nei tumori ER+, mentre è più dibattuto per altri sottotipi molecolari.

Le ragioni esatte per cui la gravidanza fornisce una protezione contro il carcinoma mammario non sono ancora completamente comprese. Tuttavia, alcune teorie suggeriscono che ciò possa essere dovuto a una riduzione del numero di cellule staminali mammarie (MaSC), che sono considerate la probabile origine della trasformazione cancerogena, o a una minore sensibilità agli estrogeni.

Tuttavia, la protezione si manifesta solo dopo un periodo iniziale di incremento del rischio, che coincide con l'involuzione post-partum, in cui la ghiandola mammaria torna alla sua condizione pre-gravidanza. Durante questo processo, che può durare fino a 10 anni, si osserva un temporaneo aumento delle cellule mieloidi, che può compromettere la risposta immunitaria e favorire un ambiente permissivo per la formazione di tumori.

Una volta completata l'involuzione, le donne che hanno partorito beneficiano di una protezione a lungo termine contro il carcinoma mammario. Durante questo periodo si verificano cambiamenti immunitari persistenti nel tempo, che potrebbero contribuire alla riduzione del rischio e includono un aumento dell'espressione di geni coinvolti nella sorveglianza immunitaria, nell'attivazione delle cellule T e nell'induzione dell'apoptosi delle cellule tumorali. Questo livello di protezione tende però a diminuire progressivamente con

l'avanzare dell'età al primo parto e, per le donne che iniziano a partorire dopo i 35 anni, il rischio di carcinoma mammario può superare addirittura quello delle donne che non hanno mai avuto figli.

Quando una donna ha il suo primo figlio in età più avanzata, il periodo di aumento transitorio del rischio persiste infatti più a lungo.

### **Allattamento al seno**

Sebbene l'allattamento al seno offra generalmente benefici nella riduzione del rischio di carcinoma mammario, può causare cambiamenti fisiologici e ormonali che potenzialmente aumentano il rischio in modo temporaneo. Ad esempio, durante l'allattamento si osserva un aumento delle glicoproteine stanniocalcina 1 e 2 (STC1 e STC2), le quali inibiscono l'azione della proteasi pappalisina-1 (nota anche come PAPP-A). Questa proteasi è coinvolta nella regolazione del fattore di crescita insulino-simile (IGF) e la sua inibizione può favorire la formazione del tumore.

### **Densità mammografica**

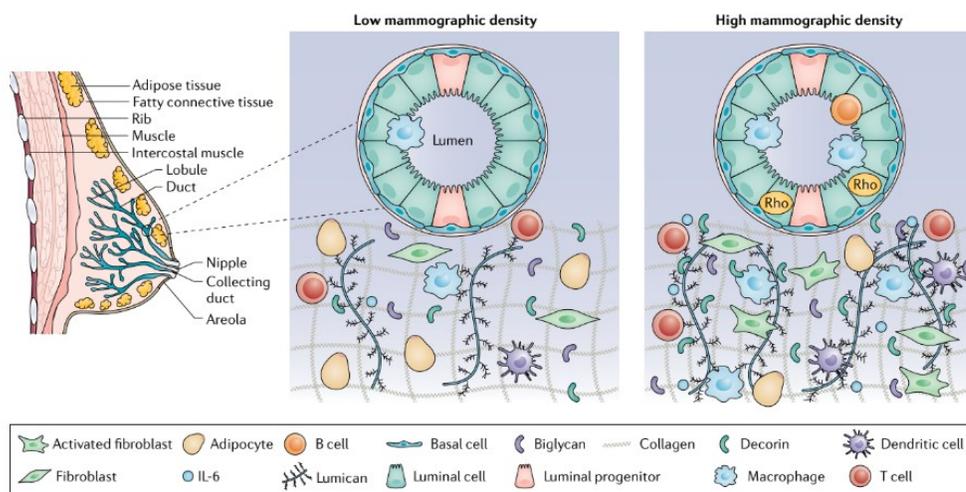
Diversi studi hanno dimostrato che, dopo aver considerato l'età e l'indice di massa corporea (IMC), la densità mammografica (MD) costituisce un fattore di rischio indipendente per il carcinoma mammario. La densità mammografica è una misura della proporzione di tessuto mammario denso rispetto al tessuto adiposo nelle immagini mammografiche e viene valutata in 4 categorie secondo il sistema Breast Imaging Reporting and Data System (BI-RADS):

- 1) quasi completamente adiposa
- 2) densità sparsa
- 3) densità eterogenea
- 4) estremamente densa

Tuttavia, questo metodo presenta alcune limitazioni, come il fatto che fornisce solo stime categoriali della densità (piuttosto che una misura continua) e dipende dall'interpretazione del lettore.

Diversi studi hanno dimostrato che il rischio di sviluppare il tumore è più alto nelle donne con MD elevata rispetto alle donne con MD bassa. Esistono evidenti differenze biologiche tra il tessuto mammario ad alta densità mammografica (HMD) e quello a bassa densità mammografica (LMD) che possono influenzare lo sviluppo e la progressione del carcinoma mammario (**Figura 6**):

- aumento del collagene strutturato → il tessuto con HMD mostra un'elevata presenza di collagene strutturato, noto per favorire lo sviluppo del carcinoma mammario nelle aree in cui è densamente presente o viene stimolato a crescere;
- associazione con proteoglicani → il tessuto con HMD è associato ai proteoglicani che si legano al collagene, come lumicano, decorina, fibromodulina e biglicano. Tra questi, il lumicano può influenzare l'inizio e la progressione del tumore promuovendo l'angiogenesi, la crescita delle cellule epiteliali e la loro migrazione e invasione;
- firme di espressione genica nei fibroblasti stromali → i fibroblasti stromali nelle zone con HMD esprimono geni associati a processi che stimolano lo sviluppo del cancro, come la risposta allo stress, l'infiammazione, la staminalità e la trasduzione del segnale;
- microambiente immunitario pro-tumorigenico → il tessuto con HMD mostra un microambiente immunitario che promuove lo sviluppo del tumore, con un aumento delle cellule del sistema immunitario innato (come macrofagi e cellule dendritiche) e adattativo (come cellule T e B). Inoltre, si osserva un incremento dei livelli di interleuchina-6 (IL-6), che potrebbe favorire l'evoluzione delle cellule tumorali, permettendo loro di sfuggire alla regolazione immunitaria.



**Figura 6.** Rappresentazione schematica delle differenze biologiche tra alta e bassa densità mammografica. Tratta da *L. Britt, Cuzick e Phillips (2020)*.

### Sovrappeso e obesità

L'indice di massa corporea (IMC) è associato al rischio carcinoma mammario in modo diversificato tra le donne in premenopausa e in postmenopausa; è stato infatti ipotizzato che l'effetto dell'IMC sul rischio di cancro possa essere mediato principalmente attraverso l'effetto degli ormoni sessuali, soprattutto degli estrogeni.

- **donne in postmenopausa:**

un elevato IMC dopo la menopausa è associato a un significativo aumento del rischio di carcinoma mammario, soprattutto per il sottotipo ER+. Questa associazione potrebbe essere dovuta a vari fattori, tra cui un aumento della conversione degli androgeni in estrogeni, la segnalazione dell'insulina e del fattore di crescita insulino-simile (IGF), la fisiopatologia delle adipochine e l'infiammazione cronica;

- **donne in premenopausa:**

al contrario, un alto IMC nelle donne in premenopausa sembra essere legato a un rischio inferiore di cancro, soprattutto per il sottotipo ER+. Questa relazione contrastante può essere attribuita a meccanismi ormonali complessi, inclusa la soppressione della produzione di estrogeni ovarici e l'effetto inibitorio degli ormoni androgeni sui tessuti mammari.

Tuttavia, l'associazione tra IMC e rischio di carcinoma mammario può variare anche in base ad altri fattori come l'età, la storia riproduttiva, la terapia ormonale sostitutiva e lo stile di vita.

Anche l'IMC durante l'adolescenza può influenzare il rischio di carcinoma mammario in età adulta. Durante questo periodo, infatti, il corpo subisce importanti cambiamenti ormonali. L'accumulo di tessuto adiposo, correlato a un alto IMC, può influenzare l'equilibrio ormonale attraverso una maggiore produzione di estrogeni che sono noti per promuovere la crescita delle cellule mammarie e aumentare il rischio di sviluppare tumori ER+ in età adulta.

### **Inattività fisica**

L'inattività fisica è strettamente correlata al rischio di carcinoma mammario. Uno dei motivi principali è l'aumento del peso corporeo, poiché la mancanza di esercizio può portare all'accumulo di grasso, che a sua volta è associato a livelli più alti di estrogeni che favoriscono la crescita delle cellule tumorali. Inoltre, può causare una disregolazione degli ormoni e una compromissione del sistema immunitario, aumentando così il rischio di cancro. Infine, l'inattività fisica può contribuire all'infiammazione cronica nel corpo che può favorire lo sviluppo del cancro. In generale, uno stile di vita attivo e sano può ridurre il rischio di questa malattia.

### **Alcol**

Alcuni studi indicano che il consumo moderato di alcol, ossia da 5 a 10 grammi al giorno (equivalenti a circa 3-6 bicchieri di vino a settimana), aumenta del 15% il rischio di sviluppare il carcinoma mammario. Un consumo più elevato, pari ad almeno 30 grammi al giorno (cioè 2 drink al giorno) può portare ad un aumento del rischio fino al 50%. In particolare, il consumo abituale di alcol è la principale causa modificabile di carcinoma mammario tra le donne prima della menopausa, contribuendo al 12,6% dei casi.

L'alcol può aumentare il rischio di carcinoma mammario attraverso diversi meccanismi:

- 1) **stimolazione della proliferazione cellulare e attività trascrizionale del recettore degli estrogeni (ER)** → l'etanolo presente nell'alcol può stimolare la proliferazione

delle cellule mammarie e l'attività trascrizionale del recettore degli estrogeni attivato (ER), portando ad un aumento dei livelli di estrogeni circolanti, che sono noti per promuovere la crescita delle cellule tumorali sensibili agli estrogeni nella ghiandola mammaria;

- 2) **metabolismo dell'etanolo e formazione di acetaldeide** → l'etanolo viene metabolizzato principalmente nel fegato, ma gli enzimi coinvolti nel suo metabolismo, come l'alcol deidrogenasi (ADH), sono anche espressi nel tessuto mammario. L'etanolo viene ossidato ad acetaldeide, un composto tossico e cancerogeno, che può danneggiare il DNA favorendo lo sviluppo del cancro;
- 3) **effetti sull'immunità antitumorale** → l'alcol può influenzare la risposta immunitaria contro il carcinoma mammario. In particolare, può ridurre la presenza di cellule T citotossiche CD8<sup>+</sup> nel tessuto mammario, cruciali per l'eliminazione delle cellule tumorali e aumentare le cellule soppressive di derivazione mieloide (MDSC), che possono sopprimere le risposte immunitarie anti-tumorali. Le cellule T natural killer (NKT) CD3<sup>+</sup>, che hanno un ruolo nella risposta immunitaria anti-tumorale, mostrano un profilo di espressione genica che favorisce lo sviluppo del tumore in risposta all'alcol.

Questi risultati sottolineano l'importanza di limitare il consumo di alcol per ridurre il rischio di sviluppare il carcinoma mammario.

In conclusione, è importante sottolineare che nessuno di questi fattori da solo determina automaticamente lo sviluppo del carcinoma mammario, ma può contribuire ad aumentare il rischio. La ricerca continua, pertanto, a indagare sui fattori di rischio e sulle cause sottostanti per comprendere meglio questa malattia e sviluppare strategie di prevenzione e trattamento più efficaci.

### ***1.3 Patogenesi***

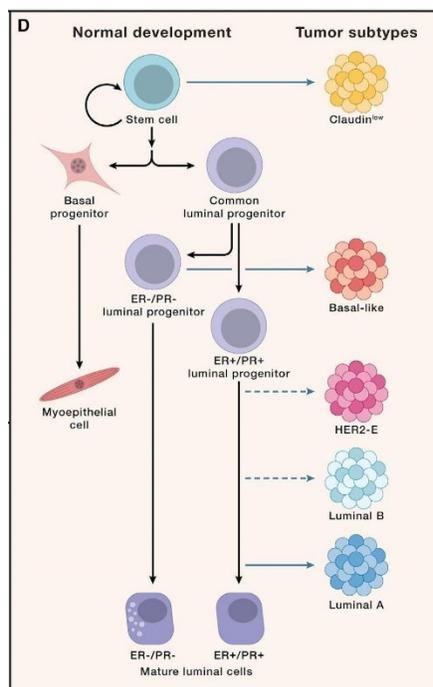
La patogenesi del carcinoma mammario coinvolge una serie di eventi genetici, molecolari e ambientali che portano alla trasformazione delle normali cellule della ghiandola mammaria in cellule cancerose. Tale processo può essere suddiviso in diverse fasi:

- a) **mutazioni genetiche** → l'inizio del carcinoma mammario spesso ha origine da mutazioni genetiche che interessano le cellule della ghiandola mammaria, le quali possono derivare da vari fattori come l'esposizione ad agenti cancerogeni, mutazioni ereditarie o errori durante la divisione cellulare;
- b) **proliferazione cellulare anomala** → le cellule con mutazioni genetiche cominciano poi a proliferare in modo incontrollato, formando masse tumorali. Questa crescita è spesso stimolata da segnali anomali provenienti da ormoni o fattori di crescita;
- c) **angiogenesi** → durante la sua crescita, il tumore necessita di un costante apporto di sangue e nutrienti. Le cellule tumorali possono quindi promuovere la formazione di nuovi vasi sanguigni (angiogenesi) per soddisfare questo fabbisogno, accelerando ulteriormente la crescita del tumore;
- d) **invasione e metastasi** → le cellule tumorali possono acquisire la capacità di invadere i tessuti circostanti e di entrare nel sistema linfatico o circolatorio, formando nuovi tumori metastatici in altri organi;
- e) **interazione con il microambiente tumorale** → il tumore è circondato da un microambiente complesso che comprende cellule stromali, fattori di crescita e il sistema immunitario. Le cellule tumorali sfruttano queste interazioni per promuovere la loro crescita e invasione.

