



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

Nuove frontiere terapeutiche nel carcinoma ovarico: inibitori PARP e immunoterapia

Relatore: Chiar.mo Prof Giampietro Viola

Laureanda: Chiara Faganello

Matricola: 2032848

ANNO ACCADEMICO 2025-2026



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

DIPARTIMENTO DI SALUTE DELLA DONNA E DEL BAMBINO

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN FARMACIA

TESI DI LAUREA

Nuove frontiere terapeutiche nel carcinoma ovarico: inibitori PARP e immunoterapia

Relatore: Chiar.mo Prof Giampietro Viola

Laureanda: Chiara Faganello

Matricola: 2032848

ANNO ACCADEMICO 2025-2026

*A me stessa,
a tutte le volte in cui
ho pensato di non farcela*

INDICE

1. INTRODUZIONE

- 1.1. Descrizione del carcinoma ovarico
- 1.2. Epidemiologia
- 1.3. Eziopatogenesi
- 1.4. Fattori di rischio
- 1.5. Sintomatologia
- 1.6. Motivazione della ricerca di nuove terapie mirate.

2. TRATTAMENTI CONVENZIONALI

- 2.1. Descrizione delle terapie standard: chirurgia citoreducente seguita da chemioterapia a base di platino e taxani.
- 2.2. Concetto di “risposta al platino” (sensibilità, resistenza, recidiva).
- 2.3. Limiti: alta frequenza di recidive, tossicità cumulativa, resistenza ai farmaci tradizionali.

3. BASI MOLECOLARI DEL CARCINOMA OVARICO

- 3.1. Ruolo delle mutazioni germinali e somatiche nei geni BRCA1/2.
- 3.2. Importanza della homologous recombination deficiency (HRD) come vulnerabilità terapeutica.
- 3.3. Meccanismi di riparazione del DNA e loro alterazioni
 - 3.3.1. Ricombinazione omologa (HR)
 - 3.3.2. Riparazione per giunzione non omologa delle estremità (NHEJ)
 - 3.3.3. Riparazione degli errori di appaiamento (MMR)
 - 3.3.4. Riparazione per escissioni di basi (BER)
 - 3.3.5. Riparazione per escissione di nucleotidi (NER)
- 3.4. Microambiente tumorale: angiogenesi, immunosoppressione e capacità del tumore di sfuggire alla sorveglianza immunitaria.

4. INIBITORI DI PARP (Poly-ADP-Ribose Polymerase)

- 4.1. Meccanismo della “synthetic lethality”: blocco della riparazione delle rotture a singolo filamento che diventa letale in cellule con deficit HR.
- 4.2. Farmaci attualmente in uso clinico:
 - 4.2.1. Olaparib
 - 4.2.2. Niraparib

4.2.3. Rucaparib e Talazoparib

- 4.3. Indicazioni terapeutiche: prima linea, mantenimento, recidiva.
- 4.4. Meccanismi di resistenza (ripristino della HR, efflusso dei farmaci, mutazioni secondarie).

5. IMMUNOTERAPIA NEL CARCINOMA OVARICO

- 5.1. Razionale: sfruttare il sistema immunitario contro le cellule tumorali.
- 5.2. Checkpoint immunitari: PD-1/PD-L1, CTLA-4, con esempi di farmaci (nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab).
- 5.3. Limiti clinici dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico.
- 5.4. Strategie complementari:
 - 5.4.1. Vaccini terapeutici anti-tumorali.
 - 5.4.2. Terapie cellulari (CAR-T).
 - 5.4.3. Molecole stimolanti la risposta immunitaria (agonisti TLR, oncolytic viruses).
- 5.5. Sfide biologiche e terapeutiche dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico.

6. APPROCCI COMBINATI E PROSPETTIVE FUTURE

- 6.1. Razionale delle combinazioni terapeutiche:
 - 6.1.1. PARP-inibitori + anti-angiogenici (es. olaparib + bevacizumab).
 - 6.1.2. PARP-inibitori + immunoterapia (sinergia fra danno al DNA e aumento neoantigeni).
- 6.2. Studi clinici in corso e primi risultati promettenti.
- 6.3. Tendenza verso la medicina di precisione: test genomici e molecolari per selezionare le pazienti.
- 6.4. Importanza della stratificazione delle pazienti in base a biomarcatori predittivi.

7. CONCLUSIONI

8. BIBLIOGRAFIA

RIASSUNTO

Il carcinoma ovarico rappresenta oggi la neoplasia ginecologica più letale, caratterizzata da un'elevata aggressività e da una prognosi spesso infausta, principalmente a causa della diagnosi tardiva e dell'insorgenza di recidive dopo i trattamenti iniziali. Nonostante lo standard terapeutico attuale preveda la chirurgia citoriduttiva associata a chemioterapia a base di platino e taxani, circa l'80% delle pazienti in stadio avanzato va incontro a una ricaduta della malattia, sviluppando progressivamente una resistenza ai farmaci tradizionali.

Negli ultimi anni, i progressi nella biologia molecolare hanno rivoluzionato il panorama terapeutico, spostando l'attenzione verso strategie mirate che sfruttano le vulnerabilità genetiche del tumore. Questo lavoro di tesi analizza le "nuove frontiere" rappresentate dagli inibitori di PARP e dall'immunoterapia, esaminandone i meccanismi d'azione, l'efficacia clinica e le prospettive di integrazione nella pratica oncologica.

Un pilastro fondamentale di questa evoluzione è la comprensione dei difetti nei sistemi di riparazione del DNA. Le mutazioni nei geni BRCA1 e BRCA2 e, più ampiamente, il deficit di ricombinazione omologa (HRD), rendono le cellule tumorali incapaci di correggere le rotture del DNA a doppio filamento. Gli inibitori di PARP (come Olaparib, Niraparib, Rucaparib e Talazoparib) sfruttano il principio della letalità sintetica: bloccando l'enzima PARP, cellule tumorali HRD-positive e preservando al contempo le cellule sane. L'introduzione di questi farmaci come terapia di mantenimento ha dimostrato un miglioramento significativo della sopravvivenza libera da progressione (PFS).

Parallelamente, l'immunoterapia mira a riattivare il sistema immunitario contro le cellule neoplastiche. Sebbene il carcinoma ovarico sia spesso considerato un tumore "immunologicamente freddo" a causa di un microambiente tumorale (TME) fortemente immunosoppressivo, l'impiego di inibitori dei checkpoint immunitari (anti-PD-1/PD-L1 e CTLA-4, come Nivolumab e Pembrolizumab) ha aperto nuove strade. Tuttavia, l'efficacia in monoterapia rimane limitata, spingendo la ricerca verso approcci combinati (es. inibitori di PARP associati ad anti-angiogenici o immunoterapici) per superare le resistenze e potenziare la risposta antitumorale.

Infine, il lavoro esplora le tecnologie emergenti, come i coniugati anticorpo-farmaco (ADC), tra cui il Mirvetuximab Soravtansine, e l'importanza cruciale della medicina di precisione. L'utilizzo di test genomici e molecolari per la stratificazione delle pazienti (test HRD, FOLR1) risulta oggi indispensabile per identificare i profili biologici che possono trarre il massimo beneficio dalle nuove terapie, riducendo le tossicità e personalizzando il percorso di cura. In conclusione, l'integrazione razionale di queste nuove opzioni farmacologiche rappresenta la sfida principale per migliorare la sopravvivenza e la qualità di vita delle pazienti affette da carcinoma ovarico.

1. INTRODUZIONE

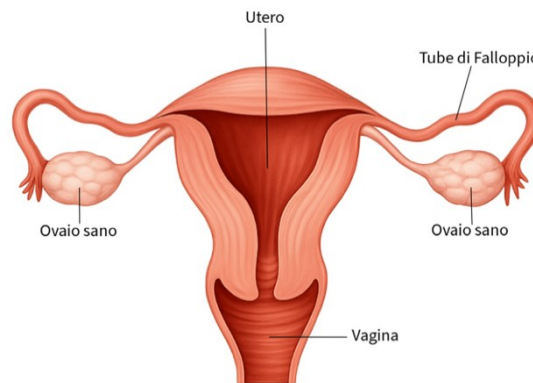
1.1 Descrizione del carcinoma ovarico.

Le ovaie, o gonadi femminili, sono due ghiandole dalla forma simile a una mandorla, con un peso compreso tra 5 e 10 grammi e di dimensioni che variano tra 2,5 e 5 centimetri in base allo stadio di avanzamento del ciclo ovarico.¹

Situate ai due lati dell'utero, le ovaie sono collegate a quest'ultimo e alle tube di Falloppio tramite specifici legamenti (Figura 1).¹

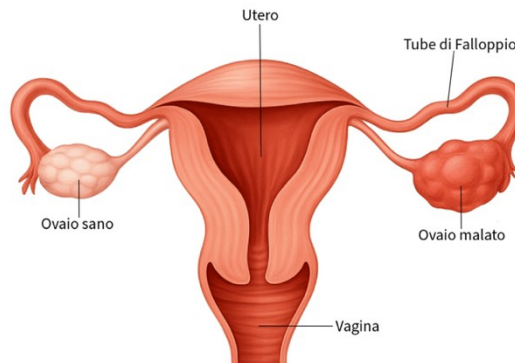
Le ovaie svolgono due funzioni principali: da un lato producono gli ovuli, indispensabili per il processo riproduttivo, dall'altro rilasciano ormoni sessuali, come estrogeni e progesterone, che regolano le varie fasi della vita riproduttiva della donna.¹

Figura 1: rappresentazione apparato genitale femminile con ovaie sane



Il carcinoma ovarico è un tumore epiteliale maligno solido dell'ovaio, ovvero la massa tumorale è costituita da cellule che formano un tessuto compatto, a differenza dei tumori ematologici, che coinvolgono cellule circolanti nel sangue o nel sistema linfatico. Il carcinoma ovarico si sviluppa a seguito della proliferazione incontrollata delle cellule dell'organo, associata alla perdita dei normali meccanismi di regolazione della crescita e dell'apoptosi (Figura 2).²

Figura 2: rappresentazione apparato genitale femminile con ovaio malato



1.2 Epidemiologia.

Il carcinoma ovarico è oggi considerato la neoplasia ginecologica più letale, responsabile di una quota rilevante della mortalità oncologica femminile. La sua aggressività è legata soprattutto alla diagnosi tardiva, poiché nelle fasi precoci i sintomi sono lievi o aspecifici, e alla frequente recidiva anche dopo terapie inizialmente efficaci.¹

Nonostante la combinazione di chirurgia citoriduttrice e chemioterapia a base di platino rimanga lo standard di cura, una parte consistente delle pazienti sviluppa resistenza ai trattamenti convenzionali, con conseguente riduzione delle possibilità di guarigione a lungo termine.¹

A livello mondiale, secondo i dati rilevati nel 2024, il cancro ovarico rappresenta l'ottava neoplasia più frequente nelle donne, costituendo circa il 3,7% di tutti i casi tumorali e il 4,7% dei decessi per cancro registrati nel 2020.¹

Fino ai primi anni 2000, la maggiore incidenza standardizzata per età si osservava nel Nord Europa e nel Nord America; tuttavia, questa tendenza è cambiata: oggi l'incidenza è in diminuzione in queste aree, mentre c'è un aumento in alcune regioni dell'Europa orientale e dell'Asia.¹

Il cancro ovarico è una patologia estremamente eterogenea e, anche all'interno della forma più comune, nel carcinoma ovarico epiteliale si distinguono cinque principali isotipi ciascuno con caratteristiche cliniche e genetiche proprie. Oggi si riconosce che la maggior parte dei carcinomi sierosi di alto grado ha origine nelle estremità fimbriali delle tube di Falloppio. Questa scoperta ha portato a riclassificare numerosi tumori come di origine tubarica, spiegando in parte il calo apparente dell'incidenza del tumore ovarico osservato soprattutto nei paesi ad alto reddito. Allo stesso tempo, tale conoscenza evidenzia come la salpingectomia opportunistica (rimozione chirurgica delle tube di Falloppio) possa rappresentare una strategia preventiva importante.³

1.3 Eziopatogenesi.

Classificazione del carcinoma ovarico:

- Carcinoma di tipo I: è rappresentato dal 25% dei carcinomi epiteliali ovarici. Ha una crescita lenta, un volume notevole ed è un carcinoma sieroso di basso grado. È stabile geneticamente e raramente avvengono mutazioni del gene p53. Le mutazioni frequenti si riferiscono ai geni KRAS, BRAF, CTNNB1/B-catenina. Il progenitore viene rappresentato da un tumore ovarico borderline o dalla presenza di un'endometriosi.²
- Carcinoma di tipo II: è il restante 75%. Ha una crescita rapida e aggressiva, un volume che può variare ed è un carcinoma sieroso di alto grado, spesso diagnosticato in stadio avanzato. Le caratteristiche di questo carcinoma sono: instabile geneticamente, avviene la mutazione del gene p53 nell'80% dei casi e c'è la disfunzione dei geni BRCA1 e BRCA2. Il progenitore del tumore ad alto grado è stato identificato in un carcinoma intraepiteliale del rivestimento tubo-ovarico, in un'elevata percentuale di casi.²

1.4 Fattori di rischio.

Le evidenze scientifiche individuano tre principali categorie di fattori di rischio per lo sviluppo del tumore ovarico:

- Fattori ormonali: gli ormoni stimolano l'attività ovarica, come l'Ormone Follicolo Stimolante (FSH) e l'Ormone Luteinizzante (LH), possono favorire mutazioni cellulari. Inoltre, l'ovulazione continua e senza interruzioni nel tempo è associata a un aumento del rischio, in quanto può contribuire alla trasformazione neoplastica delle cellule ovariche.⁴
- Fattori ambientali e comportamentali: l'esposizione a sostanze cancerogene attraverso la vagina e le tube di Falloppio può coinvolgere direttamente l'ovaio e l'esposizione ad asbesto e talco, abuso di alcol, obesità e dieta ricca di grassi compromettono la salute ovarica e aumentano il rischio oncologico.⁴
- Fattori ereditari/familiari: una familiarità per neoplasie ginecologiche o mutazioni genetiche ereditarie (BRCA 1 e BRCA 2) rappresenta un rischio importante.⁴

La maggior parte dei casi di tumore ovarico si manifesta tra i 50 e i 70 anni ed ulteriori elementi che vanno ad aumentare il rischio sono la lunga durata del periodo ovulatorio, ossia menarca precoce e/o menopausa tardiva, e l'assenza di gravidanze.

Al contrario, alcuni comportamenti e condizioni possono contribuire a ridurre il rischio di sviluppare un tumore ovarico. Tra i principali fattori protettivi rientrano l'aver avuto più figli, l'allattamento al seno e l'uso prolungato di contraccettivi estroprogestinici. Questi ultimi, in particolare, sembrano diminuire l'attività ovulatoria, riducendo così la possibilità di trasformazioni maligne a livello delle ovaie.⁴

1.5 Sintomatologia.

Il tumore ovarico è una neoplasia ginecologica difficile da diagnosticare poiché non dà sintomi durante le fasi iniziali e di conseguenza viene individuato ad uno stadio avanzato quando le possibilità di recupero si presentano significativamente ridotte.

Tra i principali sintomi che possono suggerire la presenza iniziale di un carcinoma ovarico si segnalano: gonfiore persistente dell'addome, meteorismo e aumentata frequenza urinaria.⁵

Altri disturbi che possono comparire includono dolore nella parte bassa dell'addome o nelle pelvi, perdite di sangue vaginali non correlate al ciclo mestruale, alterazioni dell'intestino come stitichezza o diarrea e una marcata sensazione di affaticamento. Nelle fasi più avanzate della patologia la sintomatologia è caratterizzata da un aumento di volume nell'addome inferiore e possono manifestarsi anche nausea, riduzione dell'appetito e senso di pienezza precoce, percepito già dopo l'assunzione di piccole quantità di cibo.⁵

1.6 Motivazione nella ricerca di nuove terapie mirate.

Negli ultimi anni, i progressi nella biologia molecolare dei tumori hanno consentito di comprendere più a fondo i meccanismi che regolano la crescita e la sopravvivenza delle cellule neoplastiche ovariche. In particolare, l'attenzione si è focalizzata sui difetti nei sistemi di riparo del DNA e sulle alterazioni delle vie immunitarie, aprendo la strada a strategie terapeutiche mirate. Tra queste, un ruolo di primo piano è ricoperto dagli inibitori di PARP, capaci di sfruttare la letalità sintetica nelle cellule con difetto di ricombinazione omologa, e dalle immunoterapie, che mirano a potenziare la risposta immunitaria antitumorale.

L'obiettivo di questo lavoro è offrire una rassegna critica delle nuove opzioni farmacologiche nel carcinoma ovarico, analizzandone i meccanismi d'azione, le evidenze cliniche e le prospettive di integrazione nei protocolli terapeutici futuri, con particolare riferimento agli inibitori di PARP e alle strategie immunoterapiche.

La comprensione di queste nuove strategie terapeutiche rappresenta attualmente una sfida cruciale per migliorare la prognosi e la qualità di vita delle pazienti affette da neoplasia ovarica.

2. TRATTAMENTI CONVENZIONALI

2.1 Descrizione delle terapie standard: chirurgia citoreduttrice seguita da chemioterapia a base di platino e taxani.

Il trattamento del carcinoma ovarico epiteliale prevede un approccio terapeutico combinato, in cui chirurgia citoreduttrice e chemioterapia vengono impiegate secondo una sequenza coordinata.⁶

L'orientamento verso la chirurgia è di fondamentale importanza in caso di tumore ovarico sospetto sia a scopi diagnostici, per accertarsi della natura istopatologica della massa, sia a scopi terapeutici, per consentirne la sua rimozione e la massima valutazione dell'estensione della malattia a livello anatomico.⁶

Nel caso di una diagnosi di tumore ovarico maligno deve essere eseguita la stadiazione chirurgica affinché definisca in modo esatto lo stadio e la prognosi della paziente.⁶

Per il trattamento chirurgico del carcinoma ovarico negli stadi iniziali I e II l'obiettivo è quello di rimuovere la malattia pelvica ed eseguire una stadiazione completa per individuare eventuali zone occulte nell'alto addome e nel retroperitoneo.⁶

Nel caso invece di pazienti affette da tumore ovarico avanzato allo stadio III e IV si ricorre alla chirurgia citoreduttrice e viene considerata ottimale solamente una citoreduzione con residuo di tumore macroscopicamente assente.⁶

Nelle pazienti a basso rischio la chirurgia è funzionale al 95% dei casi e non è necessario un trattamento chemioterapico adiuvante, mentre le donne che presentano la malattia ad alta stadiazione tumorale sono raccomandate per un trattamento adiuvante.⁶

La chemioterapia a base di platino e taxani dopo chirurgia citoreduttrice rappresenta la terapia standard per le pazienti con cancro ovarico epiteliale avanzato. Nonostante questa strategia terapeutica, la maggior parte delle pazienti con carcinoma ovarico in III o IV stadio presentano un elevato rischio di recidiva e mortalità correlata alla progressione della malattia.⁷

La letteratura⁷ spiega che maggiore è la riduzione del tumore durante la chirurgia, più aumenterà la probabilità di sopravvivenza. Pertanto le pazienti con cancro ovarico in stadio avanzato traggono beneficio solamente quando la chirurgia citoreduttrice dà un risultato ottimale, spesso però difficile da raggiungere a causa dell'estensione iniziale della malattia. Per tale motivo, le pazienti che nel post-chirurgia citoreduttrice hanno ancora noduli tumorali più grandi di 2 cm la sopravvivenza non è certa perciò la chirurgia diventa oggetto di discussione.⁷

La terapia standard nel trattamento di I linea del carcinoma ovarico avanzato è costituita dalla combinazione dei taxani e di un derivato del platino somministrato per 6 cicli ogni 21 giorni.⁸

Sono state effettuate varie combinazioni prima di comprendere quale fosse la terapia migliore per questo tipo di neoplasia. L'associazione tra cisplatino e paclitaxel è migliore rispetto alla

combinazione con ciclofosfamide, favorendo una maggiore risposta clinica, una migliore sopravvivenza libera da progressione e una sopravvivenza globale più duratura.⁸

Un'ulteriore combinazione è quella tra carboplatino e paclitaxel e risulta equiparabile in termini di efficacia rispetto alla combinazione tra cisplatino e paclitaxel, ma con un profilo tossicologico migliore. Per tale motivo carboplatino e paclitaxel è la terapia standard per la cura del cancro ovarico in stadio epiteliale avanzato.⁸

Simultaneamente, è stato aggiunto alla combinazione cisplatino e paclitaxel un terzo farmaco, un'antraciclina: la doxorubicina, che contribuisce al miglioramento della sopravvivenza rispetto ai regimi senza doxorubicina.⁸

Questa tripla combinazione genera un'elevata attività antitumorale ma provoca una maggiore tossicità, quali ematologica (neutropenia), piastrinopenia e renale. Inoltre necessita spesso supporto con G-CSF, un fattore di crescita utilizzato come supporto nella terapia con tre farmaci per contrastare la neutropenia severa.⁸

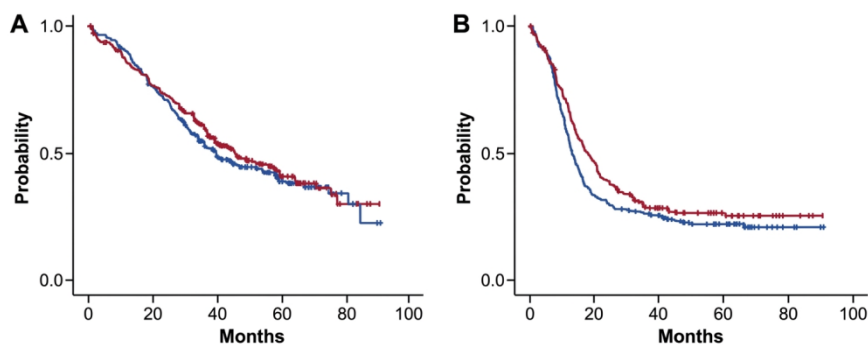


Figura 1:

Overall survival (A) ($p = 0.53$) and PFS (B) ($p = 0.07$) of patients treated with Paclitaxel-Carboplatin or with Cisplatin-Paclitaxel-Doxorubicin.⁸

2.2 Concetto di “risposta al platino” (sensibilità, resistenza, recidiva).

Nel contesto della neoplasia ovarica epiteliale, il concetto di “risposta al platino” assume un ruolo fondamentale nella pratica clinica, poiché va a definire: sensibilità, resistenza e recidiva nei confronti della chemioterapia a base di platino e costituisce un importante fattore prognostico e un orientamento verso le successive scelte terapeutiche.