Numerosi studi molecolari hanno evidenziato che i diversi sottotipi di carcinoma mammario presentano somiglianze significative con le cellule normali delle ghiandole mammarie; ciò suggerisce che i diversi tipi di cellule mammarie possono trasformarsi in cellule tumorali in seguito ad eventi come mutazioni genetiche, modifiche nel microambiente circostante e influenze epigenetiche.

Nella normale ghiandola mammaria, le cellule epiteliali possono differenziarsi lungo una scala che va dalle cellule staminali mammarie non differenziate alle cellule mature dei dotti e degli alveoli; i vari sottotipi intrinseci di tumore riflettono le variazioni nella composizione molecolare dei diversi stadi di differenziamento delle cellule, per cui i tumori meno differenziati risultano avere tratti simili alle cellule staminali mammarie e quelli più differenziati somigliano maggiormente alle cellule mature (**Figura 7**). In particolare:

- i **tumori di tipo luminal A e B** mostrano somiglianze con le cellule epiteliali mature dei dotti e degli alveoli; possono derivare dalle cellule progenitrici della linea luminale;
- i **tumori basali** sono meno differenziati e assomigliano alle cellule staminali mammarie o a progenitori meno differenziati; sono in genere tripli negativi, ma possono esprimere marcatori basali come citocheratine e EGFR;
- i **tumori HER2-E** possono derivare da diverse fasi di differenziazione delle cellule mammarie, ma si distinguono per la sovraespressione di HER2;
- i **tumori claudin-low** presentano una firma genetica distintiva associata alle cellule staminali mammarie più indifferenziate.



**Figura 7.** Schema che illustra le relazioni tra la gerarchia di differenziazione della normale ghiandola mammaria e i diversi sottotipi intrinseci. Tratta da *Nolan, Lindeman e Visvader (2023)*.

### **Evoluzione clonale**

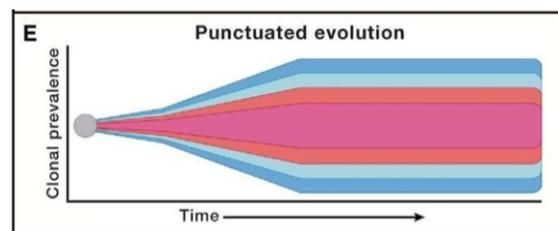
Il processo attraverso cui le cellule tumorali si sviluppano, mutano e si diffondono nel corso del tempo è definito evoluzione clonale del tumore. L'evoluzione clonale in genere comprende:

- mutazioni genetiche iniziali: in genere, la formazione del tumore inizia con mutazioni genetiche in una cellula mammaria normale;
- espansione di cloni cellulari: le cellule con mutazioni genetiche vantaggiose (ad esempio, che forniscono resistenza alle terapie) possono avere un vantaggio selettivo e proliferare più rapidamente rispetto alle altre; questo porta alla formazione di cloni cellulari dominanti all'interno del tumore;
- diversificazione genetica: nel corso del tempo, il tumore può accumulare ulteriori mutazioni che portano alla diversificazione genetica e fenotipica del tumore stesso;
- selezione clonale: il microambiente circostante può influenzare la sopravvivenza e la proliferazione delle diverse popolazioni cellulari del tumore, e porta alla selezione delle cellule tumorali più resistenti;
- metastasi: le cellule tumorali acquisiscono la capacità di invadere i tessuti circostanti e viaggiare attraverso il sistema circolatorio o linfatico, formando metastasi in altri organi.

Durante le prime fasi del processo invasivo del carcinoma mammario, l'evoluzione genomica avviene quindi generalmente prima dell'invasione, con diversi cloni che si sviluppano prima di diffondersi nel tessuto circostante. Tuttavia, l'entità e i tempi della diversificazione subclonale possono variare nei diversi sottotipi di tumore. Ad esempio, nel caso dei tumori triplo negativi (TNBC), sembra che ci sia una presenza significativa di subcloni che continuano a evolversi, accumulando mutazioni, riarrangiamenti e cambiamenti nel numero di copie dei geni durante l'espansione tumorale. Ciò avviene in modo discontinuo e improvviso, suggerendo un modello di evoluzione punteggiata piuttosto che graduale del tumore (**Figura 8**).

Alcuni studi hanno dimostrato una correlazione clonale tra i tumori primari e le lesioni metastatiche, suggerendo che le metastasi possono derivare da sottocloni presenti nel tumore primario. Questa correlazione facilita la comprensione dell'evoluzione dei tumori e l'identificazione di strategie di trattamento più efficaci.

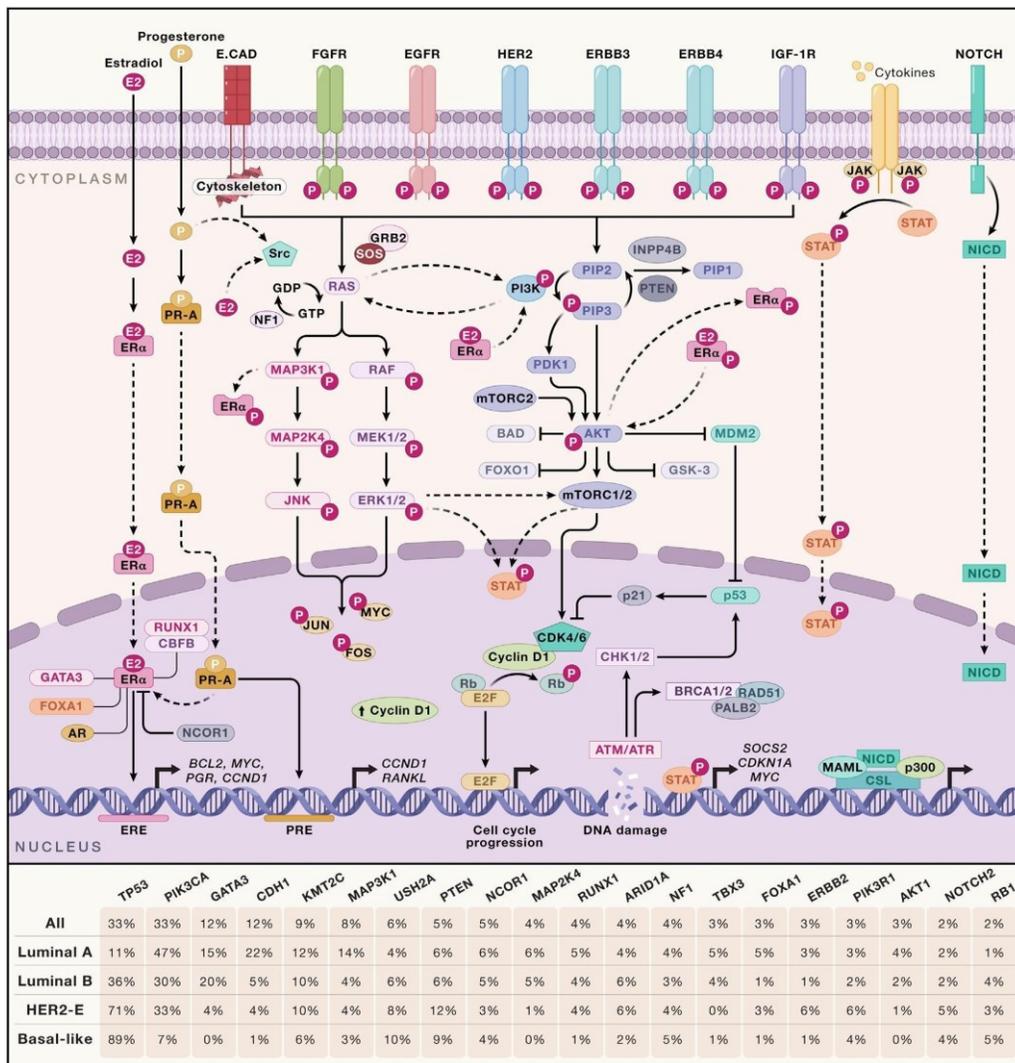
D'altra parte, la presenza di nuove mutazioni nelle metastasi dei pazienti trattati rispetto a quelli non trattati suggerisce che queste modifiche siano associate alla resistenza ai farmaci. Vi è quindi l'ipotesi che la terapia sistemica possa ulteriormente promuovere la diversificazione subclonale del tumore. Infatti, l'analisi del genoma dei pazienti con tumori triplo negativi (TNBC) prima e dopo il trattamento neoadiuvante ha mostrato che la resistenza alla chemioterapia può derivare dalla selezione adattativa di cloni mutanti preesistenti attraverso una riorganizzazione genetica. Sono quindi necessari studi su larga scala con follow-up a lungo termine dei pazienti per comprendere appieno l'impatto dell'evoluzione genomica sulla tumorigenesi e sulle risposte ai trattamenti.



**Figura 8.** Modello punteggiato di evoluzione clonale del tumore. Le prime fasi dello sviluppo del tumore sono caratterizzate da una grande diversità genetica e da una rapida evoluzione, mentre le fasi successive sono caratterizzate da un predominio dei cloni che hanno ottenuto vantaggi evolutivi e che si espandono in modo più stabile nel tempo. Tratta da *Nolan, Lindeman e Visvader (2023)*.

### 1.3.1 Vie di segnalazione nell'oncogenesi mammaria

Molte delle mutazioni genetiche che si verificano nel carcinoma mammario spesso influenzano **vie di segnalazione** fondamentali che regolano la crescita, la sopravvivenza e la differenziazione delle cellule tumorali. Di seguito, si analizzano le principali vie di segnalazione che possono essere perturbate nel carcinoma mammario (**Figura 9**).



**Figura 9.** Rappresentazione delle vie di segnalazione aberranti nel carcinoma mammario. Mostra il tasso medio di mutazione per 20 geni significativamente mutati in ciascun sottotipo di tumore. Tratta da Nolan, Lindeman e Visvader (2023).

### Via di segnalazione degli ormoni steroidei

Gli ormoni steroidei estrogeni e progesterone sono cruciali per lo sviluppo e la progressione normale del tessuto mammario, ma anche per la carcinogenesi mammaria. L'aumento dell'esposizione agli estrogeni, associato ad esempio al menarca precoce, alla menopausa tardiva e a cicli mestruali più brevi, rappresentano dei fattori di rischio per il carcinoma mammario.

- a) il **recettore degli estrogeni (ER $\alpha$ )**, codificato dal gene ESR1, gioca un ruolo chiave nella formazione del tumore estrogeno-positivo (ER+). Una volta attivati dal legame con gli estrogeni, i recettori formano dimeri che si legano al DNA e, interagendo con altri fattori di trascrizione come GATA3 e FOXA1, promuovono la trascrizione di geni bersaglio; questi geni sono coinvolti nella regolazione della proliferazione cellulare e dell'apoptosi. Inoltre, i recettori degli estrogeni attivati possono interagire con altre proteine e vie di segnalazione, come PI3K-AKT-mTOR o RAS-RAF-MAPK, contribuendo ulteriormente alla regolazione della crescita e della proliferazione cellulare. I trattamenti che mirano a bloccare la via del recettore degli estrogeni sono fondamentali per il trattamento di questa forma di cancro; tuttavia, meccanismi quali l'acquisizione di mutazioni nel gene ESR1 e l'attivazione delle vie di segnalazione PI3K-AKT e MAPK possono portare allo sviluppo di resistenza alla terapia endogena;
- b) i **recettori del progesterone (PR-A e PR-B)**, anch'essi influenzati dagli estrogeni, svolgono un ruolo importante nell'oncogenesi mammaria attraverso l'interazione con il recettore degli estrogeni e la capacità di promuovere la proliferazione cellulare;
- c) il recettore **degli androgeni (AR)**, espresso in gran parte nei tumori ER+, può avere effetti sia promotori che inibitori sulla crescita del tumore a seconda del contesto cellulare e dei livelli ormonali.

Le mutazioni più comuni nella via di segnalazione degli ormoni steroidei nel carcinoma mammario coinvolgono principalmente i sottotipi luminal A e luminal B, dove le mutazioni nei geni recettori ER e PR influenzano la sensibilità ai trattamenti ormonali. Nei sottotipi triplo negativo e HER2-positivo, queste mutazioni sono meno comuni ma possono comunque influenzare la risposta al trattamento ormonale e la progressione tumorale.

### **Via di segnalazione del recettore ERBB**

La tirosin-chinasi recettoriale ERBB2/HER2 svolge un ruolo cruciale nel carcinoma mammario. HER2, infatti, è un recettore che viene attivato principalmente quando si lega ad altri membri della famiglia ERBB (etero-dimerizzazione), sebbene nei casi di

sovraespressione di HER2 possa anche attivarsi senza legame con il ligando (omodimerizzazione ligando indipendente). Quando il gene HER2 subisce una duplicazione o amplificazione, la quantità di recettori HER2 sulla superficie delle cellule tumorali aumenta in modo significativo. L'aumento dei recettori HER2 determina una maggiore attivazione delle vie di segnalazione legate alla crescita cellulare, portando a una crescita e una divisione tumorali più rapide e aggressive.

Le mutazioni più comuni nella via di segnalazione del recettore ERBB nei diversi sottotipi di carcinoma mammario includono l'amplificazione genica o le mutazioni nel gene ERBB2 nel sottotipo HER2-positivo, mutazioni nei geni ERBB influenzanti la sensibilità agli estrogeni nei tumori luminali, mutazioni nei geni correlati all'EGFR nel sottotipo triplo negativo e mutazioni nei geni ERBB nei tumori di tipo basale-like. Queste mutazioni possono influenzare la progressione tumorale e la risposta al trattamento.

La presenza del recettore HER2 è stata sfruttata per lo sviluppo di terapie mirate. Il farmaco trastuzumab, ad esempio, è un anticorpo monoclonale che si lega in modo specifico ai recettori HER2 sulle cellule tumorali, bloccando le vie di segnalazione che promuovono la crescita tumorale.

Tuttavia, sono stati identificati diversi meccanismi di resistenza alla terapia anti-HER2, tra i quali la perdita o il mascheramento del dominio extracellulare di HER2, mutazioni attivanti in HER2 o HER3/ERBB3 e mutazioni attivanti nelle vie di segnalazione a valle, come le vie MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR e ciclina D1/CDK4/6.

### **Via di segnalazione PI3K-AKT**

La via di segnalazione PI3K-AKT è una complessa rete di lipochinasi che trasmettono segnali da recettori tirosina-chinasi e altre chinasi, attivando sia AKT che mTOR, due proteine chiave nella regolazione della crescita cellulare. Nel carcinoma mammario, l'attivazione della via PI3K-AKT può avvenire quando il gene PIK3CA, che codifica per la subunità catalitica p110 $\alpha$  di PI3K, subisce mutazioni attivanti.

Le mutazioni sono più comuni nei tumori luminali A e quelli amplificati da HER2. Oltre a PIK3CA, possono verificarsi altre mutazioni in componenti chiave come AKT1, PTEN e PIK3R1, che stimolano ulteriormente la via di segnalazione. Nei tumori di tipo basal-like, sono comuni le delezioni o mutazioni di PTEN e INPP4B, insieme all'amplificazione di AKT3 e a mutazioni meno diffuse in PIK3CA: queste aberrazioni contribuiscono all'iperattivazione dell'asse PI3K-AKT, promuovendo la crescita tumorale. L'iperattivazione dell'asse PI3K-AKT è la principale causa di resistenza acquisita ai trattamenti.

### **Via di segnalazione MAPK**

La via di segnalazione MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) è coinvolta nell'attivazione dei proto-oncogeni della famiglia RAS. Questi proto-oncogeni vengono attivati da diversi recettori di superficie cellulare, tra cui le tirosin-chinasi recettoriali. L'attivazione oncogenica della via MAPK porta alla fosforilazione e attivazione delle proteine MAPK, tra cui ERK1/2, le quali migrano nel nucleo delle cellule tumorali, dove regolano l'espressione genica coinvolta nella crescita e sopravvivenza cellulare.

Sebbene le mutazioni nei geni RAS siano comuni in molti tipi di cancro, esse sono rare nel carcinoma mammario, rappresentando meno del 5% dei casi. Tuttavia, circa la metà dei tumori mostra un'attivazione anomala della via RAS a causa di segnalazioni costitutive a monte provenienti da altri meccanismi, come la sovraespressione di EGFR e HER2.

I sottotipi di carcinoma mammario possono avere attivazione differenziale della via MAPK. Ad esempio, nei tumori di tipo luminal A, è stata osservata un'attivazione relativamente bassa di MAPK, mentre nei tumori di tipo HER2-positivo e triplo negativo (TNBC) si riscontra spesso un'attivazione più elevata.

L'importanza della via MAPK nel carcinoma mammario è evidenziata dalla sua relazione con la resistenza ai trattamenti. L'attivazione eccessiva di MAPK può portare alla resistenza ai farmaci, poiché le cellule tumorali possono continuare a crescere nonostante il trattamento. Di conseguenza, sono stati sviluppati farmaci mirati alla via MAPK, come gli inibitori di MEK (una proteina coinvolta nella via MAPK), che possono essere utilizzati per bloccare l'attività eccessiva di questa via e migliorare l'efficacia delle terapie.

### **Asse ciclina D1-CDK4/6-RB**

L'asse ciclina D1-CDK4/6-RB è coinvolta nella regolazione del ciclo cellulare e quindi nella proliferazione delle cellule tumorali.

La ciclina D1 è una proteina che, insieme alle chinasi ciclina-dipendenti 4 e 6 (CDK4/6), forma un complesso che promuove il passaggio dalla fase G1 alla fase S del ciclo cellulare. In condizioni normali, questo complesso ciclina D1-CDK4/6 fosforila il retinoblastoma (RB), una proteina che funge da inibitore della progressione del ciclo cellulare. Quando RB viene fosforilato, vengono rilasciati i fattori di trascrizione E2F, che promuovono l'espressione di geni coinvolti nella replicazione del DNA e nella proliferazione cellulare.

Nel carcinoma mammario, questa via di segnalazione può essere alterata e iperattivata, portando a un'eccessiva proliferazione delle cellule tumorali. Nei tumori luminali, ad esempio, è stata osservata una sovraespressione della ciclina D1, la quale può portare a un'attivazione aumentata del complesso ciclina D1-CDK4/6, con conseguente fosforilazione e inattivazione di RB, e una maggiore espressione dei geni coinvolti nella replicazione cellulare. Inoltre, mutazioni o amplificazioni in CDK4/6 possono anche contribuire all'attivazione dell'asse ciclina D1-CDK4/6-RB. Inoltre, nei tumori luminali B e HER2+, è comune l'amplificazione di CCND1 (gene che codifica per la ciclina D1) e CDK4.

L'asse ciclina D1-CDK4/6-RB è un importante bersaglio terapeutico nel carcinoma mammario. Inibitori di CDK4/6 sono stati sviluppati e approvati per il trattamento di pazienti con tumore ER+, spesso in combinazione con terapie ormonali: questi farmaci bloccano l'attività di CDK4/6, impedendo la fosforilazione di RB e arrestando il ciclo cellulare nella fase G1, riducendo così la proliferazione delle cellule tumorali. Tuttavia, diversi meccanismi possono portare alla resistenza agli inibitori di CDK4/6, tra cui:

- perdita di RB
- attivazione della ciclina E-CDK2
- implicazione di altre CDK come CDK7
- attivazione di altre vie oncogeniche come RAS/MAPK e PI3K/AKT.

## Via di segnalazione FGFR

La via di segnalazione FGFR (Fibroblast Growth Factor Receptor) è un importante meccanismo coinvolto nella crescita e nella sopravvivenza delle cellule tumorali. I recettori FGFR sono recettori tirosina-chinasi che si legano al fattore di crescita dei fibroblasti (FGF), promuovendo la crescita, la proliferazione e la differenziazione cellulare.

Nel carcinoma mammario, possono verificarsi diverse alterazioni nella via di segnalazione FGFR che contribuiscono alla progressione tumorale. Alcuni tumori, infatti, presentano amplificazione del gene FGFR1 o FGFR2, che porta a un'eccessiva espressione dei recettori FGFR1 sulla superficie delle cellule tumorali e quindi a un'attivazione eccessiva della via di segnalazione FGFR. Ad esempio, l'amplificazione di FGFR1 è un fattore determinante nei tumori luminali B, mentre la troncatura C-terminale di FGFR2 è stata identificata come un'alterazione clinicamente rilevante in vari tipi di cancro, inclusi quelli alla ghiandola mammaria.

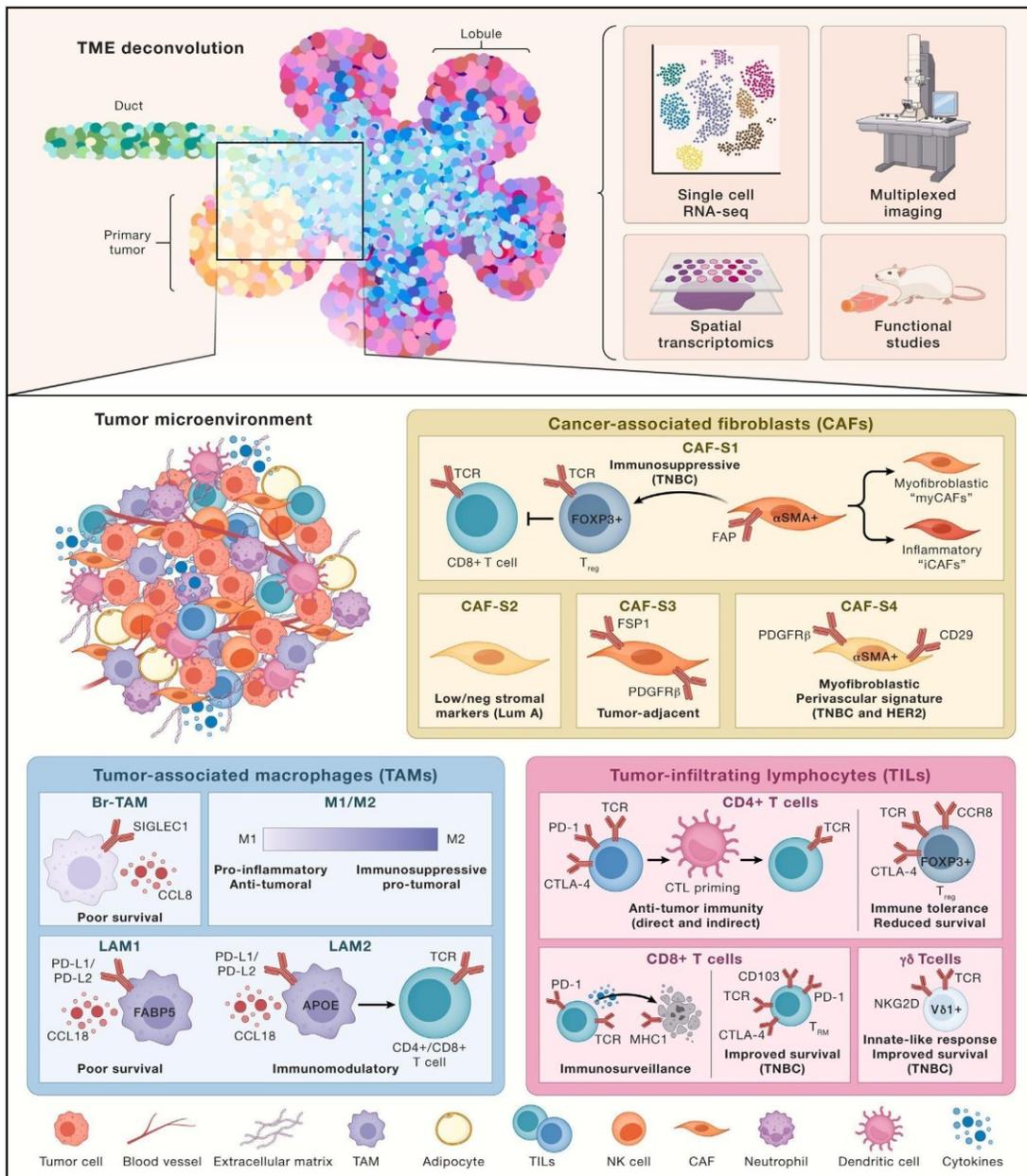
L'attivazione di questa via può inoltre contribuire alla resistenza ai trattamenti convenzionali come la terapia ormonale e gli inibitori di CDK4/6. Data l'importanza della via di segnalazione FGFR nel carcinoma mammario, sono state sviluppate terapie mirate per inibire questa via, tra cui gli inibitori di FGFR.

### *1.3.2 Il microambiente tumorale*

Il microambiente tumorale svolge un ruolo significativo nella regolazione delle funzioni delle cellule tumorali, dell'infiammazione, dell'angiogenesi e della risposta immunitaria.

Le cellule del carcinoma mammario sono immerse in un intricato ecosistema che comprende diversi tipi cellulari, come cellule immunitarie infiltranti, fibroblasti, cellule endoteliali, periciti, adipociti e cellule parenchimali (**Figura 10**). Cellule tumorali e non tumorali interagiscono in modo dinamico tra loro, influenzando l'inizio e lo sviluppo del tumore. Le cellule tumorali, per sopravvivere e proliferare, plasmano attivamente il loro ambiente circostante, alterando le cellule del tessuto e attirando altre cellule per sostenere la loro crescita.

In molte pazienti affette da carcinoma mammario, l'efficacia delle terapie antitumorali è limitata dalla presenza di un ambiente immunitario soppressivo che riduce l'attività delle cellule del sistema immunitario che combattono il cancro. Le cellule tumorali, infatti, possono adottare diverse strategie per evitare il loro riconoscimento da parte del sistema immunitario, contribuendo così alla progressione della malattia, oltre ad influenzare direttamente le cellule del microambiente circostante, come i fibroblasti, per favorire la formazione di una matrice extracellulare ricca di proteine che supportano la crescita tumorale.



**Figura 10.** Rappresentazione schematica del microambiente tumorale. Tratta da *Nolan, Lindeman e Visvader (2023)*.

### **Il compartimento stromale**

Il compartimento stromale nel microambiente tumorale del carcinoma mammario è una componente dinamica che circonda e interagisce con le cellule tumorali. Questo compartimento è costituito da diverse tipologie di cellule non tumorali, inclusi fibroblasti, cellule endoteliali, macrofagi, linfociti, e altri componenti della matrice extracellulare.