Gran parte delle donne con tumore ovarico avanzato sviluppa una malattia recidivante entro 3 anni e muore entro 5 anni poiché la condizione clinica recidivante nella maggior parte dei casi non risulta curabile. Nonostante la malattia recidivante risulta spesso sensibile alle chemioterapie a base di platino, le pazienti dopo un lungo periodo sviluppano una resistenza al platino. Infatti, un parametro fondamentale che influenza lo scarso tasso di sopravvivenza del tumore ovarico è

l'incremento della resistenza alla chemioterapia in seguito alla somministrazione di diversi cicli di chemioterapia.⁹

Agli inizi, nel tumore ovarico, la risposta alla chemioterapia a base di platino viene suddivisa in tre categorie: resistente, sensibile, parzialmente sensibile e refrattaria al platino. Questa suddivisione è utile per la gestione clinica della malattia.⁹

Le pazienti refrattarie al platino non rispondono al trattamento e mostrano una progressione della malattia durante il trattamento.⁹

Invece, la maggior parte delle pazienti che risultano resistenti o sensibili al platino si ripresentano solitamente entro 18-24 mesi dal completamento del trattamento della chemioterapia a base di platino.¹⁰

Uno dei parametri più sicuri della risposta al ciclo di chemioterapia successivo è la durata dell'intervallo libero da progressione (PFI), descritto come l'intervallo tra il completamento dell'ultimo ciclo di chemioterapia a base di platino e il tempo di recidiva della malattia.¹⁰

Le pazienti che risultano resistenti al platino inizialmente mostreranno una risposta alla chemioterapia ma entro 6 mesi dall'ultimo ciclo subiranno una ricaduta, mentre la recidiva dopo un PFI di 6 mesi è ritenuta sensibile al platino. Inoltre, è stata definita anche la malattia parzialmente sensibile al platino che viene applicata alle recidive tra i 6 e i 12 mesi dal completamento della chemioterapia a base di platino.¹⁰

Lo sviluppo della resistenza alla chemioterapia a base di platino rappresenta un processo complesso e plurifattoriale, che comprende alcuni meccanismi biologici: l'alterazione dei processi apoptotici, l'elevata capacità delle cellule tumorali di riparare il danno al DNA creato dal farmaco, la riduzione dell'accumulo intracellulare e l'inattivazione del farmaco stesso.¹¹

Generalmente, la maggior parte delle pazienti con tumore ovarico avranno una malattia sensibile al platino. Quando per questi casi si ricorre a una chemioterapia di secondo linea, le possibilità di ottenere un risultato equivalgono al 60% o più e l'effetto della chemioterapia dura solitamente tra i 9 e i 13 mesi.¹¹

Il gruppo delle pazienti con patologia parzialmente sensibile al platino se alla recidiva vengono trattate di nuovo con farmaci a base di platino, circa il 39% risponde al trattamento e il periodo di tempo con assenza di progressione della malattia sarà più o meno di 9 mesi.¹¹

Nel momento in cui, invece, la malattia è considerata resistente al platino, gli effetti positivi della terapia sono più limitati perché solo una minoranza delle pazienti (~16%) mostra beneficio e spesso non tende a durare molto prima che la malattia riprenda a progredire.¹¹

Platinum sensitivity classification	Refractory	Resistant	Partially sensitive	Sensitive
Timing of initial progression	Chemotherapy	0-6 months→	6-12 months→	> 12 months→
Probability of 2nd line platinum response (%)	0	< 10	39	> 60

Tabella 1. Platinum sensitività/resistance classification¹¹

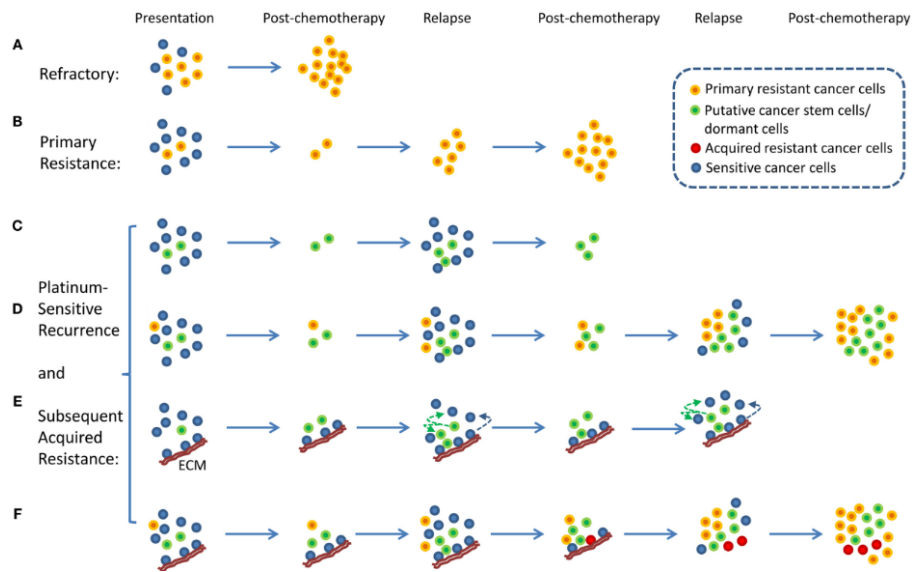


Figura 1. Modelli proposti di recidiva resistente e sensibile al platino . **(A)** Tumore refrattario al platino. In questo modello, il tumore è costituito principalmente da cellule resistenti alla chemioterapia. Dopo il trattamento, queste cellule resistenti continuano a proliferare, determinando la progressione della malattia durante il trattamento. **(B)** Resistenza al platino. In questo modello, il tumore è costituito da un'ampia proporzione di cellule tumorali sensibili alla chemioterapia e da una piccola proporzione di cellule tumorali resistenti alla chemioterapia. Dopo il trattamento, le cellule sensibili alla chemioterapia vengono eliminate, determinando una risposta clinica misurabile. Tuttavia, le cellule tumorali resistenti ripopolano il tumore e si osserva una recidiva entro 6 mesi dall'ultima chemioterapia. **(C)** Un modello di recidiva sensibile al platino. In questo modello, le "cellule staminali tumorali" quiescenti persistono dopo la chemioterapia e ripopolano il tumore, causando la recidiva. Poiché il tumore ripopolato deriva da "cellule staminali tumorali", queste cellule tumorali mantengono il fenotipo originale in termini di risposta alla chemioterapia. Pertanto, si prevede che questi tumori siano sensibili alla chemioterapia, con conseguente recidiva sensibile al platino. **(D)** Un modello di resistenza acquisita al platino. In questo modello, il tumore originale è composto da una popolazione eterogenea di cellule tumorali, costituita da una piccola popolazione di cellule tumorali resistenti alla chemioterapia (cellule di colore arancione), presunte "cellule staminali tumorali" (cellule di colore verde) e cellule tumorali sensibili alla chemioterapia (cellule di colore blu). Dopo il trattamento, le cellule residue sono composte da cellule resistenti alla chemioterapia e cellule staminali tumorali. Sulla base dei modelli delle cellule staminali tumorali, le presunte cellule staminali tumorali sono in grado di ripristinare il tumore. A causa dell'elevato potenziale replicativo delle cellule in transito amplificante derivate dalle cellule staminali tumorali, queste cellule possono contribuire alla massa del tumore recidivante. È importante notare che le cellule tumorali resistenti alla chemioterapia (cellule di colore arancione) continueranno ad espandersi e a contribuire alla recidiva. Tuttavia, a causa delle dinamiche di espansione della popolazione, queste cellule resistenti possono costituire una piccola percentuale della massa tumorale.

Tuttavia, con i successivi cicli di chemioterapia, la popolazione di cellule tumorali resistenti continuerà ad espandersi fino a diventare la maggioranza della massa tumorale. A questo punto, il tumore non mostrerà una risposta clinicamente misurabile, portando alla classificazione clinica di resistenza acquisita al platino. **(E)** Visione alternativa della recidiva sensibile al platino. In questo modello, la massa tumorale è composta da una popolazione eterogenea di cellule tumorali. Alcune cellule tumorali sono associate a componenti specifici della matrice extracellulare (ECM) e questa interazione protegge le cellule dalla chemioterapia. Queste cellule persistono insieme alle putative cellule staminali tumorali ed entrambe contribuiscono alla recidiva sensibile al platino. È importante notare che questo modello ipotizza che alcune cellule tumorali che crescono perderanno il contatto con particolari componenti dell'ECM e diventeranno sensibili alla chemioterapia. **(F)** Modello unificato di resistenza acquisita. In questo modello, il tumore originale è composto da una popolazione eterogenea di cellule tumorali costituita da cellule staminali tumorali, cellule tumorali quiescenti o dormienti, cellule resistenti alla chemioterapia e cellule tumorali che sono o non sono associate a particolari componenti dell'ECM. Dopo la chemioterapia, si ipotizza la persistenza di quattro tipi di cellule tumorali: cellule tumorali resistenti alla chemioterapia, cellule staminali tumorali, cellule tumorali quiescenti o dormienti e cellule tumorali associate a componenti specifici dell'ECM. Tutti e quattro i tipi cellulari contribuiscono alla recidiva della malattia. Dopo diversi cicli di chemioterapia, il modello ipotizza anche la comparsa di nuovi cloni (cellule di colore rosso, derivate da cellule associate alla matrice, da cellule tumorali dormienti o da cellule staminali tumorali) che hanno acquisito ulteriori alterazioni genetiche che consentono una resistenza *de novo* alla chemioterapia. Tutte queste cellule possono contribuire all'acquisizione di resistenza.¹¹

2.3 Limiti: alta frequenza di recidive, tossicità cumulativa, resistenza ai farmaci tradizionali.

I progressi nell'ambito chirurgico e farmacologico nella cura del carcinoma ovarico sono molteplici ma presentano tre criticità fondamentali che limitano in modo significativo l'efficacia delle terapie: l'alta frequenza di recidive, la tossicità cumulativa delle terapie e la crescita della resistenza ai farmaci tradizionali.

La terapia standard per il trattamento del carcinoma ovarico prevede la chirurgia citoreducente seguita da cicli di chemioterapia a base di platino ma, nonostante ciò, all'incirca l'80% delle donne con tumore ovarico in stadio avanzato e il 20% delle pazienti con tumore ovarico in stadio iniziale vanno incontro a una recidiva successivamente alla terapia di prima linea. La recidiva è associata a una progressiva perdita di sensibilità al trattamento.¹²

La prima causa legata alla frequenza delle recidive è la selezione clonale. Il carcinoma ovarico è considerato un tumore eterogeneo ed è costituito da svariate sottopopolazioni cellulari che hanno diversa sensibilità per i farmaci. Il trattamento standard a base di platino rimuove prevalentemente le cellule più sensibili e allo stesso tempo permette la sopravvivenza di cloni

intrinsecamente resistenti. Quest'ultimi definiscono il substrato biologico della recidiva che successivamente alla fine della terapia si amplierà e darà origine a un'ulteriore massa tumorale con proprietà più aggressive.¹³

La seconda causa è il processo di adattamento biologico in cui le cellule neoplastiche sopravvissute alla terapia subiscono delle modificazioni fenotipiche, genetiche ed epigenetiche che aumenteranno la loro capacità di sopravvivenza. Le vie cellulari coinvolte nella proliferazione, nell'apoptosi, nel metabolismo e nell'interazione con il microambiente tumorale vengono riorganizzate.¹⁴

Un'ulteriore causa fondamentale legata all'elevata frequenza di recidive è lo sviluppo di resistenza ai farmaci. Quest'ultimi inducono danni al DNA che vengono mascherati da alcuni meccanismi che esercitano le cellule neoplastiche¹⁵:

- La ricombinazione omologa permette la correzione delle lesioni del DNA provocate dalla terapia;¹⁵
- La riduzione dell'accumulo intracellulare dei farmaci;¹⁵
- L'incremento dell'efflusso mediato dai trasportatori di membrana e la modifica delle vie apoptotiche che impediscono la morte cellulare anche in presenza di danni al DNA.¹⁵

L'utilizzo delle terapie a base di platino considerate trattamenti di prima, seconda linea e adjuvanti è significativamente limitato a causa delle reazioni di ipersensibilità e delle tossicità d'organo dose-limitanti. Questi effetti indesiderati incidono negativamente sulla qualità della vita del paziente e la maggior parte delle volte è opportuno ridurre il dosaggio, modificare o prolungare la durata della terapia con il rischio che venga compromessa l'efficacia del trattamento.¹⁶

Cisplatino, carboplatino e oxaliplatino sono i tre componenti principali dei farmaci a base di platino e si differenziano tra di loro per caratteristiche chimiche, utilizzo clinico, profili di tossicità e indicazioni terapeutiche. Queste differenze incidono in modi diversi nelle reazioni di ipersensibilità, nelle tossicità dose-limitanti e nelle modalità differenti di insorgenza delle reazioni avverse che sono fondamentali per la prognosi.¹⁶

Le tossicità dosi-limitanti sono differenti per ciascun composto: il cisplatino causa nefrotossicità ed è presente nel 20%-30% dei pazienti, nonostante l'utilizzo di adeguati protocolli di idratazione e si verifica principalmente nei pazienti anziani e in quelli con funzionalità renale già compromessa; mentre il carboplatino ha una nefrotossicità ridotta ma è associato ad effetti di mielosoppressione e trombocitopenia e sono attribuiti in circa 40% dei pazienti. Ulteriori tossicità rilevanti sono neurotossicità e ototossicità. L'oxaliplatino, a differenza del cisplatino e carboplatino, è associato alla comparsa di disestesie acute indotte dal freddo che si verificano

durante l'infusione del farmaco e allo sviluppo di neurotossicità sensoriale cumulativa in circa il 50% dei pazienti.¹⁶

Il coordinamento delle reazioni di ipersensibilità con i farmaci chemioterapici a base di platino necessita di strategie individualizzate riducono al minimo gli effetti avversi per rendere sicuro ed efficace il trattamento. Un approccio iniziale consiste nella premedicazione con antistaminici e corticosteroidi per minimizzare la gravità delle reazioni di ipersensibilità. Inoltre, è fondamentale il prolungamento della durata dell'infusione per ridurre i sintomi nei pazienti, permettendo loro di portare a termine senza interruzioni la terapia pianificata.¹⁶

Sono risultati efficaci i protocolli di desensibilizzazione rapida ai farmaci per i pazienti che manifestano reazioni di ipersensibilità lievi, moderate e gravi (Tabella 1).¹⁶

Tabella 1. Gestione clinica delle reazioni di ipersensibilità indotte dal platino.¹⁶

Gravità	Caratteristiche chimiche	Azioni immediate	Strategia di gestione raccomandata
Lieve	Arrossamento, eruzione cutanea e prurito	Interrompere l'infusione e somministrare antistaminici	Riavviare con una velocità di infusione più lenta e premedicazione
Moderata	Orticaria, nausea e lieve dispnea	Aggiungere corticosteroidi e monitorare	Considerare i test cutanei e la futura desensibilizzazione
Grave	Ipotensione, broncospasmo e anafilassi	Gestione delle emergenze con epinefrina e fluidi per via endovenosa	Rivolgersi ad allergologi o immunologi per una valutazione e avviare un protocollo di desensibilizzazione o di sostituzione dell'agente

3. BASI MOLECOLARI DEL CARCINOMA OVARICO

3.1 Ruolo delle mutazioni germinali e somatiche nei geni BRCA1 e BRCA2.

I geni BRCA1 e BRCA2 sono geni che contribuiscono a riparare il DNA e prevenire la formazione di neoplasie alle ovaie.¹⁷

Le mutazioni germinali sono presenti fin dalla nascita, si trovano in tutte le cellule del corpo e si ereditano da uno dei genitori. I figli che nascono con una mutazione germinale in BRCA1 e BRCA2 hanno una maggiore predisposizione a sviluppare un tumore in quanto il meccanismo di riparazione del DNA è difettoso sin dalle fasi iniziali.¹⁷

Le mutazioni somatiche si formano dopo la nascita, nel corso della vita. Non sono mutazioni di tipo ereditario, perciò, non vengono trasmesse ai figli. Possono essere favorite da fattori ambientali quali fumo, raggi UV e radiazioni. Le conseguenze di queste mutazioni, una volta colpiti i geni BRCA1 e BRCA2, possono favorire lo sviluppo delle cellule tumorali.¹⁷

Nel corso della vita di una donna, il rischio di sviluppare il cancro ovarico senza mutazione BRCA entro i 70 anni di età è dell'1,1%, mentre per i portatori mutazione BRCA1 è del 39% e per BRCA2 è dell'11%. In uno studio clinico è stato riportato che l'età media della diagnosi di tumore ovarico nei pazienti con mutazioni germinali, la mutazione in BRCA1 è significativamente più bassa rispetto alla mutazione BRCA2.¹⁷

Nell'identificazione del rischio, lo scopo principale dei test genetici per le mutazioni patologiche nei geni BRCA1 e BRCA2 è individuare le donne a maggior rischio di sviluppare il carcinoma ovarico e applicare trattamenti di profilassi appropriati. Esistono diverse strategie per coloro che presentano una mutazione patogena BRCA per ridurre il rischio di sviluppare un cancro ovarico tra cui una terapia ormonale a scopo preventivo o con un intervento chirurgico di salpingo-ooforectomia profilattica.¹⁷

3.2 Importanza della homologous recombination deficiency (HRD) come vulnerabilità terapeutica.

Il deficit di ricombinazione omologa (HRD) rappresenta un'importante vulnerabilità terapeutica nel carcinoma ovarico. Nelle pazienti a cui è stato diagnosticato un carcinoma ovarico al terzo o quarto stadio, un carcinoma delle tube di Falloppio o carcinoma peritoneale primario, viene spesso proposto il test per la valutazione dello stato di HRD, poiché questo parametro aiuta a definire la risposta a specifiche terapie mirate.¹⁸

Il DNA rappresenta il materiale genetico contenente le informazioni necessarie al corretto funzionamento cellulare. Nel corso della vita cellulare, il DNA può andare incontro a danni strutturali che vengono normalmente riparati attraverso diversi meccanismi. Uno dei sistemi principali e più accurati è la ricombinazione omologa, un processo che utilizza una copia intatta del DNA come modello per correggere eventuali rotture a doppio filamento.¹⁸

Quando questo meccanismo non funziona correttamente, si parla di deficit di ricombinazione omologa. In presenza di HRD, le cellule tumorali perdono la capacità di riparare in modo efficace i danni al proprio DNA. Un test HRD positivo indica che le cellule tumorali possiedono un difetto in questo processo e risultano pertanto più vulnerabili ai trattamenti che agiscono bloccando i meccanismi di riparazione del DNA.¹⁸

L'HRD è una condizione funzionale osservata nelle cellule tumorali, che può derivare sia da mutazioni germinali (es. BRCA) sia da alterazioni somatiche.¹⁸

Tuttavia, alcune mutazioni genetiche, come quelle dei geni BRCA1 e BRCA2, possono determinare la comparsa di HRD nelle cellule neoplastiche.¹⁸

Il test HRD viene eseguito su una porzione di tessuto tumorale, generalmente prelevata durante l'intervento chirurgico per il carcinoma ovarico o tramite una biopsia. Il campione viene successivamente inviato a un laboratorio specializzato, dove viene analizzato per individuare le cause e gli effetti del deficit di ricombinazione omologa.¹⁸

Una delle cause più note di HRD è rappresentata dalle mutazioni dei geni BRCA1 e BRCA2. Tuttavia, poiché non tutte le cause del difetto sono conosciute, il test analizza anche le conseguenze del danno, tra cui la cosiddetta instabilità genomica, che indica la tendenza delle cellule tumorali ad accumulare alterazioni genetiche. In entrambi i casi, la capacità delle cellule neoplastiche di mantenere stabile il proprio genoma risulta compromessa, rendendole più sensibili a specifiche strategie terapeutiche.¹⁸

Se il tumore risulta HRD positivo, è probabile che risponda meglio ai trattamenti di terapie mirate con inibitori di PARP. Questi farmaci vengono somministrati come terapia di mantenimento dopo il trattamento iniziale del carcinoma ovarico.