I fibroblasti associati al cancro (CAF) sono cellule mesenchimali istruite dal tumore stesso, che mostrano una notevole diversità sia nel loro aspetto che nelle loro funzioni. Sono stati individuati quattro tipi distinti, da CAF-S1 a CAF-S4, ciascuno con un profilo trascrizionale unico che influenza il modo in cui le cellule aderiscono tra loro, l'organizzazione della matrice extracellulare intorno al tumore e la risposta del sistema immunitario. In particolare, si è osservata un'abbondanza di CAF immunosoppressivi nel sottotipo CAF-S1, soprattutto nel tumore triplo negativo (TNBC). I CAF-S1, inoltre, sembrano conferire al tumore una maggiore resistenza ai trattamenti, impedendo al sistema immunitario di attaccarlo.

### **Il compartimento immunitario**

L'ambiente immunitario ospita una vasta gamma di diverse popolazioni cellulari immunitarie, inclusi i linfociti infiltranti il tumore (TIL), le cellule linfoidi innate e le cellule mieloidi. Queste cellule immunitarie interagiscono in modo dinamico con le cellule tumorali e con il microambiente stromale, influenzando la crescita, la progressione e la risposta ai trattamenti del carcinoma mammario.

- 1) Linfociti infiltranti il tumore (TIL)**, includono principalmente i linfociti T citotossici CD8<sup>+</sup> che hanno la capacità di distruggere le cellule tumorali, e le cellule T helper CD4<sup>+</sup> che regolano la risposta immunitaria. Nel tumore triplo negativo (TNBC), la presenza di cellule T CD8<sup>+</sup> di memoria nel tessuto è associata a migliori esiti per i pazienti. Oltre alle cellule T CD8<sup>+</sup>, nell'immunità contro il tumore nel TNBC entrano in gioco anche cellule T gamma-delta, cellule NK e CD4<sup>+</sup>;

- 2) **cellule dendritiche**, fondamentali per avviare la risposta immunitaria presentando i frammenti di antigeni tumorali alle cellule T;
- 3) **cellule B**, producono anticorpi specifici contro le cellule tumorali e svolgono un ruolo nella presentazione degli antigeni. Le caratteristiche distintive delle cellule B hanno dimostrato di essere più predittive e prognostiche dei linfociti infiltranti il tumore (TIL) nel carcinoma mammario HER2+ in fase iniziale;
- 4) **cellule mieloidi** come i macrofagi, granulociti e cellule dendritiche mieloidi sono un'altra componente importante del compartimento immunitario.

I macrofagi associati al tumore (TAM) possono sostenere la crescita e la diffusione delle cellule tumorali in risposta ai segnali provenienti dal tumore e dal microambiente circostante. Alcune analisi suggeriscono che cambiare la programmazione dei TAM potrebbe collaborare in modo efficace con l'immunoterapia per migliorare la risposta contro il tumore. Contrariamente al pensiero che i macrofagi possano essere divisi solo in due categorie distinte (M1 e M2), si è scoperto che spesso mostrano espressione sovrapposta di geni sia anti-tumorali (M1) che pro-tumorali (M2). Inoltre, sono stati identificati i cosiddetti macrofagi associati ai lipidi (LAM), i quali esprimono molecole immunoregolatrici come PD-L1 e PD-L2.

I neutrofili sono un'altra popolazione di cellule mieloidi chiave nel microambiente tumorale. Un alto rapporto tra neutrofili e linfociti nel sangue circolante è un indicatore di prognosi sfavorevole, specialmente nel tumore triplo negativo (TNBC);

- 5) **immunomodulatori** → altri componenti del compartimento immunitario tra cui le citochine pro-infiammatorie o immunosoppressive, possono regolare l'attività delle cellule immunitarie e la risposta del tumore al sistema immunitario.

L'organizzazione delle diverse popolazioni cellulari all'interno del tumore suggerisce che i diversi “ecotipi” tumorali possono influenzare l'andamento della malattia e la risposta al trattamento. La co-localizzazione di specifici tipi di cellule nel tumore, in particolare, può prevedere l'andamento clinico della malattia: ad esempio, la presenza di cellule T regolatorie all'interno di specifiche aree o strutture del microambiente tumorale è stata correlata ad esiti

sfavorevoli nelle pazienti con tumore ER+. Inoltre, è stato osservato che alcune mutazioni genetiche possono influenzare sia la struttura del microambiente tumorale che il comportamento del tumore stesso.

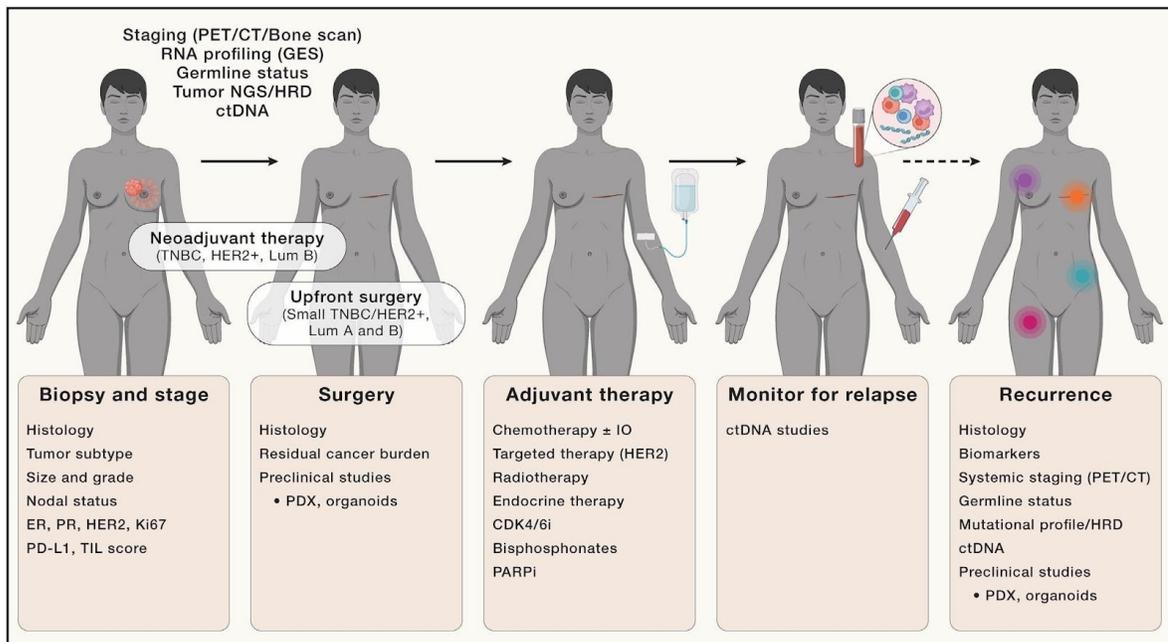
Pertanto, comprendere il ruolo e l'interazione di queste cellule immunitarie risulta essere fondamentale per lo sviluppo di immunoterapie mirate e per migliorare l'efficacia dei trattamenti contro il carcinoma mammario.

## CAPITOLO 2

### TERAPIE ATTUALI PER IL CARCINOMA MAMMARIO

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da *Nolan, J.Lindeman e E.Visvader (2023)* e *S. Onkar, M. Carleton, C. Lucas, C. Bruno, V. Lee, A.A. Vignali e Oesterreich (2022)*

Sebbene le caratteristiche cliniche e patologiche continuino a essere fondamentali per la diagnosi iniziale del carcinoma mammario, gli approcci terapeutici mirano sempre più ai diversi sottotipi intrinseci della malattia (**Figura 10**). Le caratteristiche molecolari specifiche del tumore, quindi, stanno influenzando sempre di più quelle che sono le decisioni terapeutiche.



**Figura 10.** Gestione clinica del carcinoma mammario e terapie attuali. Tratta da *Nolan, Lindeman e Visvader (2023)*. PET - Tomografia a emissione di positroni; TC - Tomografia computerizzata; GES - Firma di espressione genica; NGS - Sequenziamento di nuova generazione; HRD - Deficit di ricombinazione omologa; ctDNA - DNA tumorale circolante; TIL - Linfociti infiltranti il tumore.

Come illustrato nella **Figura 10**, la selezione della terapia opportuna comincia generalmente con l'esecuzione della biopsia e della stadiazione, processo che consente di determinare

l'estensione e la gravità della malattia, classificando il tumore in base alla dimensione del tumore primario e alla presenza di metastasi.

La chirurgia preventiva è riservata in genere ai casi di malattia a basso rischio come i tumori luminali A e B mentre per i tumori TNBC e HER2+ si ricorre spesso a terapie sistemiche neoadiuvanti, in particolar modo alla chemioterapia, al fine di ridurre le dimensioni del tumore primario, consentendo, quindi, un intervento chirurgico meno invasivo e migliorando quelle che sono le possibilità di chirurgia conservativa del seno.

Le terapie sistemiche adiuvanti, somministrate dopo l'intervento chirurgico con l'obiettivo di rimuovere eventuali cellule tumorali residue e ridurre il rischio di recidiva, vengono selezionate considerando il fenotipo tumorale, il genotipo e l'intervento chirurgico e comprendono:

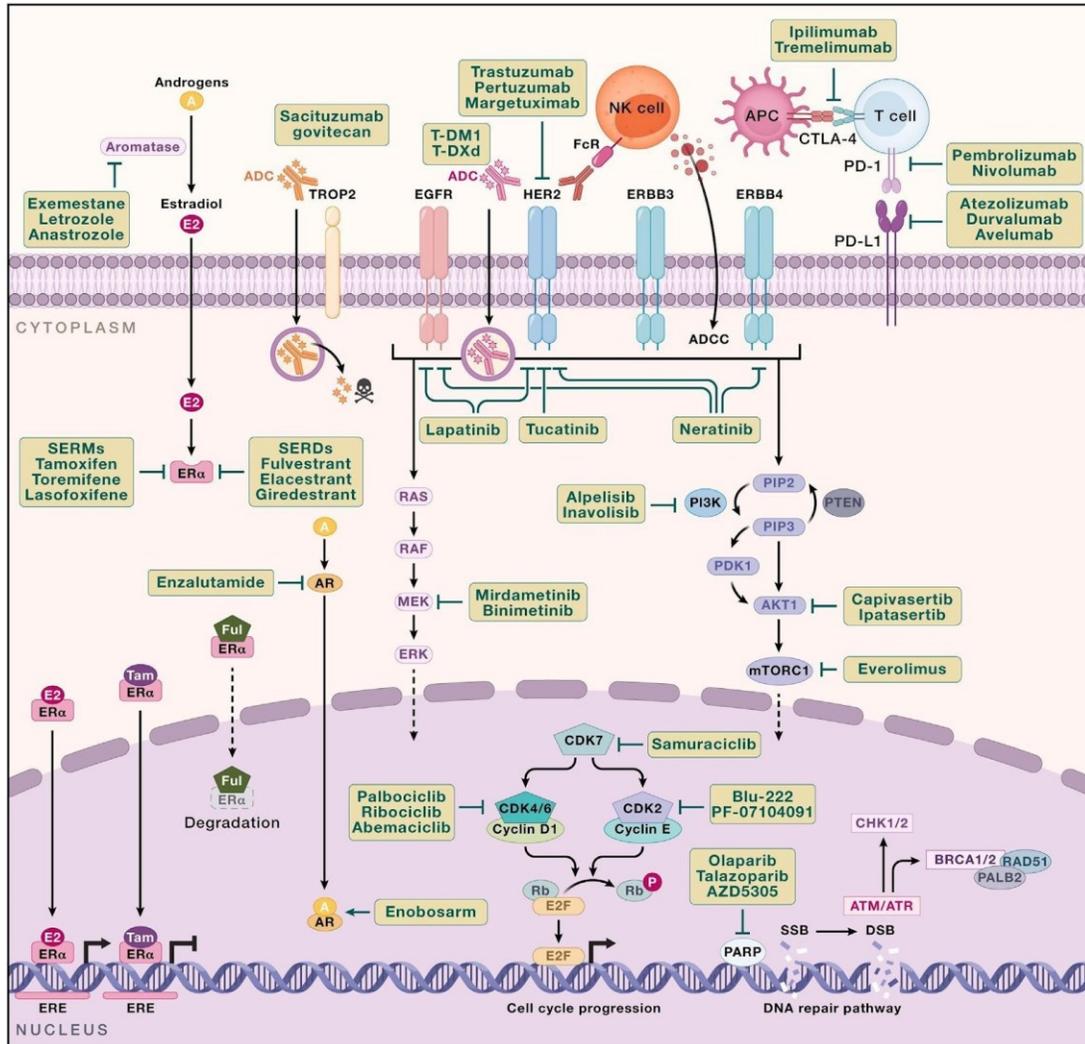
- chemioterapia
- radioterapia post-chirurgica per eliminare le cellule tumorali residue
- terapia ormonale per tumori ER+ e PR+
- Trastuzumab per tumori HER2+
- inibitori di CDK4/6 + terapia ormonale per tumori ER+

Per il monitoraggio della recidiva, si eseguono comunemente studi genomici (profiling dell'RNA, sequenziamento germinale e somatico del tumore) e mammografie, oppure talvolta valutazioni del **ctDNA** (Circulating Tumor DNA), ovvero frammenti di DNA rilasciati dalle cellule tumorali nel flusso sanguigno. Questo DNA può essere isolato e analizzato per ottenere informazioni sulla presenza di mutazioni specifiche associate al tumore, monitorare la risposta alla terapia, e individuare segni di recidiva.

In caso di recidiva, è fondamentale ripetere la stadiazione e valutare le caratteristiche istopatologiche e mutazionali del tumore. Alcuni test funzionali come PDX (xenotrapianti derivati da pazienti) e organoidi tumorali possono orientare le scelte terapeutiche post-recidiva.

## 2.1 Approcci terapeutici personalizzati in base al sottotipo tumorale

L'approccio personalizzato nel carcinoma mammario consente di adattare il trattamento in modo più preciso, ottimizzando l'efficacia e riducendo, allo stesso tempo, gli effetti collaterali. Di seguito sono riportati i principali sottotipi tumorali e le relative terapie mirate (Figura 11).



**Figura 11.** Nodi di segnalazione chiave considerati bersagli nel carcinoma mammario ed esempi di terapie attuali. Tratta da *Nolan, Lindeman e Visvader (2023)*. E2 - estradiolo; ER - recettore degli estrogeni; ERE - elemento di risposta agli estrogeni; A - androgeno; AR - recettore degli androgeni; TAM - tamoxifene; EGFR - recettore del fattore di crescita epidermico; HER2 - recettore del fattore di crescita epidermico umano 2; ADCC - citotossicità cellulare anticorpo-dipendente; APC - cellula presentante l'antigene; SSB - rottura del singolo filamento; DSB - rottura del doppio filamento.

### 2.1.1 Terapie per tumori ER+

I tumori ER+ sono caratterizzati dalla presenza di recettori per gli estrogeni che rendono le cellule tumorali sensibili agli effetti degli ormoni sessuali femminili. La terapia ormonale mira a ridurre l'attività degli estrogeni o a bloccare la loro azione sui recettori, riducendo così lo stimolo alla crescita delle cellule tumorali. Tra gli approcci terapeutici utilizzati nei tumori ER+ troviamo:

- 1) **Inibitori dell'aromatasi (AI)** → sono farmaci che bloccano l'enzima aromatasi, che è coinvolto nella produzione di estrogeni dal tessuto adiposo e muscolare. Riducendo i livelli di estrogeni circolanti nel corpo, questi farmaci limitano lo stimolo per la crescita delle cellule tumorali.

Poiché gli inibitori dell'aromatasi sono efficaci solo nelle donne in post-menopausa, spesso viene considerata l'ablazione ovarica chirurgica per le donne più giovani, che presentano un rischio maggiore di ricaduta.

Esempi di inibitori dell'aromatasi includono *exemestane*, *letrozolo*, *anastrozolo*.

- 2) **Modulatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERM)** → agiscono legandosi ai recettori degli estrogeni sulle cellule tumorali, bloccando così l'azione di questi ormoni. Tuttavia, il modo in cui agiscono può variare da tessuto a tessuto: ad esempio, nella ghiandola mammaria, possono agire come antagonisti dei recettori degli estrogeni, bloccando il loro effetto sulle cellule tumorali.

Esempio più comune di SERM è il *tamoxifene*.

- 3) **Antagonisti dei recettori del progesterone** → bloccano l'azione del progesterone legandosi ai recettori PR+ sulle cellule tumorali. Anche se non sono così ampiamente utilizzati come gli AI o i SERM, alcuni studi hanno suggerito che possono avere un effetto benefico nei tumori ER+/PR+.

Esempio più comune di antagonisti dei recettori PR è il *mifepristone*.

Tuttavia, la **resistenza** a questi farmaci è molto comune: proprio per questo motivo, si stanno esplorando farmaci che possono colpire altre vie di segnalazione nelle cellule tumorali, come le vie PI3K e AKT. Tra i farmaci attualmente in sperimentazione troviamo:

- **SERD (Selective Estrogen Receptor Downregulator)** → sono farmaci che bloccano l'azione del recettore ER, riducendo così lo stimolo della crescita delle cellule tumorali mediato dagli estrogeni, e inducono la sua degradazione nelle cellule tumorali (questo li differenzia dai SERM che bloccano solo l'attività del recettore degli estrogeni). In particolare, il *fulvestrant* è spesso utilizzato nel trattamento del carcinoma mammario avanzato o metastatico poiché si lega al recettore ER nelle cellule tumorali, agendo esclusivamente come antagonista, diversamente da altri SERM che agiscono sia da agonisti che da antagonisti di questi recettori (es. *tamoxifene*). Inoltre, questo farmaco ha la capacità di accelerare la degradazione del recettore ER, riducendo la sua disponibilità nelle cellule tumorali (SERD). Questo duplice meccanismo d'azione riduce in modo efficace l'attività stimolante degli estrogeni sulle cellule tumorali.

I SERD possono essere utilizzati per contrastare la resistenza che può svilupparsi nel tempo in risposta alla terapia prolungata con inibitori dell'aromatasi, dovuta a mutazioni nel gene ESR1 (che codifica per il recettore ER). Queste mutazioni possono causare resistenza al trattamento poiché le cellule tumorali trovano modi alternativi per attivare il recettore degli estrogeni, indipendentemente dalla presenza di estrogeni circolanti.

Utilizzando un SERD, è possibile bloccare in modo efficace l'attività del recettore degli estrogeni, anche in presenza di queste mutazioni, contribuendo così a mantenere l'efficacia del trattamento nel tempo.

- **combinazione di *exemestane* ed *everolimus*** → viene utilizzata nel trattamento del carcinoma mammario metastatico che esprime recettori ER+ e che ha sviluppato resistenza alla terapia ormonale. In particolare, l'attivazione anomala della via di segnalazione PI3K-AKT-mTOR, coinvolta nella regolazione della crescita cellulare,

della sopravvivenza e della proliferazione, è stata associata alla resistenza alla terapia ormonale, specialmente nei tumori ER+.

- *exemestane* è un inibitore dell'aromatasi, quindi va a ridurre i livelli di estrogeni e, di conseguenza, lo stimolo alla crescita delle cellule tumorali che esprimono recettori ER+;
- *everolimus* è un inibitore di mTORC1, in particolare inibisce la proteina bersaglio della rapamicina nei mammiferi (mTOR), che fa parte di un complesso proteico chiamato mTORC1 coinvolto nella regolazione della crescita cellulare e della proliferazione. Inibendo mTORC1 a livello della via di segnalazione PI3K-AKT-mTOR, everolimus riduce la crescita e la divisione delle cellule tumorali.

La combinazione di *everolimus* con *exemestane* offre, quindi, un approccio terapeutico sinergico, agendo contemporaneamente sia nella via ormonale che in quella mTOR, coinvolte nella crescita tumorale. Quest'ultima è stata approvata per pazienti con carcinoma mammario metastatico ER+ e HER2- che hanno già ricevuto terapia ormonale.

- **combinazione inibitori di CDK4/6 e terapia endocrina** → è stata studiata come strategia terapeutica per affrontare la resistenza alla terapia endocrina nel cancro ER+. Infatti, dato il ruolo sinergico del segnale estrogenico e della ciclina D1 nella progressione del ciclo cellulare dalla fase G1 alla fase S (durante la quale avviene la replicazione del DNA), si è pensato di combinare l'uso di farmaci inibitori di CDK4/6 alla terapia endocrina.

Dato che una delle vie attraverso cui le cellule tumorali possono diventare resistenti è proprio attraverso l'iperattivazione della ciclina D1, bloccando simultaneamente l'attività di CDK4/6 e il segnale estrogenico, con questa combinazione si cerca di interrompere la progressione del ciclo cellulare e indurre la morte delle cellule tumorali.

Studi clinici hanno dimostrato che l'aggiunta di inibitori di CDK4/6 alla terapia endocrina porta a un significativo miglioramento nella sopravvivenza senza progressione della malattia nei pazienti con cancro ER+, contribuendo a prolungare la durata della risposta alla terapia e a migliorare la qualità di vita dei pazienti.

- ***alpelisib*** → viene utilizzato in caso di resistenza dovuta a mutazioni attivanti PIK3CA, gene che codifica per la subunità alfa della fosfatidilinositolo 3-chinasi (PI3K), un enzima coinvolto nella regolazione della crescita cellulare, della sopravvivenza e della proliferazione. Queste mutazioni possono portare ad un'iperattivazione della via di segnalazione PI3K-AKT-mTOR, che è coinvolta nella crescita tumorale.

*Alpelisib* è stato sviluppato come farmaco specifico per superare questa resistenza nei pazienti con carcinoma mammario metastatico che hanno mutazioni attivanti di PIK3CA. Agendo come inibitore selettivo di PI3K alfa, *alpelisib* blocca in modo specifico l'attività di PI3K alfa iperattivata a causa di queste mutazioni, riducendo così l'attivazione della via di segnalazione PI3K-AKT-mTOR e rallentando la crescita delle cellule tumorali.

- ***capivasertib e ipatasertib*** → vengono usati nel caso di resistenza dovuta a mutazioni della via AKT. AKT è una proteina chinasi coinvolta in diversi processi cellulari, tra cui la crescita, la sopravvivenza e la proliferazione cellulare. La sua attivazione avviene tramite fosforilazione, e una volta attivata, AKT può attivare a sua volta una serie di bersagli cellulari coinvolti nella crescita tumorale e nella resistenza alla terapia. Le mutazioni che si verificano nella via di segnalazione di AKT possono portare a un'attivazione eccessiva di questa proteina, contribuendo alla crescita e alla sopravvivenza delle cellule tumorali, dando origine a resistenza al trattamento.

Quando le mutazioni della via AKT contribuiscono alla resistenza ai trattamenti nel carcinoma mammario, l'uso di inibitori di AKT come *capivasertib* e *ipatasertib* può essere una strategia terapeutica promettente. Questi farmaci bloccano l'attività di AKT nelle cellule tumorali, riducendo così la loro capacità di crescere e proliferare.

### 2.1.2 Terapie per tumori HER2+

I farmaci utilizzati per il trattamento del tumore HER2+ hanno come bersaglio la proteina recettore HER2, che risulta essere sovraespressa in questo tipo di tumore. Tra i principali farmaci utilizzati troviamo

#### 1) **anticorpi monoclonali** come:

- *trastuzumab* → agisce principalmente legandosi al dominio extracellulare del recettore HER2, impedendone l'attivazione e bloccando le vie di segnalazione RAS/MEK/ERK e PI3K/AKT/mTOR. Tale blocco riduce la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule tumorali. Inoltre, *trastuzumab* promuove la citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente (ADCC) tramite il recettore Fc, stimolando il sistema immunitario del paziente (soprattutto i linfociti natural killer NK) a riconoscere e distruggere le cellule tumorali che sovraesprimono HER2.

L'introduzione di *trastuzumab*, combinato con chemioterapia e nuovi inibitori anti-HER2 ha portato a notevoli miglioramenti nei tassi di sopravvivenza e ha ridotto notevolmente il rischio di recidiva nei pazienti con cancro HER2+.

- *pertuzumab* → si tratta di un altro anticorpo monoclonale umanizzato che agisce su un diverso dominio extracellulare rispetto a *trastuzumab* e previene la dimerizzazione con altri recettori ERBB (come EGFR, HER2 e HER4), potenziando l'inibizione della segnalazione a valle.

Il trattamento combinato con *trastuzumab* e *pertuzumab* è ora una pratica standard, grazie alla dimostrata maggiore efficacia in pazienti con tumori HER2+.

#### 2) **inibitori della tirosin-chinasi** come:

- *neratinib* → agisce in modo irreversibile su EGFR (recettore del fattore di crescita epidermico), HER2 e HER4. Dato che questi recettori sono coinvolti

nelle vie di segnalazione che promuovono la crescita e la sopravvivenza delle cellule tumorali, inibendo queste vie *neratinib* aiuta a controllare la crescita del tumore. È stato approvato per il trattamento del cancro HER2+ dopo il trattamento adiuvante con trastuzumab;

- *tucatinib* → è un inibitore specifico per HER2, il quale ha dimostrato la capacità di attraversare la barriera ematoencefalica. Questo è particolarmente importante nel trattamento delle metastasi cerebrali, che possono verificarsi nel cancro HER2+. Bloccando l'attività di HER2, *tucatinib* contribuisce a rallentare la crescita delle cellule tumorali e può migliorare il controllo della malattia anche nelle metastasi cerebrali, fornendo quindi un'opzione terapeutica importante per i pazienti con questa complicazione.

3) **anticorpi-farmaco coniugati (ADC)** → in questi farmaci gli agenti citotossici sono legati all'anticorpo monoclonale tramite un linker sintetico clivabile. Questa struttura distintiva degli ADC consente di indirizzare in modo specifico l'anticorpo verso le cellule tumorali che sovraesprimono HER2 e di rilasciare l'agente citotossico al loro interno, proprio grazie al linker scindibile. Quando l'agente citotossico viene rilasciato all'interno della cellula tumorale, può diffondere nelle cellule vicine, danneggiandole e causando la loro morte. Si genera, quindi, un potente "effetto bystander" per il quale, anche se le cellule non sono direttamente bersagliate dall'ADC, possono comunque essere influenzate negativamente dai suoi effetti citotossici. Questo fenomeno permette di avere una maggiore efficacia terapeutica nel trattamento del cancro HER2+.