Le cellule tumorali, come quelle sane, riparano costantemente le rotture del DNA. In condizioni di HRD, uno dei principali sistemi di riparazione – la ricombinazione omologa – non è efficace. In questa situazione, le cellule tumorali si affidano a un secondo meccanismo di riparazione mediato dall'enzima PARP.¹⁸

Gli inibitori di PARP bloccano questo secondo processo di riparazione, impedendo alle cellule tumorali HRD-positive di riparare i danni al DNA. Di conseguenza, il DNA danneggiato non può essere corretto e le cellule tumorali vanno incontro ad apoptosi. Questo meccanismo rende l'HRD un importante bersaglio terapeutico, poiché permette di sfruttare una vulnerabilità specifica delle cellule tumorali, migliorando l'efficacia del trattamento.¹⁸

3.3 Meccanismi di riparazione del DNA (BER, HR, NHEJ, MMR e NER) e loro alterazioni.

La continua evoluzione e risposta ai trattamenti legate alle terapie per il carcinoma ovarico, sono strettamente connesse all'efficienza dei meccanismi cellulari di riparazione del DNA e alla risposta al danno genotossico. Le mutazioni ereditarie nei geni responsabili di tali processi vanno a compromettere la stabilità del genoma, favorendo la trasformazione neoplastica. Un'analisi

approfondita delle vie di riparazione del DNA risulta quindi fondamentale per comprendere i meccanismi di insorgenza del tumore ovarico e per ottimizzare le strategie terapeutiche mirate, migliorando prognosi e risposta al trattamento.¹⁹

Il carcinoma ovarico presenta un profilo molecolare eterogeneo, caratterizzato da frequenti mutazioni somatiche e germinali in geni chiave come TP53, BRCA1/2, RAD51C/D, PTEN, PIK3CA e KRAS. Il sottotipo istologico più aggressivo, l'High-Grade Serous Ovarian Cancer, mostra mutazioni di TP53 in circa il 96% dei casi e un'elevata incidenza di difetti nella ricombinazione omologa. Le alterazioni che compromettono la funzionalità dei geni di riparazione del DNA rendono le cellule tumorali più vulnerabili a farmaci che agiscono inducendo danno genotossico, come i PARP inibitori, ma possono anche favorire sviluppo di resistenze acquisite a tali terapie.¹⁹

3.3.1 Ricombinazione omologa (HR).

La ricombinazione omologa costituisce un meccanismo di riparazione ad alta fedeltà per le rotture a doppio filamento del DNA. Tale processo, attivo nelle fasi S e G2 del ciclo cellulare, utilizza un filamento omologo come stampo e coinvolge geni come BRCA1, BRCA2, RAD51C/D, PALB2 e BRIP1. Mutazioni di questi geni determinano instabilità cromosomica e aumentano la suscettibilità del carcinoma ovarico. Le donne portatrici di mutazioni in BRCA 1 e BRCA2 mostrano una risposta più favorevole ai trattamenti a base di platino e ai PARP inibitori, poiché le cellule neoplastiche con deficit di HR risultano particolarmente sensibili all'accumulo di danno genotossico. Tuttavia, tali tumori possono acquisire resistenza attraverso meccanismi compensatori, come mutazioni di ripristino, modifiche epigenetiche o alterazioni di geni correlati alla riparazione del DNA.¹⁹

3.3.2 Riparazione per giunzione non omologa delle estremità (NHEJ).

Il sistema NHEJ rappresenta la principale via di riparazione delle rotture a doppio filamento quando non è disponibile un filamento omologo. Questo meccanismo, attivo in tutte le fasi del ciclo cellulare, agisce mediante la ligazione diretta delle estremità del DNA e coinvolge svariate proteine. Nonostante sia un processo rapido ed efficiente, la NHEJ è soggetta a errori e può generare mutazioni. Studi condotti su linee cellulari di carcinoma ovarico hanno evidenziato che circa il 40% presenta un difetto in questa via, indipendente dal deficit di HR. I tumori privi di funzionalità NHEJ tendono a mostrare resistenza agli inibitori di PARP, suggerendo che l'integrità di questa via possa influenzare la risposta terapeutica.¹⁹

3.3.3 Riparazione degli errori di appaiamento (MMR).

Il sistema MMR ha lo scopo di correggere gli errori di duplicazione del DNA, come le basi mal appaiate o piccole inserzioni e delezioni. Mutazioni ereditarie nei geni MLH1, MSH2, MSH6 e PMS2 sono alla base della sindrome di Lynch, che aumenta il rischio di carcinoma ovarico fino al 12%.¹⁹

La perdita di funzione dei geni MMR causa instabilità dei microsatelliti (MSI), una condizione caratterizzata da elevata mutabilità del genoma. Gli MSI sono più frequenti nei sottotipi che somigliano all'endometrio e si associano a una maggiore infiltrazione linfocitaria, rendendo questi tumori potenzialmente suscettibili all'immunoterapia.¹⁹

L'inattivazione epigenetica dei geni MMR è correlata alla resistenza ai farmaci a base di platino e a una prognosi peggiore, mentre un'elevata espressione dei geni MMR è associata a una migliore sopravvivenza complessiva.¹⁹

3.3.4 Riparazione per escissione di basi (BER).

La via BER corregge piccole lesioni basiche dovute a stress ossidativo o agenti chimici e coinvolge enzimi come OGG1, APE1, XRCC1 e PARP1. Polimorfismi nei geni OGG1 e XRCC1 sono associati a maggiore rischio di carcinoma ovarico e a prognosi negativa.¹⁹

L'enzima APE1 è frequentemente sovraespresso nei tumori sierosi e mucinosi e la sua localizzazione citoplasmatica si correla con un fenotipo più aggressivo e resistenza alla chemioterapia. XRCC1, invece, agisce come proteina adattatrice coordinando l'attività di PARP1 e LIG3 nella riparazione dei danni a singolo filamento.¹⁹

PARP1 riveste un ruolo cardine anche come bersaglio terapeutico: l'inibizione della sua attività, in cellule carenti di HR, induce la letalità sintetica, sfruttata clinicamente nei tumori BRCA mutati e trattati con inibitori PARP. Tuttavia, mutazioni che impediscono il legame di PARP1 al DNA possono conferire resistenza a tali farmaci.¹⁹

3.3.5 Riparazione per escissione di nucleotidi (NER).

La NER rimuove lesioni ingombranti e distorsioni dell'elica del DNA, come i fotoprodotto indotti da UV o i legami crociati formati dal cisplatino. I principali geni coinvolti includono XPA, XPC, XPD/ERCC2 ed ERCC1.¹⁹

L'aumentata espressione di XPC e ERCC1 è correlata a resistenza al cisplatino e a una prognosi sfavorevole. Poiché la chemioterapia a base di platino è una delle principali terapie per la neoplasia ovarica, l'attività della NER rappresenta un determinante critico nella risposta terapeutica. L'eccessiva attivazione di questa via consente infatti alle cellule tumorali di rimuovere i danni indotti dal farmaco, riducendone l'efficacia.¹⁹

3.4 Microambiente tumorale: angiogenesi, immunosoppressione e capacità del tumore di sfuggire alla sorveglianza immunitaria ¹⁹²⁰²¹

Il microambiente tumorale (TME) è un ecosistema complesso formato da cellule stromali, fibroblasti associati al tumore (CAF), cellule immunitarie, endoteliali e componenti della matrice extracellulare. L'attività stabilita da questi elementi influenza la crescita e l'aggressività della neoplasia. L'angiogenesi, cioè la creazione di nuovi vasi sanguigni a partire da quelli preesistenti, assicura l'apporto di ossigeno e nutrienti alle cellule tumorali, ma genera al contempo una rete vascolare disordinata che favorisce l'ipossia e promuove processi infiammatori cronici. In questo contesto, si instaura un ambiente immunosoppressivo dominato da cellule come i macrofagi associati al tumore (TAM), i linfociti T regolatori (Treg) e le cellule mieloidi soppressorie (MDSC), che limitano l'attività delle cellule T effettrici e ostacolano la risposta antitumorale.

Parallelamente, le cellule neoplastiche attuano strategie di fuga dal controllo immunitario, riducendo l'espressione di antigeni tumorali o delle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità, attivando checkpoint inibitori come PD-L1 e CTLA-4, oppure secernendo fattori solubili capaci di deviare la risposta immunitaria. Insieme, questi meccanismi contribuiscono alla formazione di un ambiente patologico che protegge il tumore e gli consente di sfruttare le vie vascolari e immunitarie a proprio vantaggio.

Comprendere come angiogenesi, immunosoppressione e l'evasione della sorveglianza immunitaria cooperino all'interno del microambiente tumorale è essenziale per lo sviluppo di approcci terapeutici combinati, capaci di ristabilire una vascolarizzazione fisiologica e potenziare la risposta immunitaria antitumorale.

L'angiogenesi tumorale è un processo essenziale per la crescita e la diffusione delle masse neoplastiche, poiché fornisce alle cellule maligne ossigeno e nutrienti indispensabili alla loro sopravvivenza. La sua regolazione dipende da una rete complessa di segnali molecolari e cellulari che coinvolge fattori angiogenici, condizioni di ipossia e componenti del TME. Quando il tumore cresce rapidamente, il suo fabbisogno energetico supera la capacità dei vasi preesistenti di garantire un'adeguata ossigenazione. Si instaura così un ambiente ipossico, che attiva una risposta adattiva guidata dal fattore inducibile dall'ipossia (HIF). In condizioni normali, la subunità HIF- α viene degradata tramite il complesso VHL, ma la mancanza di ossigeno ne impedisce la degradazione, consentendo la formazione del dimero HIF- α /HIF- β . Questo complesso si lega a regioni specifiche del DNA, inducendo la trascrizione di geni pro-angiogenici come VEGFA, VEGFR1, ANGPTL4, EphA1 e LOXL2.

L'attività di HIF non si limita alla stimolazione dei vasi: esso favorisce anche la vasculogenic mimicry, ossia la capacità di alcune cellule tumorali di organizzarsi in strutture vascolari simili a quelle endoteliali, e promuove la transizione epitelio-mesenchimale (EMT), aumentando così la capacità invasiva delle cellule neoplastiche.

Tra i principali mediatori dell'angiogenesi spicca il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), che agisce legandosi ai recettori VEGFR1-3. In particolare, l'attivazione di VEGFR2 innesca una cascata di segnali intracellulari che stimolano la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule endoteliali. Altri mediatori regolano la migrazione e la permeabilità vascolare, favorendo la formazione di nuovi capillari, spesso disorganizzati e permeabili. Il VEGF può inoltre cooperare con altri fattori come FGF e PDGF, amplificando il processo angiogenico e il rimodellamento della matrice extracellulare.

Il microambiente tumorale svolge un ruolo centrale nel mantenimento di queste condizioni. È costituito da una varietà di cellule e da una matrice extracellulare ricca di citochine e proteasi. I fibroblasti associati al tumore e le cellule stromali secernono VEGF, FGF, CXCL12 e MMP2, favorendo la proliferazione endoteliale e la degradazione della matrice. I macrofagi di tipo M2 rilasciano TGF- β , IL-10 ed EGF, potenziando la crescita e la disseminazione tumorale, mentre neutrofili e mastociti contribuiscono con la produzione di MMP9 e VEGF. L'ipossia persistente tipica del microambiente tumorale alimenta un ciclo vizioso: attiva HIF-1 α , aumenta l'espressione di VEGF e di fattori EMT e rende il tumore più aggressivo e resistente. Anche l'acidificazione dell'ambiente extracellulare, dovuta al metabolismo anaerobico, contribuisce a stimolare la migrazione e l'invasione cellulare.

Sul piano terapeutico, l'inibizione dell'angiogenesi è una strategia consolidata per limitare la crescita tumorale. Tra i principali farmaci approvati figurano gli anticorpi monoclonali e inibitori tirosin-chinasici che bloccano le vie VEGF, PDGF e FGFR, riducendo la formazione di nuovi vasi. Tuttavia, la loro efficacia è limitata dalla resistenza acquisita, dovuta alla capacità del tumore di attivare vie angiogeniche alternative e all'aumento dell'ipossia che stimola nuovamente HIF e VEGF. Gli effetti collaterali, quali ipertensione, proteinuria ed emorragie, ne riducono inoltre la tollerabilità. Per superare questi limiti si stanno studiando terapie combinate con farmaci anti-ipossici o anti-infiammatori, e nuovi target molecolari come gli RNA non codificanti che regolano HIF e VEGF.

4. INIBITORI DI PARP (Poly-ADP-Ribose Polymerase)

4.1 Meccanismo della “synthetic lethality”: blocco della riparazione delle rotture a singolo filamento che diventa letale in cellule con deficit HR.

L’instabilità genomica costituisce una delle principali caratteristiche distintive delle cellule neoplastiche. Questo fenomeno può derivare dall’attivazione degli oncogeni e/o dalla perdita della funzione dei geni oncosoppressori, condizioni che determinano un aumento della produzione endogena di specie reattive dell’ossigeno (ROS). Questo innalzamento provoca l’accumulo dei danni di tipo ossidativo al DNA e mutazioni indotte anche da trattamenti chemioterapici.²²

Le mutazioni dei geni compromettono numerosi meccanismi di controllo cellulare, tra questi l’apoptosi, la senescenza e i checkpoint del DNA, provocando una proliferazione incontrollata delle cellule tumorali che, per sopravvivere e adattarsi al danno genetico, regolano e potenziano i sistemi di riparazione del DNA.²²

La forte dipendenza delle cellule neoplastiche da questi sistemi di riparazione del DNA costituisce una vulnerabilità terapeutica, sfruttabile a scopo terapeutico attraverso il principio della letalità sintetica.²²

La letalità sintetica è un meccanismo biologico per cui l’inibizione contemporanea di due vie cellulari, coinvolte in un processo essenziale per la sopravvivenza, determina la morte cellulare, mentre l’inattivazione di una delle due vie cellulari è compatibile con la vitalità della cellula. Nelle cellule neoplastiche una delle due vie cellulari può essere già compromessa a causa di mutazioni tumorali, mentre il targeting farmacologico dell’altra via determina quindi la morte selettiva delle cellule tumorali preservando le cellule sane.²²

Un fattore critico nelle cellule tumorali è rappresentato dall’instabilità genomica dovuta all’accumulo di danni al DNA. Tra questi, le rotture del singolo filamento (single strand breaks - SSB) e del doppio filamento (double strand breaks – DSB) del DNA sono le lesioni più dannose per la cellula. Nonostante ciò, le cellule tumorali hanno spesso la capacità di sopravvivere e proliferare modificando i propri meccanismi di riparazione del DNA.²²

La rottura del doppio filamento del DNA può essere riparata attraverso due principali meccanismi:

- Ricombinazione omologa (homologous recombination, HR) mediata da BRCA 1 e BRCA 2 durante la fase S del ciclo cellulare;
- Giunzione non omologa delle estremità (classical non-homologous end joining, c-NHEJ) mediata da DNA-PKcs durante tutte le fasi del ciclo cellulare.²²

Le rotture del singolo filamento invece vengono corrette principalmente attraverso il meccanismo di base excision repair (BER), nel quale PARP 1 svolge un ruolo fondamentale nel riconoscimento del danno e nel reclutamento dei fattori di riparazione.²²

Quando il meccanismo di HR è inattivato, come avviene in presenza di mutazioni di BRCA 1 e BRCA 2, le cellule ricorrono a vie alternative per la riparazione, mediata da poli-ADP ribosio polimerasi 1 (PARP 1) e alla giunzione non omologa alternativa (a-NHEJ).²²

Gli inibitori PARP rappresentano una classe di agenti antitumorali il cui meccanismo d'azione sfrutta i difetti dei processi di riparazione del DNA difettosi presenti nelle cellule del carcinoma ovarico con mutazioni BRCA o deficit nei geni di riparazione della ricombinazione omologa (HR). Quest'ultimi sono dei geni fondamentali per i percorsi di riparazione delle rotture a doppio filamento (DSB), noti come "letalità sintetica".²³

Perciò, l'inibizione di PARP 1 impedisce la riparazione corretta delle rotture del DNA a singolo filamento, provocando l'accumulo. Durante la fase di replicazione del DNA, le SSB che non vengono riparate causano il collasso della forcella replicativa e la loro conversione in rotture a doppio filamento che risultano altamente citotossiche. Nelle cellule sane che hanno un sistema di ricombinazione omologa funzionale, le DSB vengono riparate in modo corretto, processo che non accade nelle cellule con deficit di HR perché l'incapacità di riparare queste lesioni provoca un aumento di danni al DNA e alla morte cellulare.²³

Questo concetto ha consentito lo sviluppo degli inibitori di PARP che oggi rappresentano una delle strategie terapeutiche più efficaci contro i tumori caratterizzati da difetti della ricombinazione omologa.²³

Inoltre, tali farmaci non si limitano a inibire l'attività enzimatica della proteina PARP ma sono anche in grado di "intrappolare" PARP 1 sul DNA ("PARP trapping") ostacolando la progressione della forcella replicativa e aumentando ulteriormente il danno genomico.²³

La letalità sintetica consente quindi di colpire selettivamente le cellule neoplastiche che hanno dei difetti nei meccanismi di riparazione del DNA, rappresentando uno dei principali approcci terapeutici mirati in oncologia.

4.2 Farmaci attualmente in uso clinico:

L'identificazione del meccanismo della letalità sintetica ha rappresentato un importante avanzamento nello sviluppo di terapie mirate per il carcinoma ovarico mediante l'utilizzo degli inibitori PARP. Questi farmaci vengono spesso utilizzati come terapia di mantenimento dopo la chemioterapia a base di platino contribuendo così al miglioramento della sopravvivenza libera da progressione (PFS).²⁴

Nella fase di diagnosi del carcinoma ovarico è fondamentale eseguire test molecolari per identificare le pazienti che possono beneficiare maggiormente della terapia di mantenimento con gli inibitori PARP.²⁴

La letteratura ²⁴ sottolinea l'importanza dell'uso degli inibitori PARP come terapia di seconda linea o di mantenimento nelle pazienti con tumore ovarico recidivante e sensibile al platino. Inoltre, gli inibitori PARP risultano in genere ben tollerati, la comparsa di eventuali eventi

avversi viene gestita tramite la modifica del dosaggio del farmaco e non hanno effetti negativi sulla qualità della vita associata alla salute delle pazienti.

Ad oggi, gli inibitori PARP utilizzati nel trattamento del carcinoma ovarico sono: Olaparib, Niraparib, Rucaparib e Talazoparib.

4.2.1 Olaparib

Olaparib è stato il primo inibitore PARP ad essere approvato come monoterapia di mantenimento negli Stati Uniti e successivamente in Europa.²⁵

Olaparib rappresenta oggi uno standard di trattamento nella cura delle pazienti con carcinoma ovarico avanzato e con mutazioni nei geni BRCA1 e BRCA 2. La terapia di mantenimento con Olaparib ha dimostrato un significativo beneficio in termini di sopravvivenza libera da progressione rispetto al placebo, anche oltre la conclusione del trattamento.²⁵

Sebbene il maggiore beneficio sia stato osservato nelle pazienti portatrici di mutazioni BRCA, un miglioramento è stato visto anche nelle pazienti prive di tali mutazioni, indipendentemente dallo stato di deficit della ricombinazione omologa.²⁶

Olaparib è indicato nel trattamento delle pazienti affette da carcinoma ovarico recidivante che abbiano ottenuto una risposta parziale o completa alla chemioterapia a base di platino.²⁷

Per quanto riguarda le proprietà farmacocinetiche di Olaparib, viene somministrata una dose giornaliera di 600 mg in compresse suddivisa in due somministrazioni. A seguito della somministrazione giornaliera il farmaco raggiunge la sua massima concentrazione nel plasma in circa 1,5 ore e ciò significa che viene assorbito rapidamente. Successivamente, il farmaco all'interno dell'organismo e ha un'emivita di circa 15 ore.²⁷

Olaparib è disponibile in due forme farmaceutiche: compresse da 300 mg e capsule da 400 mg. Le due formulazioni non sono interscambiabili a causa delle differenti caratteristiche farmacocinetiche e della diversa biodisponibilità.²⁷

Nell'organismo, il farmaco viene metabolizzato prevalentemente nel fegato da due enzimi: CYP3A4 e CYP3A5.²⁷

Particolare attenzione deve essere posta alle interazioni farmacologiche. Alcuni farmaci, come antibiotici e antifungini, possono aumentare la concentrazione plasmatica di Olaparib, incrementando il rischio di tossicità e rendendo necessaria una riduzione del dosaggio. Al contrario, farmaci come alcuni antiepilettici possono ridurne l'efficacia terapeutica e dovrebbero pertanto essere evitati.²⁷

Il profilo di tollerabilità dell'Olaparib è di norma controllabile anche se gli effetti collaterali sono ricorrenti e ciò implica le cause di modifiche delle terapie.²⁷

Le tossicità ematologiche, tra queste: anemia, neutropenia e trombocitopenia, sono le più importanti, si sviluppano nelle fasi iniziali della terapia e richiedono un costante monitoraggio dell'emocromo.²⁷

Ulteriori tossicità che risultano comuni sono quelle gastrointestinali, in particolare si tratta di nausea, vomito e diarrea. La nausea è un effetto collaterale molto frequente dovuto a trattamenti chemioterapici ed è curabile con farmaci antiemetici.²⁷

Per quanto riguarda la tollerabilità riproduttiva, Olaparib risulta teratogeno ed embriotossico quindi va sospeso durante il periodo della gravidanza e dell'allattamento.²⁷

Un ultimo effetto collaterale rarissimo ma allo stesso tempo grave è lo sviluppo di neoplasie secondarie, tra cui sindrome mielodisplastica e leucemia mieloide acuta.²⁷

In generale, Olaparib è generalmente ben tollerato, la maggior parte delle pazienti sviluppa eventi avversi di gradi lieve o moderato: affaticamento, nausea, vomito e diarrea.²⁷

4.2.2 Niraparib

Niraparib è un inibitore di PARP efficace non solo nel carcinoma ovarico ma anche per una vasta gamma di tumori.²⁸

Viene utilizzato come terapia di mantenimento di prima linea nelle pazienti con carcinoma ovarico sieroso di alto grado, recidivante e sensibile al platino che hanno ottenuto una risposta parziale o completa alla chemioterapia a base di platino.²⁸

Generalmente, la terapia con Niraparib viene iniziata entro otto settimane dal termine dell'ultimo ciclo di chemioterapia.²⁸

La dose raccomandata è di 300 mg una volta al giorno. Il farmaco viene metabolizzato indipendentemente dal sistema citocromo P450 ed eliminato attraverso urine e feci. L'emivita del Niraparib è di 36 ore.²⁸

Gli effetti collaterali principali derivano dalla soppressione midollare che può determinare anemia, trombocitopenia e neutropenia. La manifestazione di questi effetti collaterali comportano una riduzione o un'interruzione della terapia, perciò risulta fondamentale il controllo periodico dell'emocromo.²⁸

Sono stati riscontrati anche effetti avversi gastrointestinali di lieve entità, tra cui: affaticamento, nausea vomito, dispepsia, insonnia e palpitazioni.²⁹

Recenti studi hanno evidenziato un possibile ruolo di Niraparib anche nel controllo delle metastasi intraperitoneali del carcinoma ovarico. Il carcinoma ovarico la maggior parte delle volte origina nelle fimbrie distali della tuba di Falloppio e questo porta il tumore in metastasi all'interno della cavità peritoneale in una membrana che è ricca di lipidi.³⁰ Pertanto, in una paziente che presenta delle lesioni intraperitoneali è complicato eseguire un intervento chirurgico citoreducente. Pertanto, viene spesso utilizzata la

chemioterapia neoadiuvante con l'obiettivo di ottenere una resezione completa del tumore. Tuttavia, si potrebbe riscontrare un aumento del rischio di indurre resistenza alla seguente chemioterapia a base di platino all'interno delle residue cellule tumorali. Ciò avviene a causa del potenziamento delle proprietà staminali e delle mutazioni dei geni.³⁰

Secondo quanto appena detto, il Niraparib compie un effetto inibitorio nei confronti delle lesioni metastatiche del carcinoma ovarico. Questo effetto avviene perché c'è l'accumulo di acidi grassi all'interno della cavità intraperitoneale e questo porta le cellule del tumore a morire tramite un processo di morte cellulare che viene chiamato ferroptosi.³⁰

Questo dato suggerisce un possibile impiego del farmaco anche in ambito neoadiuvante per limitare la diffusione metastatica del carcinoma ovarico.³⁰

Nella Figura 1 è stato confrontato il carico tumorale pre- e post-trattamento delle pazienti sulla base delle immagini TC peritoneali.³⁰

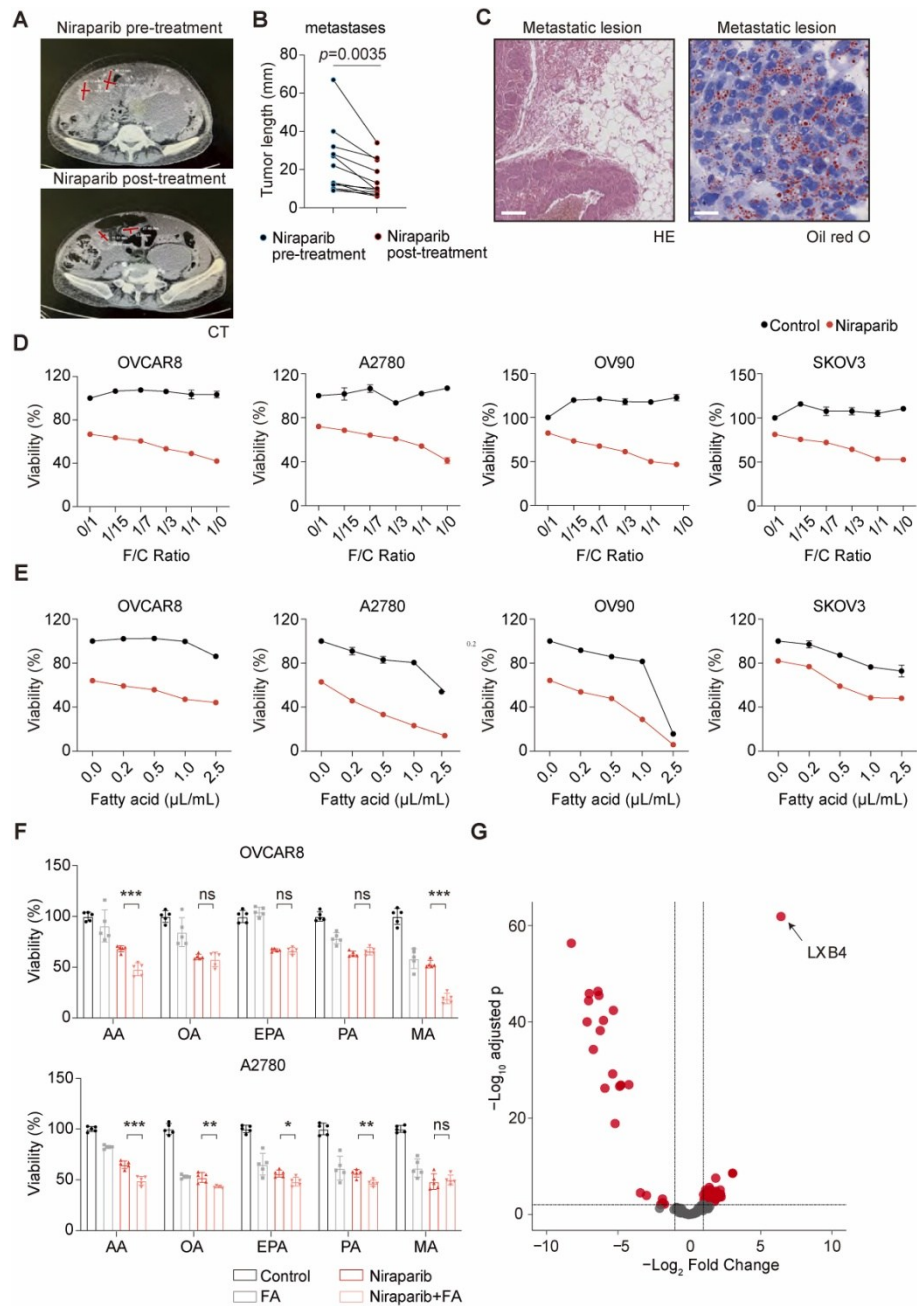


Figura 1. Le metastasi ricche di acidi grassi sono sensibili al trattamento con niraparib. A , Sezione trasversale rappresentativa sull'immagine di tomografia computerizzata (TC) del tessuto tumorale metastatico prima del trattamento con niraparib (in alto) e dopo il trattamento con niraparib (in basso) dei pazienti arruolati nello studio clinico NANT. B , Le immagini TC sono state ottenute da pazienti (n = 13). La lunghezza della sezione trasversale è stata misurata e il valore P è stato valutato mediante t-test appaiato. C , Colorazione rappresentativa con ematossilina-eosina (H&E) di tumori (a sinistra, barra di scala = 100 μm) e colorazione con Oil Red O (a destra, barra di scala = 25 μm) in sezioni metastatiche di carcinoma ovarico (OC) di pazienti arruolati nello studio

clinico NANT. D , le cellule OVCAR8, A2780, OV90 e SKOV3 sono state coltivate in terreni di coltura contenenti una miscela di terreno privo di acidi grassi e terreno contenente acidi grassi derivati dal paziente in vari rapporti (rapporto F/C) con il trattamento con 10 μ M di niraparib per 72 ore, e la vitalità cellulare è stata determinata. E , le cellule OVCAR8, A2780, OV90 e SKOV3 sono state coltivate in terreni di coltura privi di acidi grassi supplementati con 0, 0,2, 0,5, 1,0 e 2,5 μ L/mL di acidi grassi esogeni con il trattamento con 10 μ M di niraparib per 72 ore, e la vitalità cellulare è stata determinata. F , Le cellule OVCAR8 e A2780 sono state coltivate in un terreno privo di acidi grassi supplementato con 50 μ M di AA (acido arachidonico), 50 μ M di OA (acido oleico), 50 μ M di EPA (acido eicosapentaenoico), 50 μ M di PA (acido palmitico) e 50 μ M di MA (acido miristico) con il trattamento di 10 μ M di niraparib per 72 ore, e la vitalità cellulare è stata determinata. I valori di P sono stati valutati mediante il test t di Student . *, P < 0,05; **, P < 0,01; ***, P < 0,001. G , Grafico a vulcano dei lipidi differenzialmente arricchiti tra metabolomica ampiamente mirata su 19 tessuti metastatici clinici congelati pretrattati con niraparib e 18 post-trattati.³⁰

4.2.3 Rucaparib e Talazoparib

Rucaparib è impiegato nel trattamento delle pazienti con carcinoma ovarico di alto grado recidivante, sensibile al platino e indipendentemente dalla presenza di mutazioni BRCA contribuendo a prolungare la sopravvivenza libera da progressione.³¹

Dal punto di vista farmacocinetico, Rucaparib ha una bassa solubilità e per tale motivo viene assorbito con difficoltà, ha una biodisponibilità bassa (36%) con un legame proteico plasmatico del 70% in vitro. Questo farmaco si distribuisce in gran parte nei tessuti e tende ad accumularsi nei globuli rossi. Viene metabolizzato da enzimi CYP ed eliminato principalmente per via renale. La dose raccomandata giornaliera di Rucaparib è di 600 mg.³¹

Talazoparib viene invece utilizzato per il trattamento delle pazienti con carcinoma ovarico metastatico associato a mutazione BRCA ha dimostrato benefici in termini di sopravvivenza libera da progressione.³¹

Talazoparib possiede una bassa solubilità e una biodisponibilità stimata del 55%. È considerato il più potente tra gli inibitori di PARP grazie alla sua elevata capacità di “PARP trapping”, circa 50-100 volte superiore rispetto agli altri farmaci della stessa classe. Tale caratteristica è correlata anche a una maggiore tossicità nelle cellule normali. Di conseguenza, la dose massima tollerata è pari a 1 mg al giorno per via orale.

³¹

Inoltre, Talazoparib ha un metabolismo minimo, viene eliminato per via renale e ha l'enorme vantaggio di avere poche interazioni farmacologiche con altri farmaci e questo è favorevole per i pazienti sottoposti a politerapia.³¹

La scelta dell'inibitore di PARP più appropriato dipende dalle caratteristiche cliniche della paziente, incluse le comorbidità e il rischio di interazioni farmacologiche.³²

Per quanto riguarda il profilo sicurezza-tossicità ecco alcuni rischi a confronto tra gli inibitori PARP:

- Tossicità ematologica: è più frequente con Niraparib e Talazoparib;
- Rischio cardiovascolare: Niraparib è l'unico farmaco tra gli inibitori PARP spiegati sopra ad essere associato ad un aumento del rischio di ipertensione e crisi ipertensivi. Per tale motivo viene evitata la prescrizione di questo farmaco nei pazienti che hanno storie cardiache gravi o ipertensione non controllata;
- Funzione renale ed epatica: Olaparib è l'unico inibitore PARP che non causa transaminita, perciò, risulta preferibile per pazienti con malattie epatiche preesistenti;
- Alopecia: Talazoparib è l'unico farmaco ad avere l'alopecia come effetto collaterale segnalato (25%).³²

La scelta terapeutica deve pertanto basarsi su una valutazione individualizzata del profilo clinico della paziente.³²

4.3 Indicazioni terapeutiche: prima linea, mantenimento, recidiva.

Per prevenire le recidive di tumore ovarico sono stati introdotti gli inibitori PARP, in particolare per le pazienti che presentano carcinoma ovarico di alto grado con o senza mutazione dei geni BRCA 1 e BRCA 2 e con deficit di ricombinazione omologa HRD in stadio avanzato. Attualmente rappresentano una terapia di mantenimento standard consolidata dopo il trattamento di prima linea e recidivante sensibile al platino.³³

L'utilizzo degli inibitori di PARP è associato ad un miglioramento della sopravvivenza libera da progressione ma questo può variare nelle pazienti portatrici di mutazioni BRCA o con ricombinazione omologa. Inoltre, l'identificazione di biomarcatori predittivi sui pazienti, devono avere una priorità tale per indirizzare le strategie di mantenimento ottimali.³⁴

I principali farmaci utilizzati nel trattamento di prima linea includono Olaparib, Niraparib e la combinazione di Olaparib con Bevacizumab.

Il profilo di efficacia degli inibitori PARP è fortemente associato al profilo molecolare del tumore. Il maggiore beneficio si osserva nelle pazienti con mutazione dei geni BRCA1 e BRCA2 nelle quali c'è un miglioramento in termini della sopravvivenza libera da progressione. Invece, pazienti che non presentano mutazioni BRCA ma un HRD positivo soddisfano di un beneficio intermedio. Infine, le pazienti che presentano un tumore che riesce a riparare correttamente i danni al DNA, l'efficacia della terapia è limitata.^{33,35}

Gli inibitori PARP sono farmaci utilizzati nella terapia di mantenimento per la cura del carcinoma ovarico avanzato. Vengono somministrati dopo il completamento della chemioterapia

di prima linea a base di platino con l'obiettivo di mantenere la risposta ottenuta e ritardare la progressione della malattia. Con gli inibitori PARP il rischio di progressione della malattia è risultato ridotto più del 60%.³⁶

Gli inibitori PARP sono diventati il trattamento standard per le pazienti con carcinoma ovarico recidivante sensibile al platino che vanno incontro a recidiva a distanza di almeno sei mesi dal completamento della terapia a base di platino.³⁷

È stato dimostrato che gli inibitori PARP utilizzati nel contesto della recidiva comportano un beneficio clinico in termini di sopravvivenza libera da progressione, sopravvivenza globale e un beneficio maggiore nelle pazienti portatrici di mutazioni BRCA.³⁷

4.4 Meccanismi di resistenza (ripristino della HR, efflusso dei farmaci, mutazioni secondarie).³⁸

I meccanismi di resistenza agli inibitori PARP rappresentano uno dei principali limiti all'efficacia di questi farmaci nel trattamento del carcinoma ovarico, con un riferimento specifico ai tumori che hanno dei difetti nella riparazione del DNA.

Inoltre, la comparsa di resistenza costituisce una delle principali cause di progressione della malattia nelle pazienti che seguono una terapia con gli inibitori PARP.

Gli inibitori PARP esercitano la loro funzione attraverso il meccanismo della letalità sintetica; infatti, le cellule neoplastiche con deficit della ricombinazione omologa (HRD) o con mutazioni genetiche dei geni BRCA non riescono a riparare i difetti del DNA andando così incontro a morte cellulare. Nonostante ciò, si innesca un meccanismo di resistenza quando la cellula è in grado di attivare meccanismi di sopravvivenza.