Tra gli ADC utilizzati nel trattamento del cancro HER2+ troviamo:

- *trastuzumab emtansine* → anche noto come *T-DMI* è il primo ADC ad essere stato approvato per il trattamento del cancro HER2+. L'agente citotossico legato all'anticorpo è l'**emtansina**: questa viene trasportata direttamente alle cellule tumorali dove interferisce con la divisione cellulare e provoca danni al DNA, causando infine la morte delle cellule stesse. Questo approccio consente di concentrare l'effetto citotossico nelle cellule tumorali, riducendo

allo stesso tempo i danni alle cellule sane circostanti. È stata, inoltre, dimostrata la sua efficacia nel trattamento delle metastasi cerebrali in alcuni pazienti.

- *trastuzumab deruxtecan* → noto anche come T-DXd o DS-8201, è un innovativo farmaco utilizzato nel trattamento del cancro HER2+. Incorpora l'inibitore della topoisomerasi I **deruxtecan** come agente citotossico.

Il T-DXd è stato sviluppato per indirizzare in modo specifico le cellule tumorali che esprimono HER2, sfruttando l'anticorpo trastuzumab per guidare il farmaco verso cellule bersaglio. Una volta che l'ADC si lega al recettore HER2 sulla superficie delle cellule tumorali, viene internalizzato e il deruxtecan viene rilasciato all'interno della cellula, dove inibisce la topoisomerasi I (enzima coinvolto nel processo di replicazione del DNA) inducendo la morte cellulare.

Il T-DXd ha mostrato un'attività significativa anche nei pazienti refrattari a T-DM1, offrendo una nuova opzione terapeutica per coloro che non rispondono adeguatamente a questo trattamento. Inoltre, è stato osservato che il T-DXd migliora in modo significativo gli esiti rispetto alla chemioterapia standard nelle pazienti che hanno già ricevuto molteplici trattamenti. Questi risultati hanno sottolineato l'importanza del segnale HER2 come fattore chiave di resistenza nel cancro ER+.

- 4) **inibitori del checkpoint immunitario (ICI)** → sono farmaci che mirano a potenziare la risposta del sistema immunitario contro le cellule tumorali, bloccando le vie di segnalazione coinvolte nella soppressione immunitaria. Inizialmente, gli ICI erano utilizzati principalmente per il trattamento del tumore TNBC, ma recentemente il loro utilizzo è stato esteso anche al tumore HER2+, vista la significativa espressione di PD-L1 (proteina coinvolta nella soppressione immunitaria) e di infiltrati di linfociti tumorali (TIL) in questa tipologia di tumore.

Il ruolo fondamentale che ricopre l'ADCC nella risposta immunitaria al *trastuzumab* ha suscitato interesse nell'uso degli ICI in combinazione con terapie anti-HER2. Normalmente, le cellule tumorali possono sopprimere l'attività del sistema immunitario attraverso meccanismi di segnalazione specifici, evitando così il riconoscimento e l'attacco da parte delle cellule immunitarie. Gli ICI interferiscono con questi segnali, consentendo al sistema immunitario di riconoscere e attaccare in modo efficace le cellule tumorali. Quindi, combinare gli ICI con terapie anti-HER2, come il *trastuzumab*, potrebbe potenziare ulteriormente la risposta immunitaria contro le cellule tumorali HER2+, migliorando l'efficacia del trattamento. Un esempio di ICI è:

- *atezolizumab* → gli studi iniziali hanno prodotto risultati contrastanti riguardo l'efficacia di questo farmaco nel trattamento del cancro HER2-positivo: non è stato riscontrato un miglioramento nella risposta al trattamento con T-DM1 in pazienti con malattia HER2+ precedentemente trattata; tuttavia, si è osservato un aumento della sopravvivenza libera da progressione in pazienti con espressione di PD-L1.

Sono stati identificati diversi meccanismi di **resistenza** alla terapia anti-HER2, tra cui l'attivazione di CDK4/6, che può essere però contrastata utilizzando *trastuzumab* in combinazione con un *inibitore di CDK4/6*.

### 2.1.3 Terapie per tumori TNBC

Negli ultimi anni si sono verificati cambiamenti significativi nella gestione del tumore TNBC, un tipo di carcinoma mammario caratterizzato dalla mancanza di espressione di recettori per gli ormoni estrogeni, progesterone e HER2. Alcuni segnali biologici chiave associati a questo tipo di tumore includono la presenza della mutazione BRCA, l'espressione di PD-L1, il numero di linfociti infiltranti nel tumore (TIL) e segnali genetici che indicano alterazioni nella riparazione del DNA (HRD). La presenza di tali segnali biologici può influenzare il trattamento e la prognosi delle pazienti affette da TNBC.

I farmaci maggiormente utilizzati nel trattamento del tumore triplo negativo sono:

- 1) **inibitori del checkpoint immunitario (ICI)** → a differenza di altri tipi di tumore come il melanoma e il carcinoma polmonare, l'utilizzo di soli ICI nel carcinoma mammario ha dimostrato benefici limitati. Si è pensato quindi di combinare gli ICI PD-1 o PD-L1 con diverse chemioterapie di base: questa strategia si è dimostrata essere molto efficace soprattutto nel trattamento del TNBC metastatico iniziale, dove la funzione immunitaria risulta essere meno compromessa.

Inoltre, l'utilizzo degli ICI in combinazione con la chemioterapia neoadiuvante ha mostrato risultati promettenti, aumentando i tassi di risposta completa e migliorando la sopravvivenza libera da progressione, specialmente nei pazienti non trattati in precedenza.

- 2) **inibitori di PARP** (poli-ADP-ribosio polimerasi) → sono una classe di farmaci che interferiscono con la funzione delle proteine PARP coinvolte nella riparazione del DNA. Questi farmaci sono particolarmente efficaci nei tumori che presentano difetti nella riparazione del DNA, come quelli con mutazioni nei geni BRCA1/2.

Nei casi di tumore TNBC con mutazioni ereditarie o somatiche nei geni BRCA1/2, l'uso degli inibitori di PARP può attivare un meccanismo di letalità sintetica: questo significa che interferiscono con la riparazione del DNA a singolo filamento in un contesto di disfunzione nell'omologa riparazione del DNA (HRD), portando alla morte delle cellule tumorali.

*Olaparib* e *talazoparib* sono due esempi di inibitori di PARP che hanno dimostrato un'elevata efficacia nelle pazienti con mutazioni ereditarie dei geni BRCA1/2. Inoltre, l'uso precoce di *olaparib*, anche in via adiuvante, ha portato a significativi miglioramenti nella sopravvivenza libera da malattia e nella sopravvivenza complessiva per le pazienti con malattia ad alto rischio.

### 3) anticorpi coniugati al farmaco (ADC):

- *Sacituzumab govitecan (SG)* → è un ADC che mira all'antigene delle cellule del trofoblasto 2 (TROP2), sovraespresso nell'80% dei carcinomi mammari, compresi quelli del carcinoma TNBC. È stato sviluppato per fornire un trattamento mirato e efficace per i pazienti con TNBC, che spesso hanno prognosi sfavorevole. SG ha dimostrato un'efficacia elevata nelle pazienti con TNBC fortemente pretrattate, ottenendo un'approvazione rapida dalla FDA. Inoltre, è stato dimostrato che SG migliora la sopravvivenza libera da progressione e la sopravvivenza globale anche nei sottotipi ER+ e HER2-bassi o negativi, in pazienti pretrattate con inibitori di CDK4/6 e chemioterapia.

### 4) Altri approcci terapeutici:

- **inibitori del recettore degli androgeni (AR)** → nel sottotipo tumorale **TNBC LAR** (Luminal Androgen Receptor), le cellule tumorali esprimono il recettore degli androgeni, che è solitamente coinvolto nella regolazione della crescita delle cellule prostatiche maschili, ma può essere espresso anche in alcuni tipi di carcinomi mammari. L'espressione di questo recettore ha portato a un crescente interesse nell'utilizzo di inibitori del recettore degli androgeni, come la *bicalutamide* e l'*enzalutamide*, nel trattamento del TNBC LAR. Questi farmaci sono comunemente utilizzati nella terapia del cancro alla prostata, dove bloccano l'attività degli androgeni, ormoni maschili che possono alimentare la crescita delle cellule tumorali. D'altra parte, l'uso di inibitori del recettore degli androgeni nel TNBC LAR ha mostrato risultati clinici modesti.
- **inibitori delle vie di segnalazione** coinvolte nella regolazione della crescita e della sopravvivenza delle cellule tumorali come PI3K/AKT/mTOR, EGFR, RAS/MAPK e JAK/STAT;

- **inibitori di altre proteine coinvolte nella risposta al danno al DNA** come ATM, ATR, Aurora chinasi A, CHK1/2, RAD51 e WEE1, spesso combinati con gli inibitori di PARP;
- **inibitori dell'interleuchina-6 (IL-6) - STAT3** → l'IL-6 è un'importante citochina coinvolta nell'infiammazione e nell'attivazione immunitaria mentre la via di segnalazione STAT3 svolge un ruolo chiave nella trasduzione del segnale cellulare coinvolto nella crescita e nella sopravvivenza delle cellule tumorali. In alcuni casi, nel TNBC, si è osservata un'iperattivazione di questa via, che può favorire la crescita tumorale, la metastasi e la resistenza alla terapia. Per questo motivo gli inibitori di IL-6 e STAT3 rappresentano delle potenziali opzioni terapeutiche per questo tipo di tumore;
- **inibitori dell'attivazione cGAS-STING** → la via cGAS-STING è coinvolta nella risposta immunitaria antitumorale: quando il DNA subisce dei danni, come quelli causati dalla replicazione tumorale o da altri agenti esterni, possono essere rilasciati dei frammenti di DNA nel citoplasma della cellula. Il sensore cGAS rileva questi frammenti di DNA e li lega, attivando una cascata di segnalazione cellulare che coinvolge una proteina chiamata STING. A seguito dell'attivazione di STING, si ha la produzione di citochine che svolgono un ruolo chiave nell'attivazione del sistema immunitario contro le cellule tumorali. Dato che nel TNBC, è stata osservata un'iperattivazione di questa via, gli inibitori di cGAS-STING potrebbero rappresentare una valida opzione terapeutica per il trattamento di questo sottotipo tumorale.

Complessivamente, questi interventi stanno cambiando in modo significativo il corso della malattia in tutti i sottotipi di carcinoma mammario, portando a una maggiore personalizzazione delle terapie e a migliori risultati per le pazienti.

## CAPITOLO 3

### PREVENZIONE

Tutte le informazioni contenute in questo capitolo sono tratte da *L. Britt, Cuzick e Phillips (2020)*

Investire nella prevenzione del carcinoma mammario rappresenta una strategia efficiente e conveniente per gestire la malattia: infatti, adottare misure preventive mirate potrebbe non solo ridurre i costi associati alla diagnosi e al trattamento, ma anche migliorare la qualità della vita e la salute delle persone colpite, riducendo l'onere sociale ed economico complessivo.

#### *3.1 Previsione del rischio di carcinoma mammario*

Uno degli strumenti più efficaci per la prevenzione è la capacità di stimare accuratamente il rischio individuale di una donna di sviluppare il carcinoma mammario. Questa valutazione consente di implementare misure preventive personalizzate, aumentando la loro efficacia. Inoltre, conoscere il rischio specifico permette di comprendere l'impatto delle misure adottate nel ridurre il rischio complessivo, aiutando le donne a prendere decisioni informate sulla loro salute.

Attualmente, esistono diversi modelli progettati per stimare il rischio di carcinoma mammario. Tuttavia, molti di questi non sono stati testati in popolazioni diverse da quelle in cui sono stati sviluppati, limitandone l'affidabilità. I modelli validati, invece, sono quelli che utilizzano una varietà di fattori di rischio e offrono stime più accurate. Un esempio di modello validato è il **modello IBIS**, che include il rischio poligenico basato su specifiche varianti genetiche note come SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms): grazie a questa caratteristica, il modello IBIS può fornire una stima del rischio più precisa.

Le prestazioni dei modelli di previsione del rischio di carcinoma mammario vengono spesso misurate attraverso due parametri principali: l'accuratezza discriminatoria e la calibrazione. L'accuratezza discriminatoria valuta quanto efficacemente il modello può distinguere tra individui che svilupperanno o meno il cancro, con valori che vanno da 0,56 (scarsa) a 0,71

(buona). La calibrazione, invece, misura quanto le previsioni del modello corrispondono alla realtà, con valori che vanno da 0,85 a 1,52.

Nonostante i notevoli progressi, i modelli attuali per stimare il rischio di carcinoma mammario presentano alcuni limiti. Spesso, infatti, non includono alcuni fattori di rischio modificabili, come il consumo di alcol, l'uso di contraccettivi ormonali, l'attività fisica e il tempo trascorso dall'ultima gravidanza. Integrare questi fattori nei modelli esistenti potrebbe migliorare notevolmente la loro accuratezza. Inoltre, l'integrazione di nuovi fattori di rischio nei modelli esistenti, come i livelli di ormoni steroidei, marcatori epigenetici e il fenotipo di riparazione del DNA, rappresenta una sfida significativa in quanto rende necessario considerare le potenziali interazioni tra i nuovi e i vecchi fattori di rischio e richiede un'ampia validazione per assicurare che i nuovi modelli siano accurati e affidabili.

Un altro problema è rappresentato dal fatto che i modelli sono stati sviluppati e validati principalmente su popolazioni di origine europea, rendendo incerta la loro accuratezza per le donne di altre etnie. Inoltre, nessuno dei principali modelli di rischio convalidati offre consigli completi e personalizzati per la prevenzione e lo screening del carcinoma mammario, né stima la riduzione assoluta del rischio che può essere raggiunta.