Il ripristino della funzione HRR (Homologous Recombination Repair), il sistema di riparazione basato sulla ricombinazione omologa, è un meccanismo di resistenza agli inibitori PARP. Le mutazioni di reversione nei geni coinvolti nella via HRD includono BRCA 1, BRCA 2, RAD51C, RAD51D e PALB 2. Quest'ultime sono mutazioni secondarie che determinano il recupero della funzionalità genica e della produzione di proteine funzionali, ristabilendo la cellula a una condizione normale rendendola meno sensibile agli inibitori PARP.

Ci sono altri meccanismi di resistenza come la perdita della metilazione del promotore dei geni BRCA 1 e BRCA 2 o l'alterazione dell'equilibrio tra ricombinazione omologa e giunzione terminale non omologa (NHEJ) in cui la perdita di una proteina comporta la riattivazione della ricombinazione omologa anche nelle cellule mutate BRCA 1, portando così la cellula a porre resistenza.

Un ulteriore importante meccanismo di resistenza lo svolge il gene PARP1 che, se mutato, riduce la capacità della proteina di legarsi al bersaglio farmacologico diminuendo l'efficacia del farmaco.

Anche l'iperespressione della P-glicoproteina rappresenta un importante meccanismo di resistenza. Questo trasportatore di efflusso espelle attualmente il farmaco dalla cellula tumorale, riducendone la concentrazione intracellulare e l'attività terapeutica.

Un altro meccanismo di resistenza consiste nella capacità delle cellule neoplastiche di stabilizzare le forcelle di replicazione. Nonostante gli inibitori PARP agiscano andando a danneggiare il DNA inducendo il collasso delle forcelle, alcune cellule neoplastiche creano delle strategie per stabilizzare queste strutture evitando la degradazione del DNA, riducendo il danno cellulare e aumentando così la loro sopravvivenza.

Sono state istituite delle strategie per invertire il processo di resistenza agli inibitori PARP.

Una strategia è rappresentata dalla sostituzione con un PARP inibitore differente. Infatti, gli inibitori PARP possiedono una capacità diversa di penetrazione nella membrana cellulare e ciò va ad influenzare la concentrazione del farmaco presente nei tessuti. Ad esempio, Niraparib poiché presenta una maggiore concentrazione di farmaco nei tessuti tumorali ovarici e nei tessuti intracranici, significa che ha una permeabilità maggiore a differenza invece di Olaparib. Queste differenti proprietà farmacocinetiche evidenziano come l'utilizzo di un inibitore PARP piuttosto di un altro possa mantenere un certo grado di efficacia clinica.

Un'altra strategia per superare la resistenza agli inibitori PARP è quella di interrompere il trattamento e successivamente ricominciare a seguito di un periodo di interruzione.

Inoltre, per combattere la resistenza vengono utilizzati gli inibitori PARP in combinazione con farmaci anti-angiogenici che inducono uno stato di ipossia cellulare determinando una riduzione del processo della via di riparazione del DNA tramite ricombinazione omologa (HRR) e portando ad una condizione di deficit della ricombinazione omologa (HRD). Ciò può portare ad un aumento della sensibilità delle cellule neoplastiche agli inibitori PARP.

Un'ulteriore strategia allo sviluppo di resistenza degli inibitori PARP da parte delle cellule tumorali consiste nell'utilizzo di farmaci che non sono substrati per la P-glicoproteina e ciò può ridurre la concentrazione di farmaco intracellulare limitando così lo sviluppo di resistenza.

Inoltre, ci sono delle associazioni di farmaci che contrastano la resistenza agli inibitori PARP, per esempio: Niraparib e Pembrolizumab, Olaparib e Durvalumab.

Complessivamente, le strategie per invertire la resistenza agli inibitori PARP si basano sull'ottimizzazione delle caratteristiche farmacocinetiche dei farmaci e sull'utilizzo di approcci combinati per migliorare l'efficacia clinica e ritardare la progressione della malattia.

IMMUNOTERAPIA NEL CARCINOMA OVARICO

5.1 Razionale: sfruttare il sistema immunitario contro le cellule tumorali.

Nelle pazienti affette da carcinoma ovarico, il rischio di recidiva del tumore dopo il completamento del trattamento di prima linea rimane elevato. Per questo motivo, negli ultimi anni sono state sviluppate delle nuove strategie terapeutiche efficaci e relativamente sicure con l'obiettivo di ridurre la tossicità e migliorare gli esiti clinici.³⁹

L'immunoterapia è una terapia innovativa molto promettente che sfrutta il sistema immunitario per riconoscere e individuare specifici antigeni tumorali. Tra i principali approcci immunoterapici rientrano:

- Vaccini terapeutici che stimolano la risposta immunitaria del paziente contro il tumore;
- Le cellule CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-cell): ottenute mediante modificazione genetica dei linfociti T del paziente affinché riconoscano specifici antigeni tumorali;
- Gli anticorpi monoclonali e le terapie mirate, progettati per colpire specifici bersagli molecolari espressi dalle cellule neoplastiche.³⁹

L'immunoterapia nel carcinoma ovarico rappresenta un'importante evoluzione terapeutica poiché, nonostante questa neoplasia venga generalmente considerata scarsamente immunogenica, possiede alcune caratteristiche che lo rendono suscettibile a una risposta immunitaria antitumorale. In particolare, la presenza di linfociti infiltranti il tumore, (Tumor Infiltrating Lymphocytes, TILs), come le cellule T CD8⁺, è associata ad una prognosi migliore suggerendo un ruolo attivo del sistema immunitario nel controllo della malattia.³⁹

Tra i principali meccanismi che permettono alle cellule tumorali di eludere il controllo del sistema immunitario c'è l'attivazione dei checkpoint immunitari, tra cui PD-1/PD-L1 e CTLA-4. Queste molecole esercitano un effetto inibitorio sui linfociti T andando a limitare l'attività citotossica. L'utilizzo di farmaci in grado di bloccare queste vie consente di interrompere i segnali immunosoppressivi favorendo la riattivazione della risposta immunitaria diretta contro le cellule neoplastiche.³⁹

L'efficacia della risposta immunitaria antitumorale dipende principalmente da tre fattori:

- Le caratteristiche del tumore, come il carico mutazionale e la quantità di antigeni presentati;
- La presenza di fattori cellulari immunitari nel tumore: quali e quanti tipi di cellule immunitarie infiltrano il tumore;
- Il microambiente tumorale che descrive le qualità immunomodulanti, con riferimento al tumore attraverso la produzione di fattori immunosoppressivi o immunostimolanti.⁴⁰

Questi tre fattori sopra elencati durante il corso della malattia subiscono dei cambiamenti e ciò accade perché il sistema immunitario attraversa tre fasi fondamentali:

1. Eliminazione: il sistema immunitario nelle fasi iniziali combatte efficacemente il tumore;
2. Equilibrio: cloni di cellule tumorali debolmente immunogeni riescono a sopravvivere;
3. Fuga: il tumore diventa invisibile o resistente al sistema immunitario.⁴⁰

Inoltre, il tumore ovarico essendo caratterizzato dalla presenza di deficit della ricombinazione omologa (HRD), l'aumentata instabilità genomica può determinare la formazione di un maggior numero di antigeni, rendendo così le cellule neoplastiche più facilmente riconoscibili dal sistema immunitario.⁴⁰

Tuttavia, l'immunoterapia nel tumore ovarico ha dimostrato un'efficacia limitata quando viene utilizzata in monoterapia a causa della presenza di un microambiente tumorale immunosoppressivo. Per questo motivo, l'immunoterapia nel carcinoma ovarico ha mostrato risultati limitati quando utilizzata in monoterapia. Da tali evidenze nasce l'interesse verso approcci terapeutici combinati, in particolare l'associazione tra immunoterapia e inibitori di PARP, con l'obiettivo di potenziare la risposta antitumorale e superare i meccanismi di resistenza.⁴⁰

5.2 Checkpoint immunitari: PD-1/PD-L1, CTLA-4, con esempi di farmaci (nivolumab, pembrolizumab, atezolizumab).

Il tumore ovarico essendo una neoplasia aggressiva è caratterizzata dalla presenza di un microambiente tumorale fortemente immunosoppressivo e complesso.

Il microambiente tumorale è costituito non solo da cellule tumorali e non tumorali ma anche da cellule stromali, cellule immunitarie, mediatori infiammatori e componenti vascolari che interagiscono tra loro influenzando la crescita tumorale, la progressione della malattia e la risposta ai trattamenti antitumorali.³⁹

In questo contesto il ruolo degli inibitori dei checkpoint immunitari consiste nel riattivare la risposta immunitaria antitumorale.³⁹

I linfociti infiltranti il tumore svolgono un ruolo fondamentale nella risposta immunitaria antitumorale e hanno la capacità di riconoscere in modo spontaneo gli antigeni tumorali del carcinoma ovarico. Infatti, i linfociti T helper che vengono attivati sono in grado di produrre le citochine infiammatorie che a loro volta promuovono l'attività dei linfociti T citotossici, responsabili della distruzione delle cellule tumorali. Anche i linfociti B contribuiscono alla risposta immunitaria tramite la produzione di anticorpi diretti contro antigeni tumorali, mentre i macrofagi di fenotipo M1 promuovono uno stato pro-infiammatorio favorendo l'attività antitumorale.³⁹

Uno dei principali meccanismi di evasione immunitaria nel carcinoma ovarico coinvolge l'interazione tra il recettore PD-1 (Programmed Death-1), espresso sulla superficie dei linfociti

T, e il suo ligando PD-L1, frequentemente sovraespresso dalle cellule tumorali e dalle cellule immunitarie infiltranti il tumore.⁴¹

Il legame tra PD-1 e PD-L1 determina l'inibizione della proliferazione e dell'attività dei linfociti T, inducendo uno stato di esaurimento funzionale (T-cell exhaustion) e contribuendo alla down-regulation della risposta immunitaria. In condizioni fisiologiche, questo meccanismo svolge un ruolo protettivo nei confronti dei tessuti sani, limitando un'eccessiva attivazione immunitaria. Nel microambiente tumorale, tuttavia, la sovraespressione di PD-L1 consente alle cellule neoplastiche di eludere la sorveglianza immunitaria e resistere all'apoptosi.^{41,42}

Con lo sviluppo delle terapie anti PD-1 e PD-L1 è necessario individuare le somiglianze e le differenze tra questi due blocchi per consentire i migliori benefici alle pazienti affette da cancro ovarico.^{41,42}

Studi recenti affermano che gli anticorpi anti PD-1 hanno ottenuto una maggiore efficacia in termini di sopravvivenza rispetto agli anticorpi PD-L1 sia in monoterapia che in terapia combinata. Ulteriori studi invece evidenziano il fatto contrario o addirittura che abbiano un'efficacia simile ma in merito a questo non sono state riscontrate differenze significative in termini di profilo di sicurezza. Rimane difficile stabilire quale trattamento tra anti PD-1 e anti PD-L1 sia il migliore e la scelta dei medici tra questi due farmaci si basa sulle condizioni del paziente e degli eventi avversi che potrebbero creare.⁴²

I principali eventi avversi associati agli inibitori di PD-1 e PD-L1 sono prevalentemente di natura immunologica e coinvolgono diversi organi e sistemi, tra cui l'apparato respiratorio e apparato cardiovascolare. Sebbene tali eventi avversi siano nella maggior parte dei casi gestibili, in alcune pazienti possono richiedere la sospensione del trattamento.⁴²

La resistenza primaria o acquisita agli inibitori dei checkpoint immunitari rappresenta tuttora una delle principali limitazioni terapeutiche nel carcinoma ovarico. Per questo motivo, la ricerca attuale è focalizzata sull'identificazione di nuovi biomarcatori predittivi di risposta e sullo sviluppo di strategie terapeutiche combinate in grado di potenziare l'efficacia dell'immunoterapia.⁴²

Un ulteriore checkpoint immunitario coinvolto nella regolazione della risposta antitumorale è CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4). Questo recettore agisce come regolatore negativo quando l'attivazione dei linfociti T richiede dei segnali stimolatori mediati da diverse molecole, riducendo così l'attivazione e la proliferazione delle cellule T con conseguente diminuzione della risposta immunitaria. Contrariamente, il blocco CTLA-4, tramite l'utilizzo di anticorpi monoclonali, riattiva le cellule T e favorisce una risposta immunitaria diretta contro gli antigeni tumorali.⁴³

5.2.1 Nivolumab^{42,44,45}:

Nivolumab è un anticorpo monoclonale umanizzato anti PD-1 ed agisce come inibitore del checkpoint immunitario. Questo farmaco agisce bloccando l'interazione tra il

recettore PD-1, espresso sulle cellule T attivate, e il suo ligando PD-L1, frequentemente sovraespresso dalle cellule tumorali.

Nivolumab legandosi a PD-1 impedisce il trasferimento del segnale immunosoppressivo contribuendo al ripristino della capacità delle cellule T citotossiche di riconoscere e distruggere le cellule tumorali.

Questo farmaco presenta un'emivita di circa 26-27 giorni e caratteristica che permette regimi di dosaggio distanziati nel tempo. Nivolumab viene somministrato in genere per via endovenosa con un dosaggio raccomandato di 3 mg/kg ogni due settimane.

Studi recenti evidenziano che l'utilizzo di Nivolumab in monoterapia l'efficacia è modesta; perciò, viene somministrato in combinazione con altri farmaci, tra cui Iplimumab, un inibitore di CTLA-4. L'utilizzo combinato con Iplimumab ha evidenziato un miglioramento significativo del tasso di risposta nei pazienti affetti da carcinoma ovarico.

5.2.2 Pembrolizumab^{42,44,45}:

Pembrolizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato ed ha lo stesso meccanismo d'azione di Nivolumab.

Questo farmaco è stato il primo ad essere approvato dalla FDA per il trattamento di tumori solidi sulla base di specifici biomarcatori indipendentemente dalla localizzazione del tumore.

Pembrolizumab ha un'emivita di circa 26 giorni, permettendo somministrazioni distanziate. Il dosaggio raccomandato è una dose fissa di 200 mg ogni tre settimane somministrata per infusione endovenosa.

Anche questo farmaco dimostra un'efficacia superiore quando viene utilizzato in associazione ad altri farmaci rispetto a quando viene somministrato in monoterapia nel carcinoma ovarico.

Un aspetto critico degli approcci combinati è la tossicità in cui gli eventi avversi immuno-correlati risultano più elevati rispetto alla monoterapia; perciò, vanno individuati attentamente i parametri dei rischi e dei benefici.

5.2.3 Atezolizumab^{42,44,45}:

Atezolizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato che, a differenza di Nivolumab e Pembrolizumab, che agiscono sul recettore PD-1, atezolizumab è diretto contro il ligando PD-L1 espresso sulla superficie delle cellule tumorali e delle cellule immunitarie infiltranti il tumore.

Il legame di atezolizumab con PD-L1 impedisce l'interazione di quest'ultimo con i recettori PD-1 e B7.1 presenti sui linfociti T, contrastando così i segnali immunosoppressivi responsabili dell'inibizione della risposta immunitaria

antitumorale. Tale meccanismo favorisce la riattivazione dei linfociti T citotossici e il ripristino dell'attività immunitaria nei confronti delle cellule neoplastiche.

Presenta un'emivita di circa 27 giorni e il dosaggio raccomandato è di 1200 mg somministrati per via endovenosa ogni tre settimane.

Anche Atezolizumab, in associazione ad altri farmaci, è considerato più efficace rispetto all'utilizzo in monoterapia.

5.3 Limiti clinici dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico.⁴⁶

Sebbene vi siano solide motivazioni biologiche che hanno sostenuto lo sviluppo dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico, i risultati ottenuti nei trial clinici sono stati finora inferiori rispetto ai risultati osservati in altri tumori solidi, tra cui melanoma, carcinoma polmonare non a piccole cellule e carcinoma renale. Nel carcinoma ovarico, i checkpoint immunitari hanno mostrato tassi di risposta relativamente bassi e benefici limitati in termini di sopravvivenza libera da progressione e sopravvivenza globale.

Nonostante il carcinoma ovarico presenti checkpoint immunitari come PD-1, PD-L1 e linfociti infiltranti il tumore, che sono considerati favorevoli all'immunoterapia e associati a una prognosi migliore, queste caratteristiche non si sono tradotte in un'efficacia clinica paragonabile rispetto ad altri tumori solidi. Uno dei principali fattori responsabili della ridotta efficacia dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico è rappresentato dal microambiente tumorale fortemente immunosoppressivo. Questo ambiente limita l'attivazione e la funzione delle cellule immunitarie antitumorali attraverso numerosi meccanismi di evasione immunitaria.

Non sono emersi benefici positivi né nei trattamenti di prima linea, né in caso di recidiva e né nelle popolazioni con mutazione BRCA o con uno stato di deficit della ricombinazione omologa. La scarsa efficacia dell'immunoterapia deriva da meccanismi come: elevata eterogeneità tumorale, bassa immunogenicità di alcune popolazioni cellulari e la presenza di un microambiente tumorale alquanto immunosoppressivo.

In futuro, gli studi dovranno focalizzarsi sull'ottimizzazione della selezione dei biomarcatori, sulla valutazione degli approcci combinati di terapie e sul targeting del microambiente tumorale per migliorare l'efficacia dell'immunoterapia.

5.4 Strategie complementari.

Considerata la limitata efficacia degli inibitori dei checkpoint immunitari nel carcinoma ovarico, la ricerca si è orientata verso lo sviluppo di strategie terapeutiche complementari in grado di aumentare l'immunogenicità tumorale, favorire il reclutamento delle cellule immunitarie e superare i meccanismi di immunosoppressione del microambiente tumorale. Ciò è stato fatto con lo sviluppo delle strategie complementari capaci di amplificare la risposta immunitaria anti-

tumorale, promuovere la memoria immunologica per eliminare le cellule maligne, prevenire la recidiva e contrastare la progressione metastatica della malattia.

Tra le strategie complementari ci sono: i vaccini terapeutici anti-tumorali, le terapie cellulari con particolare riferimento alle CAR-T e l'utilizzo di molecole stimolanti la risposta immunitaria quali agonisti dei Toll-like receptors (TLR) e i virus oncolitici.

5.4.1 Vaccini terapeutici anti-tumorali:

I progressi fatti nel sequenziamento genomico del tumore e nell'identificazione degli antigeni tumorali hanno consentito lo sviluppo di vaccini sempre più specifici e personalizzati con l'obiettivo di stimolare una risposta immunitaria efficace contro il carcinoma ovarico.⁴⁷

I vaccini terapeutici anti-tumorali, a differenza dei vaccini profilattici tradizionali che hanno lo scopo di prevenire l'insorgenza di malattie infettive, vengono somministrati alle pazienti che sono già affette da carcinoma ovarico con l'obiettivo di riconoscere e distruggere le cellule tumorali e inoltre prevenire situazioni recidivanti grazie alla memoria immunologica specifica.⁴⁸

Per trattare e superare la resistenza alla chemioterapia nel cancro ovarico sono stati studiati vari vaccini:

- Vaccini a cellule dendritiche: le cellule dendritiche hanno il compito di inglobare gli antigeni tumorali e farli riconoscere dal sistema immunitario tramite le molecole del complesso maggiore di istocompatibilità. Perciò, gli antigeni tumorali vengono riconosciuti dai linfociti T citotossici e successivamente, una volta attivati, proliferano e riescono ad attaccare e distruggere le cellule neoplastiche. Inoltre, svolgono un ruolo fondamentale anche le cellule B che vengono coinvolte nella risposta immunitaria tramite la produzione di anticorpi diretti contro gli antigeni associati al carcinoma ovarico, di cui questi anticorpi si legano alle cellule neoplastiche portandone alla loro distruzione. Il vaccino a cellule dendritiche che si basa sulla modifica ex vivo di esse ottenute dal paziente. Perciò, le cellule dendritiche vengono messe assieme agli antigeni tumorali e in seguito vengono maturate e attivate tramite specifici agenti immunostimolanti. Successivamente vengono rinfuse nel paziente e andranno ad attivare le cellule T e B, amplificando così la risposta immunitaria anti-tumorale. Con questo metodo si è verificato un miglioramento in termini di sopravvivenza globale nelle pazienti affette da carcinoma ovarico.⁴⁸
- Vaccini a cellule tumorali intere: vengono utilizzate cellule tumorali del paziente che vengono inattivate o geneticamente modificate mantenendo la capacità di stimolare il sistema immunitario senza conservare il potenziale proliferativo.

L'obiettivo è esporre il sistema immunitario a un ampio repertorio di antigeni tumorali, favorendo una risposta immunitaria più estesa contro le cellule neoplastiche.⁴⁸

- Vaccini basati su cellule staminali pluripotenti indotte (induced Pluripotent Stem Cells, iPSC): le iPSC derivano dalla riprogrammazione genetica di cellule somatiche adulte. Queste cellule vengono divise nei vari componenti del microambiente tumorale, tra questi: nei fibroblasti associati al tumore, nelle cellule endoteliali o nelle cellule immunitarie. Le iPSC esprimono antigeni condivisi con il tumore e vengono studiate come possibile strumento per attivare il sistema immunitario e indurre una risposta antitumorale specifica.⁴⁸
- Vaccini peptidici: in questi vaccini vengono utilizzati peptidi specifici che derivano da antigeni associati al tumore o antigeni tumorali specifici. Una volta somministrati, i peptidi vengono riconosciuti dagli antigeni e successivamente riconosciuti dai linfociti T, inducendo una risposta immunitaria mirata contro le cellule neoplastiche.⁴⁸
- Vaccini a DNA e mRNA: i vaccini a DNA e mRNA sono composti da materiale genetico codificante per gli antigeni tumorali espressi nelle cellule del paziente. Dopo la somministrazione, questo materiale genetico viene tradotto, dalle cellule dell'ospite in proteine antigeniche che a loro volta stimoleranno l'attivazione dei linfociti T, la produzione di anticorpi grazie alle cellule B e la formazione della memoria immunologica. Recenti studi hanno dimostrato che l'utilizzo di vaccini a DNA inducono una risposta immunitaria duratura.⁴⁸
- Vaccini batterici e virali: i vaccini batterici utilizzano batteri geneticamente modificati che hanno la capacità di stimolare il sistema immunitario inducendo una risposta infiammatoria nonché la produzione di citochine pro-infiammatorie. Invece, i vaccini virali utilizzano virus ingegnerizzati che interagiscono con le cellule immunitarie per consentire il rilascio di mediatori infiammatori e il riconoscimento delle cellule T verso gli antigeni tumorali.⁴⁸

La Figura 1 spiega i vari tipi di vaccini utilizzati contro il carcinoma ovarico e il loro meccanismo.⁴⁸

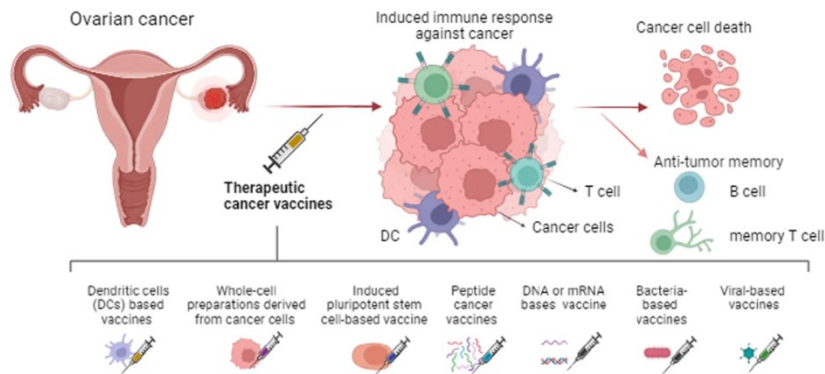


Figura 1. Tipi di vaccini terapeutici contro il cancro e il principale meccanismo indotto. La risposta del sistema immunitario viene generata contro il tumore che porta alla morte delle cellule tumorali e alla memoria immunologica.⁴⁸

5.4.2 Terapie cellulari (CAR-T).⁴⁸

Una delle più importanti strategie complementari è la terapia cellulare CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-cell) e si basa sulla modificazione genetica dei linfociti T del paziente affinché siano in grado di riconoscere e distruggere in maniera selettiva le cellule tumorali.

Infatti, le cellule CAR-T vengono modificate a livello genetico per esprimere recettori artificiali chiamati Chimeric Antigen Receptors (CAR), che hanno la capacità di riconoscere gli antigeni tumorali specifici delle cellule cancerose. Lo sviluppo di questa strategia sta nella capacità delle cellule CAR-T di riconoscere specifici antigeni tumorali in modo indipendente dalla presentazione antigenica mediata dal complesso maggiore di istocompatibilità (MHC).

Sebbene in questa terapia cellulare si sono riscontrati dei buoni risultati, soprattutto nelle neoplasie ematologiche, l'applicazione delle cellule CAR-T nei tumori solidi, incluso il carcinoma ovarico, presenta numerose limitazioni biologiche e cliniche.

Uno dei fattori critici riguarda la tossicità associata alla sindrome da rilascio delle citochine, ossia una risposta infiammatoria che agisce a livello sistemico ed è causata dall'attivazione massiva del sistema immunitario.

Questo processo può scatenare nel paziente vari sintomi gravi tra cui: febbre alta, insufficienza in organi molteplici e in casi estremi può provocare la morte. Un'ulteriore tossicità riguarda il processo delle cellule CAR-T quando oltre a riconoscere gli antigeni tumorali, riconoscono anche i tessuti sani provocando così danni significativi agli organi sani. Inoltre, lo svolgimento della chemioterapia prima della somministrazione delle cellule CAR-T per ridurre le cellule immunitarie circolanti e favorire l'espansione

delle cellule ingegnerizzate, potrebbe provocare danni genotossici aumentando il rischio di sviluppare ulteriori patologie.

Nonostante questi rischi tossicologici lo sviluppo della terapia cellulare CAR-T è in continua evoluzione e viene considerata una terapia promettente per il carcinoma ovarico.

Nel tumore ovarico, per superare l'ostacolo del microambiente tumorale che costituisce una barriera immunologica per lo svolgimento delle attività delle cellule CAR-T, sono state introdotte delle strategie sperimentali che sono attualmente in fase di studio:

- Iniezioni intratumorali delle cellule CAR-T;
- Impiego di richiami di vaccini a base di peptidi;
- Strategie di espansione cellulare guidata da citochine ingegnerizzate.

Inoltre, nel carcinoma ovarico sono stati individuati degli antigeni che rappresentano possibili target per l'ingegnerizzazione delle cellule CAR-T, tra cui: mesotelina, Muc16, TAG72, il recettore del folato e il recettore dell'ormone follicolo-stimolante.

5.4.3 Molecole stimolanti la risposta immunitaria: agonisti TLR e virus oncolitici.

Tra le strategie innovative volte a potenziare la risposta immunitaria nel carcinoma ovarico rientrano anche le molecole immunostimolanti, in particolare gli agonisti dei Toll-like Receptors (TLR), e i virus oncolitici (oncolytic viruses). Questi approcci mirano a riattivare l'immunità innata e adattiva, contrastando i meccanismi di immunosoppressione presenti nel microambiente tumorale ovarico.⁴⁹

I recettori TLR (Toll-like Receptors) fanno parte del gruppo di recettori del sistema immunitario innato. Inizialmente sono stati riconosciuti per la loro capacità di identificare strutture molecolari specifiche associate ai patogeni, chiamate PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns). Successivamente è stato dimostrato che tali recettori hanno anche la capacità di riconoscere molecole rilasciate da cellule danneggiate che fanno parte dello stesso organismo, definite DAMPs (Damage Associated Molecular Patterns).⁴⁹

Quando gli agonisti TLR vengono attivati inizia così un processo fondamentale di avvio della risposta immunitaria innata e ciò accade perché viene indotta una cascata di segnali intracellulari che porta alla produzione di citochine pro-infiammatorie, interferoni e altri mediatori immunitari coinvolti nell'attivazione della risposta immunitaria innata. Inoltre, i TLR svolgono un ruolo fondamentale nella modulazione dell'immunità adattiva, favorendo l'attivazione delle cellule dendritiche, dei linfociti T e delle cellule natural killer (NK).⁴⁹

Recenti studi hanno evidenziato che i recettori TLR3, TLR7/8 e TLR9 rappresentano i principali target di interesse in ambito oncologico. Questi agonisti TLR sono in grado

di stimolare la produzione di interferone e citochine pro-infiammatorie, provocando il reclutamento dei linfociti T e migliorando l'attività delle cellule NK. Inoltre, questi agonisti TLR, se associati ad altre terapie immunologiche ne potenziano l'efficacia clinica.⁵⁰

Dato l'ambiente fortemente immunosoppressivo del tumore ovarico, c'è stato un notevole sviluppo nell'interesse verso gli agonisti TLR, in quanto rappresentano una strategia promettente per la riattivazione del sistema immunitario e l'aumento dell'immunogenicità del tumore.⁵⁰

Un'altra strategia innovativa studiata nel carcinoma ovarico è rappresentata dai virus oncolitici, ossia virus naturali o geneticamente modificati capaci di infettare selettivamente le cellule tumorali, replicarsi al loro interno e determinare la lisi.⁵¹

Tali virus, possono essere presenti in natura o venire modificati geneticamente e vengono utilizzati come agenti terapeutici attivi. L'attività terapeutica si basa su due meccanismi d'azione:

- Oncolisi diretta: i virus oncolitici sfruttano le carenze delle cellule tumorali nei meccanismi di difesa antivirale e il loro metabolismo accelerato per replicarsi fino a quando viene provocata la lisi della cellula ospite;
- Stimolazione della risposta immunitaria: la distruzione delle cellule neoplastiche rilascia nell'ambiente vicino antigeni tumorali e molecole di segnale come DAMPs e PAMPs. Tale processo aiuta a oltrepassare l'ostacolo dell'immunosoppressione tipica del microambiente tumorale e attiva una risposta immunitaria anti-tumorale sistemica.⁵¹

Attualmente non esistono virus oncolitici approvati specificatamente per il trattamento del tumore ovarico ma sono in fase di ricerca continua. Finora sono stati approvati:

- Rigvir: per il trattamento del melanoma;
- H101: adenovirus modificato per il carcinoma nasofaringeo;
- Talimogene jaherparepvec (T-VEC): per lesioni non resecabili in pazienti con melanoma.⁵¹

Tuttavia, il tumore ovarico è oggetto di svariate ricerche che stanno valutando l'efficacia di alcuni virus oncolitici, tra cui:

- Adenovirus: hanno un profilo di sicurezza favorevole;
- Virus del morbillo: ha mostrato attività antitumorale in pazienti con tumore ovarico ricorrente resistente ai trattamenti standard con platino e taxani;
- Virus vaccinico: utilizzato in combinazione con chemioterapia e bevacizumab per il carcinoma ovarico resistente al platino.⁵¹

Inoltre, un concetto fondamentale riguarda la combinazione dei virus oncolitici con gli inibitori dei checkpoint immunitari quali pembrolizumab o durvalumab, ciò consente di superare l'immunosoppressione del microambiente tumorale.⁵¹

Un'altra combinazione viene fatta con chemioterapia e antiangiogenici, perciò combinano il virus vaccinico con carboplatino, paclitaxel e bevacizumab per potenziare l'effetto antitumorale e ridurre la vascolarizzazione del tumore.⁵¹

La tabella 2 riassume le principali strategie immunoterapiche studiate nel carcinoma ovarico, evidenziandone il bersaglio terapeutico, il meccanismo d'azione e le principali limitazioni cliniche.

Tabella 2: strategie immunoterapiche del carcinoma ovarico.

Strategia terapeutica	Bersaglio principale	Meccanismo d'azione	Principali limiti
Pembrolizumab	PD-1	Riattivazione dei linfociti T	Bassi tassi di risposta
Nivolumab	PD-1	Inibizione del checkpoint immunitario	Tossicità immuno-correlata
Cellule CAR-T	Mesotelina, MUC16	Citotossicità mirata contro le cellule tumorali	Sindrome da rilascio di citochine (CRS)
Vaccini terapeutici	Antigeni tumorali	Attivazione della memoria immunologica	Risposta clinica variabile
Agonisti TLR	Toll-like receptors	Stimolazione dell'immunità innata	Efficacia clinica ancora limitata
Virus oncolitici	Cellule tumorali	Oncolisi e attivazione immunitaria	Studi clinici ancora preliminari

Nonostante i numerosi approcci immunoterapici studiati, il carcinoma ovarico continua a presentare importanti limitazioni biologiche e terapeutiche che riducono l'efficacia clinica di tali strategie.

5.5 Sfide biologiche e terapeutiche dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico.⁵²⁵³⁵⁴

Sebbene ci siano stati dei progressi negli ultimi anni nell'ambito dell'immunoterapia oncologica, il carcinoma ovarico continua a rappresentare una neoplasia, a differenza di altri tumori solidi, poco responsiva alle strategie immunomediate, in particolare agli inibitori dei checkpoint immunitari. I motivi di questa ridotta efficacia terapeutica derivano dal basso carico mutazionale e dalla presenza di un microambiente tumorale fortemente immunosoppressivo che ostacolano l'attivazione l'efficacia della risposta immunitaria antitumorale.

Una delle sfide biologiche primarie è il basso carico mutazionale (Tumor Mutational Burden, TMB) tipico del cancro ovarico. Le mutazioni somatiche presenti nelle cellule

tumoriali determinano infatti la formazione di neoantigeni, essenziali per il riconoscimento delle cellule neoplastiche da parte del sistema immunitario. Nei tumori caratterizzati da elevato TMB, come melanoma e carcinoma polmonare, la maggiore presenza di neoantigeni favorisce generalmente una migliore risposta agli inibitori dei checkpoint immunitari.^{58,59} Per questo motivo, il tumore ovarico viene classificato come tumore “immunologicamente freddo”, caratterizzato da una limitata attivazione e infiltrazione di linfociti T citotossici. Infatti, in recenti studi è stato osservato che i tumori solidi con un alto TMB rispondono in maniera più efficace agli inibitori dei checkpoint immunitari, grazie alla loro immunogenicità. Invece, il basso carico TMB contribuisce a tassi di risposta modesti quando c'è l'utilizzo di inibitori di PD-1 o CTLA-4 come agenti singoli (tra il 6% e il 15%). Perciò, un basso carico mutazionale rende più difficile prevedere come le pazienti risponderanno alle terapie e stimare le probabilità che sviluppino una resistenza alla terapia.

Siccome il tumore ovarico non stimola in modo naturale il sistema immunitario a causa delle ridotte mutazioni, si ricorre così agli interventi “artificiali”, per esempio i vaccini a base di cellule dendritiche sono studiati per i tumori “immunologicamente freddi” a basso carico mutazionale, perché riescono ad indurre una risposta immunitaria che il carico mutazionale del tumore non è in grado di innescare per conto proprio.

In secondo luogo, il successo dell'immunoterapia viene contrastato da un microambiente tumorale immunosoppressivo. Questo ambiente, oltre a reclutare le cellule soppressorie come i macrofagi associati al tumore di fenotipo M2, cellule T regolatorie e le cellule di derivazione mieloide, crea anche barriere fisiche e metaboliche. La diffusa ipossia, l'acidità e l'elevata pressione del fluido interstiziale derivanti da una vascolarizzazione rapida ma disfunzionale, impediscono fisicamente l'infiltrazione dei linfociti T effettori e la distribuzione dei farmaci immunoterapici. Queste sono le sfide poste dal microambiente tumorale immunosoppressivo, che nel carcinoma ovarico sono estremamente colpite e rappresentano il motivo principale per cui questa neoplasia risponde poco alle immunoterapie convenzionali.

6. APPROCCI COMBINATI E PROSPETTIVE FUTURE

6.1 Razionale delle combinazioni terapeutiche:

Negli ultimi anni, le strategie terapeutiche combinate hanno assunto un ruolo sempre più rilevante nel trattamento del carcinoma ovarico. In particolare, sono oggetto di intensa ricerca le associazioni tra inibitori di PARP e farmaci antiangiogenici, nonché le combinazioni tra inibitori di PARP e immunoterapia. L'obiettivo di questi approcci è potenziare l'efficacia antitumorale attraverso meccanismi d'azione complementari, migliorando la sopravvivenza libera da progressione (PFS) e, potenzialmente, la sopravvivenza globale (OS) delle pazienti.⁵⁵

PARP-inibitori + anti-angiogenici:

L'utilizzo degli inibitori di PARP come terapia di mantenimento in prima linea è in costante progressione nel carcinoma ovarico avanzato. Con il crescente utilizzo di questi farmaci in prima linea, è diventato fondamentale comprendere l'efficacia della prima terapia nelle pazienti, in seguito a quando si verifica progressione della malattia in prima linea, è fondamentale per rendere ottimali i trattamenti post-progressione.⁵⁶

Tra le combinazioni maggiormente studiate vi è quella tra inibitori di PARP e farmaci antiangiogenici. Uno dei principali studi che ha valutato questa strategia è stato lo studio di fase III PAOLA-1, che in doppio cieco, ha analizzato la terapia di mantenimento con l'inibitore di PARP Olaparib con Bevacizumab, rispetto al placebo con Bevacizumab, nelle pazienti con carcinoma ovarico avanzato di nuova diagnosi. La combinazione dei farmaci Olaparib + Bevacizumab è stata quella più promettente nei termini di sopravvivenza libera da progressione e ha ridotto il rischio di progressione della malattia o di morte. Questo beneficio si è verificato nei sottogruppi delle pazienti portatrici di mutazione BRCA e nelle pazienti risultate positive al deficit di ricombinazione omologa (HRD).⁵⁷

Per quanto riguarda il profilo di sicurezza e tollerabilità, Olaparib + Bevacizumab non creano peggioramenti della qualità di vita. Fino ad oggi, questa è l'unica combinazione approvata in pratica clinica.⁵⁷

Inoltre, in fase di sperimentazione clinica, c'è la combinazione di Rucaparib + Bevacizumab.⁵⁸

Lo scopo di questa sperimentazione è di valutare la sopravvivenza libera da progressione delle pazienti con tumore ovarico epiteliale di alto grado di nuova diagnosi in concomitanza allo stato HRD e determinare la dose massima tollerata di questa combinazione.⁵⁸

PARP-inibitori + immunoterapia:

Nonostante i significativi progressi ottenuti con gli inibitori dei checkpoint immunitari in diverse neoplasie solide, i risultati dell'immunoterapia nel carcinoma ovarico sono stati finora limitati. In particolare, gli anticorpi anti-PD-1 e anti-PD-L1 hanno mostrato benefici modesti in termini di sopravvivenza libera da progressione e tassi di risposta obiettiva, soprattutto quando utilizzati in monoterapia.⁵⁹

Anche l'impiego dell'immunoterapia in ambito neoadiuvante non ha prodotto risultati pienamente soddisfacenti, evidenziando la necessità di sviluppare strategie terapeutiche in grado di potenziarne l'efficacia. In questo contesto, l'associazione tra immunoterapia e inibitori di PARP rappresenta uno degli approcci più promettenti attualmente in fase di studio.⁵⁹

Le combinazioni degli inibitori di PARP con l'immunoterapia vengono studiate per determinare se l'attivazione dei linfociti in fasi precoci di differenziazione possa potenziare le risposte antitumorali.⁵⁹

Un primo esempio di combinazione, Dostarlimab + Niraparib, non ha prodotto un miglioramento clinicamente significativo in termini di sopravvivenza libera da progressione rispetto a Niraparib somministrato in monoterapia.⁵⁹

Lo studio KEYNOTE B96 evidenzia la combinazione Paclitaxel + Pembrolizumab + Bevacizumab. L'aggiunta di Pembrolizumab al Paclitaxel somministrato settimanalmente, con o senza Bevacizumab, ha dimostrato miglioramenti in termini di sopravvivenza globale nelle pazienti con carcinoma ovarico recidivante resistente al platino, con tumori che esprimono PD-L1.⁶⁰

Oltre alle combinazioni tra farmaci già disponibili nella pratica clinica, la ricerca sta esplorando nuove strategie terapeutiche innovative. Tra queste, i coniugati anticorpo-farmaco (Antibody-Drug Conjugates, ADC) rappresentano una delle prospettive più promettenti per il trattamento del carcinoma ovarico, soprattutto nelle forme resistenti al platino.