Per affrontare questi problemi, è stato sviluppato **iPrevent**, uno strumento che facilita il processo decisionale collaborativo tra le donne e i loro medici nella gestione del rischio di carcinoma mammario. Le donne possono completare un questionario online a casa, che contiene domande sulla loro anamnesi e sulla loro storia familiare di carcinoma mammario; i risultati possono poi essere stampati e discussi con il medico.

Finora, tutti questi modelli di rischio per il tumore al seno sono stati utilizzati in modo non sistematico, senza una valutazione del rischio a livello di popolazione seguita da interventi mirati per ridurlo. Questi interventi potrebbero includere la modifica di fattori come il consumo di alcol, l'uso di terapie ormonali e contraccettivi, l'inattività fisica e l'obesità. Inoltre, per alcune donne a rischio elevato, potrebbe essere utile l'uso di farmaci per la riduzione del rischio. Tuttavia, poiché lo screening mammografico inizia solitamente all'età di 50 anni, questo approccio non previene circa il 20% dei tumori che si verificano prima di tale età. Sarebbe quindi ideale prendere in considerazione la valutazione di routine del rischio

nelle donne già in giovane età e, successivamente, a intervalli regolari, dato che i fattori di rischio cambiano nel tempo.

### ***3.2 Opzioni preventive attualmente disponibili***

Le donne ad alto rischio di sviluppare carcinoma mammario possono scegliere tra diverse opzioni preventive tra cui la chirurgia, i farmaci e i cambiamenti nello stile di vita.

#### ***3.2.1 Interventi chirurgici***

Tra i possibili interventi chirurgici preventivi troviamo:

- **Mastectomia bilaterale**

La mastectomia bilaterale è una procedura chirurgica che prevede la rimozione di entrambi i seni. Rappresenta la misura più efficace per ridurre il rischio di carcinoma mammario (riduzione del 90%). Questa operazione è spesso considerata da donne con un rischio molto elevato di sviluppare il cancro, come quelle con mutazioni genetiche BRCA1 o BRCA2, o con una forte storia familiare della malattia.

Solitamente, a seguito dell'intervento di mastectomia bilaterale viene offerta la ricostruzione immediata del seno, che è però associata a un maggior numero di rioperazioni impreviste. La maggior parte delle donne che optano per la mastectomia bilaterale per ridurre il rischio è soddisfatta della decisione e riporta una significativa riduzione dell'ansia legata all'insorgenza del tumore. Tuttavia, sono meno soddisfatte dei risultati estetici, dell'immagine corporea e dei sentimenti sessuali.

- **Salpingo-ooforectomia bilaterale**

La salpingo-ooforectomia bilaterale è una misura chirurgica preventiva che prevede la rimozione di entrambe le ovaie e delle tube di Falloppio, spesso raccomandata alle donne con mutazioni genetiche BRCA1 e BRCA2, nel momento in cui il loro rischio di sviluppare cancro alle ovaie o alle tube è più alto (tra i 30 e i 40 anni).

In passato, questa procedura veniva suggerita subito dopo il parto anche alle donne a rischio di sviluppare carcinoma mammario. Alcuni studi indicavano, infatti, una significativa riduzione del rischio di tale cancro per chi si sottoponeva a questa operazione. Tuttavia, ricerche più recenti non hanno trovato prove convincenti che

la salpingo-ooforectomia bilaterale sia efficace nel prevenire il carcinoma mammario nelle donne con mutazioni BRCA1 o BRCA2.

### 3.2.2 *Modifica dello stile di vita*

Modificare abitudini legate allo stile di vita, come ridurre l'obesità, limitare il consumo di alcol e aumentare l'attività fisica, è fondamentale per la prevenzione del carcinoma mammario. Tuttavia, questi cambiamenti possono essere difficili da attuare. Pertanto, è cruciale sviluppare interventi efficaci per incoraggiare il cambiamento comportamentale e promuovere abitudini di vita più salutari. Tra i fattori che influenzano lo stile di vita troviamo:

- **alcol** → le raccomandazioni internazionali suggeriscono di limitare il consumo di alcol a due bicchieri al giorno per gli uomini e a un bicchiere al giorno per le donne. Tuttavia, studi recenti indicano che il livello più sicuro di assunzione di alcol è pari a zero. Per ridurre l'assunzione eccessiva di alcol sono necessarie misure più efficaci come l'aumento della tassazione, controlli sugli orari di vendita e divieti di pubblicità, al fine di promuovere uno stile di vita sano e prevenire le malattie croniche.
- **attività fisica** → le donne che praticano regolarmente attività fisica hanno un rischio ridotto di circa il 20% rispetto a quelle meno attive. Questi risultati hanno portato il Fondo Mondiale per la Ricerca sul Cancro a concludere che l'attività fisica possa offrire una protezione contro il carcinoma mammario. Esistono diversi meccanismi attraverso i quali l'attività fisica può fornire questa protezione:
  - può influenzare il metabolismo degli estrogeni, riducendone i livelli in circolo. Poiché il carcinoma mammario è sensibile agli estrogeni, una riduzione dei loro livelli può ridurre il rischio di sviluppare la malattia;
  - può migliorare la sensibilità all'insulina, abbassando i livelli in circolo. L'insulina è coinvolta nella regolazione del metabolismo del glucosio e può influenzare la crescita e proliferazione delle cellule tumorali;

- può ridurre l'infiammazione cronica, la quale è associata allo sviluppo di cancro;
- può ridurre lo stress ossidativo;
- può migliorare la funzione del sistema immunitario, aiutando l'organismo a combattere le cellule tumorali e prevenire la loro formazione e proliferazione;
- può indurre cambiamenti trascrizionali che contribuiscono alla protezione contro il carcinoma mammario, influenzando la capacità delle cellule tumorali di crescere e proliferare.

Gli studi sperimentali suggeriscono, quindi, che l'esercizio fisico può influenzare direttamente il microambiente cellulare e molecolare, riducendo la capacità delle cellule tumorali di proliferare e formare tumori. In conclusione, incorporare l'attività fisica nella vita quotidiana rimane una strategia fondamentale per la prevenzione del carcinoma mammario e per migliorare la salute generale.

- **densità mammografica** → il rischio di sviluppare carcinoma mammario è più alto nelle donne con densità mammografica elevata rispetto alle donne con densità bassa. La densità mammografica, quindi, ha un ruolo rilevante come **biomarcatore** nella prevenzione del cancro, in quanto:
  - è fortemente legata all'esposizione agli ormoni, in particolare agli estrogeni, che sono noti per influenzare il rischio di sviluppare il carcinoma mammario;
  - può essere misurata tramite esami di imaging mammografico, che sono procedure non invasive e comunemente utilizzate nella diagnosi e nel monitoraggio del carcinoma mammario;
  - può essere integrata facilmente nella gestione clinica delle pazienti, poiché viene valutata durante gli esami di screening mammografico di routine, aiutando a identificare coloro che presentano un rischio più elevato di cancro.

È stato osservato che una diminuzione della densità mammografica, in particolare se superiore al 10%, dopo il trattamento con il tamoxifene (modulatore selettivo del recettore degli estrogeni), è associata a una significativa riduzione del rischio di carcinoma mammario.

- **allattamento** → l'allattamento offre diversi benefici nella prevenzione del carcinoma mammario, diminuendo l'esposizione agli estrogeni, promuovendo la differenziazione cellulare e il rinnovamento cellulare, ovvero la rimozione di cellule con potenziali danni al DNA. Tuttavia, i tassi attuali di allattamento sono molto inferiori alle raccomandazioni dell'OMS: quest'ultima suggerisce l'allattamento esclusivo al seno per i primi 6 mesi di vita e poi combinato con cibi complementari fino ai 2 anni. Si ritiene che per aumentare i tassi di allattamento servano interventi come programmi di supporto all'allattamento, promozione di una cultura favorevole all'allattamento (ad esempio, eliminando le restrizioni sull'allattamento in luoghi pubblici), congedi parentali retribuiti adeguati, flessibilità lavorativa e regole contro il marketing inappropriato dei sostituti del latte materno.

### 3.2.3 Farmaci per la riduzione del rischio clinicamente disponibili

I farmaci per la riduzione del rischio rappresentano una valida opzione preventiva per le donne con un elevato rischio di carcinoma mammario che preferiscono evitare o posticipare la mastectomia, oppure per coloro il cui rischio non è abbastanza alto da giustificare un intervento chirurgico. Tra i farmaci raccomandati dalle linee guida internazionali vi sono il *tamoxifene* e il *raloxifene*, entrambi appartenenti alla classe dei **SERM**, e gli **inibitori dell'aromatasi** *exemestane* e *anastrozolo*. Nonostante questi farmaci siano efficaci solo nel ridurre il rischio di sviluppare tumori di tipo ER+, questo tipo di carcinoma mammario è il più comune. Pertanto, prevenire questa forma di cancro può comunque ridurre il carico sul sistema sanitario, oltre che sulle donne e sulle loro famiglie.

- **Tamoxifene**: è il farmaco più ampiamente studiato per la riduzione del rischio di carcinoma mammario ed è l'unico agente preventivo efficace sia nelle donne premenopausa che post-menopausa. Riduce il rischio di sviluppare tumori ER+ del 33%,

non solo durante il periodo di assunzione del farmaco (solitamente 5 anni), ma anche per almeno 15 anni dopo la sua interruzione. Tuttavia, è importante considerare che il tamoxifene può causare effetti collaterali come vampate di calore e un leggero aumento del rischio di trombosi, anche se il rischio complessivo rimane basso, soprattutto nelle donne più giovani. Inoltre, il tamoxifene può raddoppiare il rischio di tumore dell'endometrio nelle donne post-menopausa, sebbene questo aumento sia relativamente basso.

Un altro importante ostacolo all'assunzione del tamoxifene è l'impossibilità di prescriverlo in modo sicuro alle donne che cercano di concepire, sono incinte o stanno allattando e il fatto che è incompatibile con i contraccettivi ormonali.

- **Raloxifene:** come il tamoxifene appartiene alla classe dei SERM ed è stato testato esclusivamente in donne post-menopausa. Il raloxifene ha dimostrato di ridurre il rischio di tumore ER+ con efficacia leggermente minore rispetto al tamoxifene. Tuttavia, a differenza del tamoxifene, il raloxifene non aumenta il rischio di tumore endometriale e causa meno eventi tromboembolici.

La valutazione dei rischi e dei benefici legati all'assunzione di raloxifene o tamoxifene nelle donne post-menopausa dipende da vari fattori, tra cui età, etnia, rischio di carcinoma mammario e presenza di isterectomia. Per aiutare a individuare i gruppi di donne per i quali i benefici superano i rischi, sono disponibili tabelle di valutazione del rischio-beneficio per entrambi i farmaci.

- **Inibitori dell'aromatasi:** è stato dimostrato che gli inibitori dell'aromatasi, come l'*exemestane* e l'*anastrozolo*, sono in grado di ridurre il rischio di carcinoma mammario rispettivamente del 60% con un periodo medio di follow-up di 2,5 anni e del 49% con un periodo di follow-up di 10,9 anni. Gli inibitori dell'aromatasi sono più efficaci rispetto a tamoxifene e raloxifene, ma possono essere utilizzati solo nelle donne in post-menopausa, poiché non hanno alcun effetto nelle donne con ovaie funzionanti.

Nella maggior parte dei casi, dovrebbero essere la prima scelta per queste pazienti, riservando il tamoxifene o il raloxifene a coloro che non tollerano gli inibitori

dell'aromatasi.

Nonostante i chiari benefici dei farmaci per la riduzione del rischio di carcinoma mammario, il loro utilizzo tra le donne ad alto rischio rimane limitato. Questa tendenza è influenzata da una serie di fattori che coinvolgono sia i medici che le pazienti. Per quanto riguarda i medici, molte sfide influenzano la loro propensione a prescrivere farmaci preventivi:

- difficoltà nell'utilizzo dei modelli di valutazione del rischio: molti medici trovano difficile utilizzare i modelli di valutazione del rischio esistenti, preferendo strumenti più direttamente collegati alla gestione del rischio;
- conoscenza limitata dei farmaci preventivi: alcuni medici potrebbero non avere una conoscenza approfondita dei farmaci preventivi disponibili e dei loro benefici;
- preoccupazione per la mancanza di indicatori affidabili di efficacia: i medici possono essere preoccupati per la mancanza di indicatori chiari e affidabili dell'efficacia dei farmaci preventivi. Inoltre, potrebbero essere scoraggiati dal generale disinteresse commerciale nella prevenzione del carcinoma mammario da parte delle aziende farmaceutiche. Infatti, poiché i farmaci attualmente disponibili per la prevenzione sono già fuori brevetto, le aziende farmaceutiche potrebbero non avere un incentivo economico per promuoverli attivamente tra i medici.

Tra le pazienti i fattori che influenzano l'adozione dei farmaci per la riduzione del rischio includono:

- la preoccupazione per gli effetti collaterali: è la principale ragione del limitato utilizzo dei farmaci per la riduzione del rischio. Tuttavia, molti dei sintomi riportati dalle donne che assumono farmaci preventivi possono essere attribuiti a fattori di base anziché ai farmaci stessi. È quindi importante che i medici trasmettano non solo gli effetti collaterali potenzialmente negativi, ma anche i benefici dei farmaci preventivi, come una diminuzione del dolore al seno, periodi mestruali più leggeri, una migliore densità ossea e una riduzione del colesterolo;
- la percezione del farmaco come trattamento antitumorale;

- le esperienze di altre persone;
- la confusione tra il tamoxifene e la chemioterapia.