6.2 Studi clinici in corso e primi risultati promettenti.

Tra le strategie terapeutiche più innovative attualmente studiate nel carcinoma ovarico, un ruolo di crescente interesse è ricoperto dai coniugati anticorpo-farmaco (Antibody-Drug Conjugates, ADC), particolarmente promettenti nelle pazienti con malattia recidivante o resistente al platino. Tali farmaci rappresentano l'evoluzione della tecnologia degli anticorpi monoclonali, infatti gli ADC combinano gli anticorpi monoclonali con i farmaci citotossici. Con lo sviluppo di ADC di nuova generazione, tramite l'utilizzo di anticorpi umanizzati, hanno ridotto significativamente l'immunogenicità.⁶¹

Gli ADC che vengono utilizzati sono quindi una combinazione di chemioterapia e immunoterapia, costituiti da un forte carico citotossico legato a un anticorpo, che ha il compito di fornire un targeting specifico per il carcinoma ovarico e di estendere l'emivita dell'anticorpo in circolazione. Tale approccio combinato, rispetto alla chemioterapia standard, migliora i risultati clinici e contribuisce ad una migliore qualità di vita delle pazienti.⁶¹

La stabilità degli ADC nella circolazione viene mantenuta dai linker chimici che fungono da collegamento tra i farmaci citotossici e gli anticorpi monoclonali. Idealmente, i linker prevengono l'aggregazione degli ADC, promuovono il rilascio del farmaco citotossico nei siti bersaglio e successivamente limitano il rilascio prematuro.⁶¹ Siccome gli ADC sfruttano gli anticorpi monoclonali per somministrare con una certa precisione una chemioterapia potente alle cellule neoplastiche, sono stati individuati minimi effetti fuori bersaglio e una maggiore soppressione del tumore.⁶¹

Inoltre, i coniugati anticorpo-farmaco vengono somministrati per via endovenosa per evitare il rischio della degradazione dell'anticorpo monoclonale da parte dell'acido gastrico e/o di ulteriori processi proteolitici.⁶¹

Per quanto riguarda la farmacocinetica dell'ADC, l'anticorpo di quest'ultimo si lega a un antigene presente sulla superficie della cellula neoplastica e successivamente la cellula, tramite endocitosi, ingloba il complesso antigene-ADC al proprio interno. In seguito, gli ADC all'interno della cellula formeranno endosomi precoci che matureranno in endosomi tardivi e si fonderanno con i lisosomi, creando così un ambiente acido. Per finire, l'ambiente acido con gli enzimi lisosomiali romperanno il linker che tenevano legati il farmaco all'anticorpo, consentendo un rilascio ottimale del farmaco citotossico nel citoplasma. Quando il farmaco verrà rilasciato, interromperà i processi cellulari, innescherà l'apoptosi e causerà la morte cellulare.⁶¹

Figura 1: Modello che illustra i diversi meccanismi attraverso i quali vari coniugati anticorpo-farmaco (ADC) agiscono come agenti terapeutici nel cancro ovarico.⁶¹

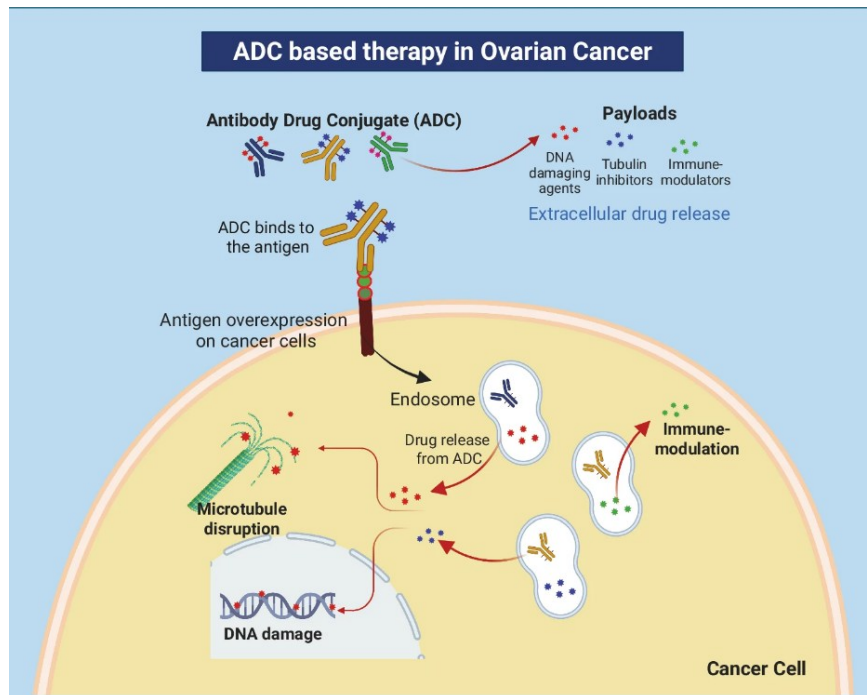


Figura 1. I coniugati anticorpo-farmaco (ADC) sono costituiti da un anticorpo legato a un farmaco citotossico tramite un linker. L'anticorpo si lega ad antigeni specifici delle cellule tumorali, penetrando nella cellula attraverso l'endocitosi mediata da recettori. Una volta all'interno, il farmaco citotossico viene rilasciato, in genere tramite scissione enzimatica, e uccide la cellula tumorale interrompendo processi essenziali come la replicazione del DNA, la disorganizzazione dei microtubuli e la modulazione immunitaria, tra gli altri meccanismi. Questo approccio mirato consente di somministrare una chemioterapia efficace specificamente alle cellule tumorali con un impatto minimo sui tessuti sani.⁶¹

6.2.1 Principali coniugati anticorpo-farmaco nel carcinoma ovarico:

Tra i coniugati anticorpo-farmaco attualmente disponibili o in fase di sviluppo per il trattamento del carcinoma ovarico, alcuni hanno mostrato risultati particolarmente promettenti, soprattutto nelle pazienti con malattia recidivante o resistente al platino.⁶¹

- **Mirvetuximab Soravtansine:** Mirvetuximab Soravtansine è il primo ADC approvato specificatamente per il trattamento del carcinoma ovarico e rappresenta uno dei più importanti progressi terapeutici degli ultimi anni. Questo farmaco è costituito da un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore alfa del folato (FR α), frequentemente sovraespresso nel carcinoma ovarico epiteliale di alto grado, coniugato a DM4, un potente inibitore dei microtubuli. Mirvetuximab

Soravtansine viene somministrato in monoterapia nelle pazienti con forte espressione dei folati e con malattia recidivante resistente al platino. La dose raccomandata stabilita è di 6,0 mg/kg ogni tre settimane. Con tale dose è stata individuata una sopravvivenza mediana libera da progressione di circa cinque mesi e una sopravvivenza globale di sedici mesi.⁶¹

Inoltre, tale farmaco ha un profilo di sicurezza maggiore e provoca meno effetti collaterali avversi. Per tale motivo è stato approvato dalla Food Drug Administration nel 2022.⁶¹

- **Trastuzumab Deruxtecan:** Trastuzumab Deruxtecan è un ADC costituito da un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) associato a un inibitore della topoisomerasi.⁶¹

Nel carcinoma ovarico, il farmaco viene studiato principalmente nelle pazienti con tumori HER2-positivi, in cui la sovraespressione del recettore rappresenta un potenziale biomarcatore predittivo di risposta al trattamento. I risultati disponibili suggeriscono una maggiore efficacia nei tumori caratterizzati da elevata espressione di HER2, mentre il beneficio appare più limitato nei casi con espressione ridotta o assente del bersaglio molecolare.⁶¹

Inoltre, tale farmaco non è privo di rischi ma contribuisce a portare beneficio alle pazienti che sovraesprimono HER2.⁶¹

- **Raludotatug Deruxtecan:** è un ADC sperimentale e prende di mira la proteina CDH6 frequentemente espressa nel carcinoma ovarico. Tale farmaco, è costituito da un anticorpo monoclonale umanizzato legato agli inibitori della topoisomerasi.⁶²
- **Rinatabart Sesutecan:** Rinatabart Sesutecan è un ADC sperimentale diretto contro il recettore alfa del folato (FR α), uno dei biomarcatori maggiormente studiati nel carcinoma ovarico.⁶³

È indicato per pazienti con tumore ovarico epiteliale di alto grado resistente al platino. Viene somministrato per infusione endovenosa e la durata del ciclo è di 21 giorni. Inoltre, dati clinici evidenziano una sopravvivenza libera da progressione e una sopravvivenza globale fino a un anno e mezzo. Rinatabart Sesutecan è ancora in fase di sperimentazione ma fino ad ora questa combinazione è risultata tollerabile nelle pazienti con tumore ovarico in stadio avanzato.⁶³

6.3 Medicina di precisione: test genomici e molecolari per la selezione delle pazienti.

L'introduzione delle terapie mirate ha profondamente modificato l'approccio terapeutico al carcinoma ovarico, favorendo lo sviluppo della medicina di precisione. Questo modello terapeutico si basa sull'identificazione di specifiche caratteristiche molecolari e genomiche del tumore, consentendo di selezionare le pazienti che hanno

maggiori probabilità di beneficiare di un determinato trattamento e di ridurre l'esposizione a terapie potenzialmente inefficaci.⁶⁴

Uno degli esempi più rilevanti di medicina di precisione nel carcinoma ovarico riguarda l'utilizzo di Mirvetuximab Soravtansine, la cui efficacia dipende dall'espressione del recettore alfa del folato (FR α) sulla superficie delle cellule tumorali.⁶⁴

E' un test di immunoistochimica che ha il compito di misurare l'espressione della proteina FR α sulle cellule del tumore ovarico.

Questo test è stato creato per l'uso diagnostico complementare per aiutare i patologi nell'identificazione delle pazienti portatrici di carcinoma ovarico folato positive.⁶⁴

Dati clinici rivelano che l'utilizzo della terapia con Mirvetuximab Soravtansine nelle pazienti con tumore ovarico epiteliale di alto grado resistente al platino e, con sovraespressione dei folati, hanno dimostrato una significativa attività antitumorale e una durata mediana della risposta di circa sette mesi, perciò più FR α sono presenti maggiore è l'efficacia del farmaco.⁶⁴

Inoltre, il test FOLR1 dà risultati promettenti e simili tra loro, se ripetuto più volte. Mirvetuximab Soravtansine si è dimostrati più efficace della chemioterapia standard nelle pazienti FR α positive.⁶⁴

Nonostante i benefici, la terapia con Mirvetuximab Soravtansine può comportare rischi significativi che richiedono un'attenta gestione, tra cui:

- Tossicità oculare: comporta reazione come compromissione della vista e cheratopatia;
- Polmonite: è considerata raramente fatale, richiede un attento monitoraggio e l'interruzione del trattamento in caso di sintomi gravi;
- Neuropatia periferica;
- Tossicità embrio-fetale: a causa del suo meccanismo d'azione, il farmaco può causare danni al feto o comportare morte embrionale.⁷²

Per evitare di contrarre questi rischi, la FDA ha imposto protocolli ben specifici, come il monitoraggio oculistico in cui le pazienti affette da cancro ovarico prima di iniziare la terapia con Mirvetuximab devono sottoporsi a esami della vista al basale e ogni due cicli per i primi otto cicli ed è obbligatorio l'utilizzo di colliri steroidei e lacrime artificiali e l'ottimizzazione del dosaggio.⁶⁵

Un altro ambito fondamentale della medicina di precisione nel carcinoma ovarico riguarda l'identificazione delle pazienti con deficit della ricombinazione omologa (HRD), una condizione strettamente associata alla sensibilità agli inibitori di PARP.⁶⁶ Sebbene gli inibitori di PARP abbiano rivoluzionato il trattamento del carcinoma ovarico, non tutte le pazienti ottengono lo stesso beneficio terapeutico. Perciò i test per HRD sono strumenti diagnostici fondamentali per individuare le pazienti con carcinoma

ovarico che hanno la possibilità di beneficiare con maggiori probabilità della terapia con gli inibitori PARP.⁶⁶

I test genomici attualmente approvati dalla FDA sono due:

- Myriad Mychoice CDx: ha il compito di individuare sia le mutazioni nei geni BRCA 1 e BRCA 2, sia il Genome Instability Score (GIS). Il GIS viene calcolato combinando tre misure di footprints create dal deficit di riparazione del DNA: lo squilibrio allelico telomerico, la perdita di eterozigosi e le transizioni di stato su larga scala;
- FoundationOne CDx: ha il compito di effettuare il calcolo della percentuale di perdita di eterozigosi (LOH) con un cut-off del 16% per distinguere tra tumori ad alto e basso LOH, includendo il sequenziamento di geni correlati alla ricombinazione omologa.⁶⁶

L'efficacia di questi test ha portato dei risultati ottimali negli studi clinici di fase III per estendere l'uso degli inibitori di PARP alle pazienti con sole mutazioni BRCA. Per esempio, lo studio del Niraparib ha dimostrato che le pazienti HRD-positive hanno mostrato un miglioramento significativo in termini di sopravvivenza libera da progressione, lo studio che vede la combinazione Olaparib + Bevacizumab ha portato all'approvazione della combinazione per il mantenimento in prima linea nei tumori avanzati HRD-positivi e infine nello studio con Rucaparib è stato utilizzato il test FoundationOne per stratificare le pazienti, portando così benefici anche nelle pazienti senza mutazioni BRCA ma con elevato LOH.⁶⁶

Tali test genomici si sono riscontrati molto utili nell'ambito della pratica clinica ma presentano alcuni limiti significativi. Siccome questi test rilevano danni passati al genoma, se un tumore ripristina la funzionalità della ricombinazione omologa, il test genomico risulterà ancora positivo, ma le pazienti saranno diventate resistenti agli inibitori di PARP. Un altro limite è legato a fattori logistici, tra cui i laboratori sono centralizzati all'estero, con costi elevati e tempi di attesa lunghi.⁶⁶

6.4 Importanza della stratificazione delle pazienti in base a biomarcatori predittivi.

La crescente disponibilità di terapie mirate ha reso la stratificazione delle pazienti sulla base di biomarcatori predittivi un elemento fondamentale nella gestione del carcinoma ovarico. L'identificazione delle caratteristiche molecolari del tumore consente infatti di selezionare le pazienti che hanno maggiori probabilità di beneficiare di specifici trattamenti, ottimizzando l'efficacia terapeutica e riducendo l'esposizione a farmaci potenzialmente inefficaci.⁶⁵

L'importanza di tale stratificazione si sviluppa su vari punti chiave. Questo coniugato anticorpo-farmaco si lega selettivamente alle cellule che esprimono il bersaglio

molecolare e, una volta internalizzato, rilascia un agente citotossico capace di interrompere la funzione dei microtubuli e indurre la morte cellulare. Se non c'è sovraespressione del recettore alfa del folato il farmaco non potrà agire in maniera efficace sul tumore.⁶⁵

Il test diagnostico FOLR1, invece, definisce la positività al biomarcatore tramite la colorazione della membrana in almeno il 75% delle cellule tumorali vitali e ciò assicura che la terapia venga somministrata solo alle pazienti che hanno maggiori probabilità di averne un beneficio clinico.⁷⁴

Per ottimizzare il rapporto rischio-beneficio di Mirvetuximab Soravtansine, la stratificazione tramite biomarcatori predittivi assicura che soltanto le pazienti con un'elevata probabilità di risposta siano esposte agli eventuali effetti avversi come la tossicità oculare e la polmonite.⁶⁵

Un'ulteriore situazione in cui la stratificazione delle pazienti è fondamentale riguarda i test per la ricombinazione omologa con gli inibitori di PARP. Questa necessità deriva dal fatto che, nonostante gli inibitori di PARP abbiano rivoluzionato le terapie, non tutte le pazienti ne traggono beneficio e l'insorgenza di resistenze è quasi inevitabile.⁶⁶

Siccome circa il 50% dei tumori ovarici di alto grado presentano difetti nella riparazione del DNA tramite ricombinazione omologa, tale condizione rende le cellule tumorali estremamente vulnerabili all'azione degli inibitori di PAR attraverso il meccanismo della letalità sintetica. Perciò, individuare correttamente queste pazienti permette di colpire questa specifica vulnerabilità biologica.⁶⁶

Inoltre, la stratificazione ha permesso di amplificare l'utilizzo degli inibitori di PARP oltre le pazienti con sole mutazioni BRCA 1 e BRCA 2, migliorando significativamente gli esiti clinici in termini di sopravvivenza libera da progressione nelle pazienti classificate come HRD-positive. Ad oggi, lo stato HRD è un criterio fondamentale di leggibilità per il trattamento in prima linea delle pazienti affette da carcinoma ovarico.⁶⁶

Lo scopo dei test genomici non è quello di rilevare se il tumore ha ripristinato la funzione HR diventando resistente ma è fondamentale perché forniscono una lettura in tempo reale dello stato di riparazione del DNA, permettendo così di intercettare le resistenze acquisite e personalizzare ulteriormente le terapie adatte per ogni paziente.⁶⁶

La stratificazione molecolare rappresenta pertanto uno dei pilastri della medicina di precisione nel carcinoma ovarico. Tuttavia, l'applicazione diffusa di questi test può essere limitata da fattori economici, logistici e organizzativi, tra cui costi elevati, necessità di laboratori altamente specializzati e tempi di refertazione non sempre rapidi.⁶⁶

In questo contesto, lo sviluppo di strumenti basati sull'intelligenza artificiale e sull'analisi avanzata dei dati clinici e molecolari potrebbe contribuire a rendere i processi di stratificazione più rapidi, accessibili e accurati. L'integrazione tra biomarcatori genomici, dati clinici e tecnologie digitali rappresenta una delle

prospettive più promettenti per il futuro della medicina personalizzata nel carcinoma ovarico.⁶⁶

7. CONCLUSIONI

Il percorso di analisi condotto in questo lavoro di tesi evidenzia come il trattamento del carcinoma ovarico stia attraversando una fase di profonda trasformazione. Per decenni, l'approccio terapeutico è rimasto ancorato a uno standard basato sulla combinazione di chirurgia citoriduttrice e chemioterapia con platino e taxani. Nonostante l'efficacia iniziale, i limiti di tale strategia sono emersi chiaramente nella gestione delle pazienti in stadio avanzato, gravate da un tasso di recidiva dell'80% e dallo sviluppo di resistenze farmacologiche che rendono la prognosi spesso infausta.

Il vero cambio di paradigma è scaturito dalla comprensione delle basi molecolari della malattia, in particolare dell'importanza della stabilità genomica e del ruolo della riparazione del DNA. La scoperta della letalità sintetica ha permesso agli inibitori di PARP di imporsi come la più significativa innovazione farmacologica dell'ultimo decennio. Questi farmaci hanno dimostrato che è possibile colpire selettivamente le cellule tumorali sfruttando vulnerabilità genetiche specifiche, come le mutazioni BRCA e il deficit di ricombinazione omologa (HRD), migliorando sensibilmente la sopravvivenza libera da progressione. Rispetto alla chemioterapia tradizionale, gli inibitori di PARP offrono il vantaggio di una somministrazione orale e di una tossicità generalmente più gestibile, consentendo il loro impiego come terapia di mantenimento a lungo termine.

D'altra parte, l'immunoterapia rappresenta una frontiera ancora in parte da conquistare. Sebbene il carcinoma ovarico sia caratterizzato da un microambiente tumorale (TME) fortemente immunosoppressivo che limita l'efficacia degli inibitori dei checkpoint immunitari in monoterapia, la ricerca ha identificato strategie promettenti. L'impiego di vaccini terapeutici, delle cellule CAR-T e di molecole stimolanti come gli agonisti TLR mira a trasformare un tumore "immunologicamente freddo" in uno responsivo, superando le barriere poste dal TME.