Questi fattori evidenziano la necessità di una migliore educazione e comunicazione tra medici e pazienti per promuovere l'uso appropriato dei farmaci per la riduzione del rischio di carcinoma mammario.

#### *3.2.4 Nuovi agenti preventivi*

Il farmaco "ideale" per ridurre il rischio di carcinoma mammario dovrebbe essere estremamente efficace nel ridurre tale rischio, causare pochi effetti collaterali negativi e offrire ulteriori benefici per la salute. Dovrebbe essere sicuro per le donne che usano contraccezione ormonale, sono in gravidanza o stanno allattando. Inoltre, dovrebbe avere una lunga durata d'azione per evitare l'assunzione quotidiana, essere economico e accessibile. Infine, dovrebbe ottenere un'approvazione normativa rapida e agevolata, con il coinvolgimento dell'industria farmaceutica nel suo sviluppo e distribuzione.

Tra i nuovi farmaci che possono essere utilizzati nella prevenzione del carcinoma mammario, attualmente in trial clinico, troviamo:

- **metformina** → è un farmaco ampiamente utilizzato per il trattamento del diabete di tipo 2. È stato osservato che le persone che assumono metformina hanno una minore incidenza di vari tipi di tumori, incluso il carcinoma mammario. In particolare, l'uso a lungo termine della metformina (almeno 5 anni) è associato a una riduzione del rischio di sviluppare il carcinoma mammario del 37%. Queste osservazioni hanno portato all'avvio di uno studio clinico di fase III, chiamato PLOTINA, che confronta l'efficacia della metformina con quella di un placebo in donne in postmenopausa che sono ad alto rischio di sviluppare il diabete di tipo 2. L'obiettivo dello studio è valutare se la metformina possa effettivamente ridurre il rischio di carcinoma mammario in questa popolazione specifica;
- **bifosfonati** → inizialmente sviluppati per trattare l'osteoporosi, hanno mostrato risultati promettenti per la loro capacità di inibire la proliferazione e le metastasi del

carcinoma mammario e, di conseguenza, sono stati proposti come potenziale opzione per la prevenzione di questo tipo di tumore. Le donne che assumono bifosfonati per l'osteoporosi hanno una riduzione dell'incidenza del carcinoma mammario del 20-47% a seconda dello studio; al contrario, non riducono il rischio di cancro controlaterale quando somministrati come terapia adiuvante. Attualmente è in corso un trial preventivo che valuta gli effetti del bifosfonato alendronato sulla differenziazione delle cellule epiteliali mammarie e sulle cellule immunitarie nelle donne ad alto rischio.

- **retinoidi** → attualmente sono oggetto di sperimentazione per la prevenzione del carcinoma mammario. Questi composti agiscono attraverso l'attivazione dei recettori nucleari dell'acido retinoico, in particolare RAR $\alpha$ , RAR $\beta$  e RAR $\gamma$ , riducendo la proliferazione cellulare, promuovendo la differenziazione cellulare e inducendo l'apoptosi.

Nel caso specifico del retinoide *fenretinide*, è stato dimostrato avere una tendenza a ridurre l'incidenza di un secondo tumore primario al seno nelle donne in premenopausa. La fenretinide presenta un basso profilo di tossicità, con effetti collaterali principalmente legati alla pelle, come secchezza cutanea ed eruzioni cutanee reversibili, e una maggiore difficoltà nell'adattamento all'oscurità, che possono però essere gestiti interrompendo temporaneamente il trattamento. Tuttavia, la fenretinide non è sicura per le donne in gravidanza e presenta controindicazioni simili a quelle del tamoxifene nelle donne in pre-menopausa.

- **anti-progestinici** → sono composti sintetici che antagonizzano l'azione del progesterone e stanno suscitando interesse come potenziali agenti per la prevenzione del carcinoma mammario. Il progesterone è un ormone che può stimolare la crescita di alcuni tipi di cellule della ghiandola mammaria, quindi bloccarne l'azione potrebbe aiutare a prevenire lo sviluppo del tumore.

Uno degli studi più interessanti in questo ambito ha riguardato topi geneticamente modificati che presentano una carenza del gene BRCA1, che è noto per aumentare il rischio di cancro. In questi topi, il trattamento con l'antagonista del progesterone

*mifepristone* ha dimostrato di inibire la tumorigenesi. Tuttavia, nonostante i risultati promettenti, il mifepristone è considerato troppo tossico per un uso prolungato nella prevenzione del cancro al seno nelle donne. Gli effetti collaterali possono essere significativi e includono problemi come nausea, affaticamento, e possibili effetti negativi sul sistema endocrino e riproduttivo. Per questo motivo, la ricerca si sta concentrando su altri modulatori del recettore del progesterone che abbiano un profilo di sicurezza migliore rispetto al mifepristone, quindi più adatti per l'uso a lungo termine nella prevenzione.

- **FANS** → sono farmaci economici, ampiamente disponibili e relativamente sicuri, caratteristiche che li rendono interessanti per la prevenzione del carcinoma mammario.

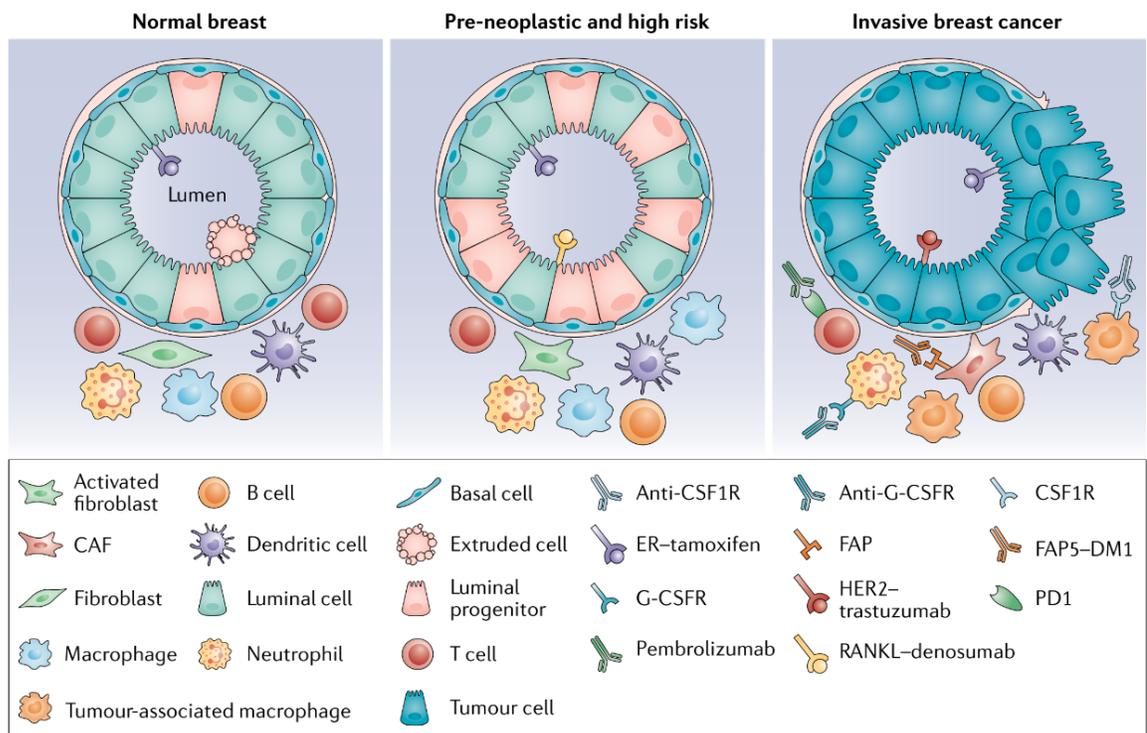
Per esempio, è stato osservato che l'uso regolare di *aspirina*, almeno due volte a settimana per cinque anni, è associato a una riduzione del rischio di carcinoma mammario. Più a lungo si assume l'aspirina, maggiore sembra essere la riduzione del rischio. Anche altri FANS, come gli *inibitori della cicloossigenasi 2 (COX2)*, hanno dimostrato di poter ridurre significativamente il rischio di sviluppare il carcinoma mammario, specialmente in donne con una forte storia familiare di questa malattia.

I FANS potrebbero quindi rappresentare un'importante strategia nella prevenzione del carcinoma mammario, ma sono necessarie ulteriori ricerche per confermare questi risultati e per stabilire linee guida cliniche sicure ed efficaci.

Per tutti questi trattamenti preventivi, un aspetto importante sarà determinare il momento migliore per somministrare la terapia, in modo da garantire alti livelli di protezione durante il periodo più cruciale. In particolare, poiché è noto che il periodo tra la pubertà e la prima gravidanza è una finestra che influisce sul rischio, la maggior parte degli studi in corso mira a determinare perché questo periodo è così rilevante e se è anche il momento più efficace per somministrare una terapia preventiva di lunga durata.

In generale, al fine di formulare nuovi farmaci preventivi per ridurre il rischio di carcinoma mammario è necessario comprendere in maniera approfondita gli eventi che portano al suo sviluppo.

L'epitelio mammario normale è composto da vari tipi di cellule ed è immerso in un complesso microambiente stromale e immunitario. Nelle donne portatrici di mutazioni BRCA1, a rischio di carcinoma mammario, si osservano alterazioni epiteliali e può verificarsi un aumento di altri sottotipi di cellule epiteliali in diverse condizioni di rischio. Inoltre, i microambienti stromale e immunitario svolgono un ruolo significativo nella crescita e nella progressione del carcinoma mammario, sia pre-invasivo che invasivo, e possono contribuire allo sviluppo del tumore nel seno normale dopo il parto. Pertanto, è importante studiare il microambiente delle lesioni precoci delle ghiandole mammarie a rischio di cancro per determinare se le cellule presenti possono essere bersagliate per la prevenzione del cancro (**Figura 12**).



**Figura 12.** Sviluppo di nuovi farmaci preventivi basati su una comprensione più approfondita degli eventi precoci nello sviluppo del carcinoma mammario.

In conclusione, conoscendo meglio i cambiamenti che si verificano nella ghiandola mammaria pre-neoplastica, sarà possibile sviluppare terapie aggiuntive che prendano di mira in modo specifico l'epitelio, lo stroma, o il sistema immunitario in fase precoce, evitando che il tumore diventi più avanzato o difficile da trattare.

## CONCLUSIONE

Questa tesi offre un'analisi approfondita del carcinoma mammario, esaminandone classificazione, eziologia, patogenesi, terapie disponibili e opzioni preventive. Una descrizione dettagliata dei fattori di rischio genetici e non genetici, delle vie di segnalazione coinvolte nell'oncogenesi mammaria e del microambiente tumorale ha fornito una comprensione completa della complessità e della natura multifattoriale del carcinoma mammario.

Analizzando le terapie attualmente disponibili, è emersa la necessità di sviluppare trattamenti personalizzati e mirati, che tengano conto delle caratteristiche molecolari specifiche di ogni tipo di tumore, al fine di migliorare la prognosi e la qualità della vita delle pazienti.

Questo elaborato ha posto particolare attenzione sulla prevenzione del carcinoma mammario, discutendo le opzioni preventive disponibili, tra cui i cambiamenti nello stile di vita, l'uso di farmaci preventivi e gli interventi chirurgici. Si è giunti alla conclusione che la prevenzione riveste un ruolo cruciale nella lotta contro il carcinoma mammario, riducendo in modo significativo l'incidenza della malattia e migliorando la salute pubblica.

Inoltre, viene messa in luce la necessità di un approccio integrato e multidisciplinare nella gestione del carcinoma mammario. La combinazione di conoscenze avanzate sulla patogenesi del tumore, terapie innovative e strategie preventive efficaci rappresenta la chiave per migliorare gli esiti clinici e ridurre l'impatto della malattia. Tuttavia, la complessità biologica del carcinoma mammario e la variabilità individuale tra le pazienti rappresentano sfide significative che richiedono ulteriori studi. Future ricerche potrebbero focalizzarsi su nuove vie di segnalazione e sullo sviluppo di terapie ancora più personalizzate e mirate.

In conclusione, questa tesi ha voluto fornire una panoramica esaustiva del carcinoma mammario, dalle basi biologiche e patogenetiche alle opzioni terapeutiche, sottolineando l'importanza di investire nella prevenzione al fine di migliorare la salute pubblica, salvare vite, ridurre i costi sanitari e migliorare la qualità della vita delle donne. Educare le donne sull'importanza della prevenzione e fornire loro accesso a strumenti di screening e diagnosi precoce sono elementi fondamentali per affrontare questa sfida.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Emma Nolan, Geoffrey J. Lindeman e Jane E. Visvader 2023.  
Review «*Deciphering breast cancer: from biology to the clinic*». *Cell* (2023).  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.01.040>
- [2] Sayali S. Onkar, Neil M. Carleton, Peter C. Lucas, Tullia C. Bruno, Adrian V. Lee, Dario A.A. Vignali e Steffi Oesterreich (2023)  
Review «*The Great Immune Escape: Understanding the Divergent Immune Response in Breast Cancer Subtypes*». AACRJournals.org, CANCER DISCOVERY (2023)  
<http://aacrjournals.org/cancerdiscovery/article-pdf/13/1/23/3238333/23.pdf>
- [3] Kara L. Britt, Jack Cuzick e Kelly-Anne Phillips 2020.  
Review «Key steps for effective breast cancer prevention». *Nature* (2020)  
<https://doi.org/10.1038/s41568-020-0266-x>