Il futuro della cura risiede indubbiamente nella medicina di precisione e negli approcci combinati. L'integrazione razionale di diverse classi di farmaci – come l'associazione di Olaparib e Bevacizumab approvata nello studio PAOLA-1 – dimostra che la sinergia tra inibizione del danno al DNA e blocco dell'angiogenesi può offrire risultati superiori ai singoli trattamenti. Parallelamente, l'emergere dei coniugati anticorpo-farmaco (ADC), come il Mirvetuximab Soravtansine, apre nuove possibilità per le pazienti resistenti al platino, permettendo di veicolare agenti citotossici potenti direttamente sulle cellule che sovraesprimono specifici recettori, come quello del folato.

In conclusione, la sfida principale per il prossimo futuro sarà la capacità di stratificare le pazienti in modo sempre più accurato. L'utilizzo sistematico di test genomici e molecolari (come i test HRD e FOLR1) non è più un'opzione, ma una necessità per selezionare il trattamento giusto per la paziente giusta, riducendo le tossicità inutili e massimizzando i benefici clinici. Solo attraverso una comprensione sempre più fine dell'eterogeneità tumorale e lo sviluppo di protocolli

personalizzati sarà possibile trasformare il carcinoma ovarico da una patologia acuta e letale a una condizione gestibile con una qualità di vita preservata per le pazienti.

8. BIBLIOGRAFIA

1. Vescarelli, E. *Regolazione di Neuropilina 1 mediata da miR-200c: una nuova strategia terapeutica nel carcinoma ovarico farmacosistente*. Tesi di dottorato. Sapienza Università di Roma; 2019.
2. International Agency for Research on Cancer (IARC). Cancer Today. <https://gco.iarc.who.int/today/>.
3. Reade, C. J. *et al.* The Fallopian Tube as the Origin of High Grade Serous Ovarian Cancer: Review of a Paradigm Shift. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* **36**, 133–140 (2014).
4. Whelan, E. *et al.* Risk Factors for Ovarian Cancer: An Umbrella Review of the Literature. *Cancers* **14**, 2708 (2022).
5. Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC). Tumore ovaie: Sintomi, prevenzione, cause, diagnosi. <https://www.airc.it/cancro/informazioni-tumori/guida-ai-tumori/tumore-delle-ovaie>.
6. Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM). LINEE GUIDA CARCINOMA DELL'OVAIO. <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2025-carcinoma-dellovaio/> (2025).
7. Mazzeo, F. *et al.* Neoadjuvant chemotherapy followed by surgery and adjuvant chemotherapy in patients with primarily unresectable, advanced-stage ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* **90**, 163–169 (2003).
8. Aravantinos, G. *et al.* Carboplatin and Paclitaxel versus Cisplatin, Paclitaxel and Doxorubicin for first-line chemotherapy of Advanced Ovarian Cancer: A Hellenic Cooperative Oncology Group (HeCOG) study. *Eur. J. Cancer* **44**, 2169–2177 (2008).
9. Chien, J., Kuang, R., Landen, C. & Shridhar, V. Platinum-Sensitive Recurrence in Ovarian Cancer: The Role of Tumor Microenvironment. *Front. Oncol.* **3**, 251 (2013).
10. Flynn, M. J. & Ledermann, J. A. Ovarian cancer recurrence: is the definition of platinum resistance modified by PARPi and other intervening treatments? The evolving landscape in the management of platinum-resistant ovarian cancer. *Cancer Drug Resist.* 424–435 (2022).
11. Havasi, A., Cainap, S. S., Havasi, A. T. & Cainap, C. Ovarian Cancer—Insights into Platinum Resistance and Overcoming It. *Medicina (Mex.)* **59**, 544 (2023).
12. Miras, I., Estévez-García, P. & Muñoz-Galván, S. Clinical and molecular features of platinum resistance in ovarian cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **201**, 104434 (2024).
13. McPherson, A. *et al.* Divergent modes of clonal spread and intraperitoneal mixing in high-grade serous ovarian cancer. *Nat. Genet.* **48**, 758–767 (2016).
14. Lheureux, S., Gourley, C., Vergote, I. & Oza, A. M. Epithelial ovarian cancer. *The Lancet* **393**, 1240–1253 (2019).
15. Galluzzi, L. *et al.* Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* **31**, 1869–1883 (2012).
16. Raza, M. & Manje Gowda, A. Platinum Hypersensitivity and Toxicity. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2026).
17. Talwar, V. & Rauthan, A. BRCA mutations: Implications of genetic testing in ovarian cancer. *Indian J. Cancer* **59**, S56–S67 (2022).
18. Homologous recombination deficiency | Target Ovarian Cancer. <https://targetovariancancer.org.uk/about-ovarian-cancer/genetic-genomic-testing/homologous-recombination-deficiency>.
19. Yang, L. *et al.* Molecular mechanisms of platinum-based chemotherapy resistance in ovarian cancer (Review). *Oncol. Rep.* **47**, 82 (2022).
20. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* **144**, 646–674 (2011).
21. De Visser, K. E. & Joyce, J. A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer Cell* **41**, 374–403 (2023).

22. Jiang, X. *et al.* The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* **39**, 204 (2020).
23. Le, B. V., Podsiywałow-Bartnicka, P., Piwocka, K. & Skorski, T. Pre-Existing and Acquired Resistance to PARP Inhibitor-Induced Synthetic Lethality. *Cancers* **14**, 5795 (2022).
24. O'Malley, D. M., Krivak, T. C., Kabil, N., Munley, J. & Moore, K. N. PARP inhibitors in Ovarian Cancer: A Review. *Target. Oncol.* **18**, 471–503 (2023).
25. DiSilvestro, P. *et al.* Overall Survival With Maintenance Olaparib at a 7-Year Follow-Up in Patients With Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer and a BRCA Mutation: The SOLO1/GOG 3004 Trial. *J. Clin. Oncol.* **41**, 609–617 (2023).
26. Pujade-Lauraine, E. *et al.* Maintenance olaparib rechallenge in patients with platinum-sensitive relapsed ovarian cancer previously treated with a PARP inhibitor (OReO/ENGOT-ov38): a phase IIIb trial. *Ann. Oncol.* **34**, 1152–1164 (2023).
27. Maiorano, B. A., Maiorano, M. F. P. & Maiello, E. Olaparib and advanced ovarian cancer: Summary of the past and looking into the future. *Front. Pharmacol.* **14**, 1162665 (2023).
28. New drug: Niraparib for ovarian cancer. *Aust. Prescr.* **44**, 208–209 (2021).
29. Monk, B. J. *et al.* Safety and management of niraparib monotherapy in ovarian cancer clinical trials. *Int. J. Gynecol. Cancer* **33**, 971–981 (2023).
30. Jin, N. *et al.* Niraparib restricts intraperitoneal metastases of ovarian cancer by eliciting CD36-dependent ferroptosis. *Redox Biol.* **80**, 103528 (2025).
31. Bruin, M. A. C., Sonke, G. S., Beijnen, J. H. & Huitema, A. D. R. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of PARP Inhibitors in Oncology. *Clin. Pharmacokinet.* **61**, 1649–1675 (2022).
32. Hennes, E. R., Dow-Hillgartner, E. N., Bergsbaken, J. J. & Piccolo, J. K. PARP-inhibitor potpourri: A comparative review of class safety, efficacy, and cost. *J. Oncol. Pharm. Pract.* **26**, 718–729 (2020).
33. Petousis, S. *et al.* PARP Inhibitor Maintenance After First-Line Chemotherapy in Advanced-Stage Epithelial Ovarian Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JAMA Netw. Open* **8**, e2541648 (2025).
34. The ASCO post. Cipriano, J. Advanced Epithelial Ovarian Cancer: First-Line PARP Inhibitor Maintenance Therapy and Survival. <https://ascopost.com/news/november-2025/advanced-epithelial-ovarian-cancer-first-line-parp-inhibitor-maintenance-therapy-and-survival/>. (2025).
35. Baradács, I. *et al.* PARP inhibitor era in ovarian cancer treatment: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Ovarian Res.* **17**, 53 (2024).
36. Chen, J. *et al.* Efficacy and Safety of PARP Inhibitor Therapy in Advanced Ovarian Cancer: A Systematic Review and Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Curr. Comput. Aided Drug Des.* **20**, 736–751 (2024).
37. Rippstein, N. *et al.* PARP inhibitors as maintenance therapy in ovarian cancer after platinum-sensitive recurrence: real-world experience from the Unicancer network. *The Oncologist* **30**, oyaf075 (2025).
38. Dong, R., Ding, T. & Li, Z. Update on poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors resistance in ovarian cancer. *Front. Pharmacol.* **14**, 1164395 (2023).
39. Siminiak, N., Czepczyński, R., Zaborowski, M. P. & Iżycki, D. Immunotherapy in Ovarian Cancer. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* **70**, 19 (2022).
40. Bronger, H. Immunology and Immune Checkpoint Inhibition in Ovarian Cancer – Current Aspects. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* **81**, 1128–1144 (2021).
41. Peng, Z., Li, M., Li, H. & Gao, Q. PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade in ovarian cancer: Dilemmas and opportunities. *Drug Discov. Today* **28**, 103666 (2023).

42. Zhao, Y., Liu, L. & Weng, L. Comparisons of Underlying Mechanisms, Clinical Efficacy and Safety Between Anti-PD-1 and Anti-PD-L1 Immunotherapy: The State-of-the-Art Review and Future Perspectives. *Front. Pharmacol.* **12**, 714483 (2021).
43. Hsu, C.-Y. *et al.* CTLA-4 blockade in ovarian cancer immunotherapy: Mechanisms and clinical strategies. *Semin. Oncol.* **52**, 152370 (2025).
44. Yoon, W.-H., DeFazio, A. & Kasherman, L. Immune checkpoint inhibitors in ovarian cancer: where do we go from here? *Cancer Drug Resist.* **6**, 358–377 (2023).
45. De Sousa Linhares, A. *et al.* Therapeutic PD-L1 antibodies are more effective than PD-1 antibodies in blocking PD-1/PD-L1 signaling. *Sci. Rep.* **9**, 11472 (2019).
46. Ghisoni, E. *et al.* Immunotherapy for ovarian cancer: towards a tailored immunophenotype-based approach. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **21**, 801–817 (2024).
47. System, M. S. H. Cancer vaccines enter a new era of personalized immunotherapy. *News-Medical* <https://www.news-medical.net/news/20260122/Cancer-vaccines-enter-a-new-era-of-personalized-immunotherapy.aspx> (2026).
48. Massariol Pimenta, T. *et al.* Emerging strategies to overcome ovarian cancer: advances in immunotherapy. *Front. Pharmacol.* **15**, 1490896 (2024).
49. Zhou, J., Zhang, L., Liu, S., DeRubeis, D. & Zhang, D. Toll-like receptors in breast cancer immunity and immunotherapy. *Front. Immunol.* **15**, 1418025 (2024).
50. Muccioli, M. & Benencia, F. Toll-like Receptors in Ovarian Cancer as Targets for Immunotherapies. *Front. Immunol.* **5**, 341 (2014).
51. Borella, F. *et al.* Oncolytic Viruses in Ovarian Cancer: Where Do We Stand? A Narrative Review. *Pathogens* **14**, 140 (2025).
52. Chen, J., Yang, L., Ma, Y. & Zhang, Y. Recent advances in understanding the immune microenvironment in ovarian cancer. *Front. Immunol.* **15**, 1412328 (2024).
53. Garlisi, B. *et al.* The Complex Tumor Microenvironment in Ovarian Cancer: Therapeutic Challenges and Opportunities. *Curr. Oncol.* **31**, 3826–3844 (2024).
54. Li, J. *et al.* Immunosuppressive mechanisms and therapeutic targeting of regulatory T cells in ovarian cancer. *Front. Immunol.* **16**, 1631226 (2025).
55. Alvarez Secord, A., O'Malley, D. M., Sood, A. K., Westin, S. N. & Liu, J. F. Rationale for combination PARP inhibitor and antiangiogenic treatment in advanced epithelial ovarian cancer: A review. *Gynecol. Oncol.* **162**, 482–495 (2021).
56. Harter, P. *et al.* Efficacy of subsequent therapies in patients with advanced ovarian cancer who relapse after first-line olaparib maintenance: results of the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Ann. Oncol.* **36**, 185–196 (2025).
57. Ray-Coquard, I. *et al.* Olaparib plus bevacizumab first-line maintenance in ovarian cancer: final overall survival results from the PAOLA-1/ENGOT-ov25 trial. *Ann. Oncol.* **34**, 681–692 (2023).
58. MITO Group. Studio MITO 25.1. <https://www.mito-group.it/studi/studio-mito-25/>.
59. Vida, R. *et al.* Immunotherapy with anti-PD-1 or PD-L1 in advanced ovarian cancer: A meta-analysis of randomized trials. *Cancer Treat. Rev.* **144**, 103094 (2026).
60. Chang, C.-W., Yang, S.-T., Wang, P.-H. & Lee, W.-L. Immunology and therapeutic strategies in ovarian cancer. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* **65**, 220–231 (2026).
61. Narayana, R. V. L. & Gupta, R. Exploring the therapeutic use and outcome of antibody-drug conjugates in ovarian cancer treatment. *Oncogene* **44**, 2343–2356 (2025).
62. Merck. Raludotatug Deruxtecán Granted Breakthrough Therapy Designation by U.S. FDA for Patients with CDH6 Expressing Platinum-Resistant Ovarian, Primary Peritoneal, or Fallopian Tube Cancers Previously Treated with Bevacizumab. <https://www.merck.com/news/raludotatug-deruxtecán-granted-breakthrough-therapy-designation-by-u-s-fda-for-patients-with-cdh6-expressing-platinum-resistant-ovarian-primary-peritoneal-or-fallopian-tube-cancers-previously-treat/>. (2025).

63. Secord, A. A. *et al.* A phase 3, open-label, randomized study of rinatabart sesutecan (Rina-S) vs investigator's choice (IC) of chemotherapy in patients with platinum-resistant ovarian cancer (PROC). *J. Clin. Oncol.* **43**(16_suppl), TPS5627 (2025).
64. James, R. L. *et al.* Development of an FR α Companion Diagnostic Immunohistochemical Assay for Mirvetuximab Soravtansine. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **148**, 1226–1233 (2024).
65. Dilawari, A. *et al.* FDA Approval Summary: Mirvetuximab Soravtansine-Gynx for FR α -Positive, Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *Clin. Cancer Res.* **29**, 3835–3840 (2023).
66. Guffanti, F., Mengoli, I. & Damia, G. Current HRD assays in ovarian cancer: differences, pitfalls, limitations, and novel approaches. *Front. Oncol.* **14**, 1405361 (2024).

RINGRAZIAMENTI

A Mamma e Papà,

i miei pilastri fondamentali.

Questo è stato un percorso lungo e impegnativo, fatto di ansie, momenti di sconforto, attimi di panico e tanti nervosismi. In tutto questo, il vostro sostegno è stato fondamentale e mi ha accompagnata in ogni passo.

So di non essere stata sempre facile da gestire: spesso le mie preoccupazioni, le mie paure e le mie frustrazioni finivano per ricadere su di voi. Eppure, non mi avete mai fatta sentire sola.

Avete sempre saputo comprendere i miei momenti di difficoltà, trasformandoli in occasioni di incoraggiamento, supporto e speranza.

Grazie perché, nonostante i miei continui dubbi e le tante volte in cui dicevo di voler mollare tutto, avete sempre creduto in me più di quanto riuscissi a fare io stessa. Mi ascoltavate, ma sapevate già che non mi sarei arresa, perché mi avete insegnato che quando ci si pone un obiettivo bisogna avere il coraggio e la determinazione di portarlo a termine, anche quando il percorso è più difficile del previsto.

Grazie per avermi sostenuta in ogni ostacolo, anche quando alcuni esami hanno richiesto una seconda, terza o persino quarta possibilità. Non avete mai smesso di incoraggiarmi e di ricordarmi che ero in grado di raggiungere questo importante traguardo.

Se oggi sono arrivata fin qui, è anche grazie a voi, alla vostra fiducia, alla vostra pazienza e all'amore con cui mi avete accompagnata lungo tutto il percorso.

Questo traguardo è anche vostro. Vi voglio bene

A Gaia,

grazie per essere stata una presenza costante nella mia vita e durante tutto questo percorso.

Anche quando le parole erano poche, ho sempre saputo di poter contare su di te.

Grazie per la tua premura e per la tua instancabile voglia di aiutarmi: nei momenti in cui mi vedevi mogia e demoralizzata, la tua disponibilità a ripetere con me anche le sbobine più infinite riusciva sempre a sollevarmi il morale e a farmi sentire meno sola.

Le nostre immancabili litigate da sorelle, ma anche la complicità, le risate e la certezza di averti sempre al mio fianco, sono state un punto di riferimento prezioso in questi anni.

Grazie per aver condiviso con me questo cammino, per aver creduto in me e per avermi sostenuta, spesso più di quanto tu possa immaginare.

A te, che sei molto più di una sorella, va il mio grazie più sincero. Ti voglio bene.

A Mio Nonno Ferdy,

Ovunque tu sia in questo momento, voglio che tu sappia che continui a essere la mia più grande fonte di ispirazione.

Anche se oggi non sei qui accanto a me, sono certa che saresti orgoglioso della persona che sono diventata e del percorso che mi ha portata a raggiungere questo traguardo.

Ogni volta che mi pongo un obiettivo, il mio pensiero corre a te.

Credo fermamente che la tenacia e la determinazione con cui porto a termine le mie sfide siano il riflesso di ciò che mi hai trasmesso.

Il tuo esempio continua a guidarmi ogni giorno e, in ogni mio successo, c'è sempre un po' di te.

Grazie per tutto ciò che mi hai insegnato, soprattutto a non mollare mai e, per il segno indelebile che mi hai lasciato nella mia vita. Ti abbraccio forte.

A Mia Nonna Maria,

La mia più preziosa sostenitrice, in ogni momento di questo percorso.

Sei stata al mio fianco quando gli esami andavano bene, ma soprattutto quando le cose non andavano come speravo.

Mi hai sempre incoraggiata a non mollare, ricordandomi che con impegno e determinazione sarei riuscita a raggiungere i miei obiettivi e che il nonno sarebbe stato orgoglioso di vedermi arrivare fin qui.

Le tue telefonate non sono mai mancate: una la sera prima di ogni esame, per darmi coraggio, e una subito dopo, per sapere come fosse andata.

Sapere di poter contare su di te è un sostegno immenso.

Voglio dirti un'ultima cosa: sei la nonna che tutti vorrebbero avere. Premurosa, altruista, sempre pronta ad ascoltare e capace di trovare le parole giuste nel momento giusto.

Il tuo affetto, la tua forza e la tua presenza sono stati un dono prezioso che porterò sempre con me. Ti voglio bene.

A Thomas,

Sei entrato nella mia vita come un fulmine a ciel sereno, in un momento particolarmente fragile, e sei riuscito a trasformarlo in qualcosa di bello.

In questi ultimi due anni del mio percorso, il tuo supporto è stato fondamentale.

Mi hai sempre incoraggiata a non mollare, ricordandomi che il traguardo era vicino anche quando sembrava ancora lontanissimo.

In te ho trovato una persona speciale: qualcuno che non solo mi ha sostenuta nel raggiungere questo importante traguardo, ma che è diventato un punto di riferimento nella mia quotidianità.

Giorno dopo giorno, passo dopo passo, stiamo costruendo qualcosa di bello, autentico e prezioso per entrambi.

Grazie per esserci, per aver creduto in me anche nei momenti in cui facevo più fatica a credere in me stessa, e per aver condiviso con me questo cammino.

A Francesca,

A te che mi hai vista affrontare questo percorso dal giorno zero, voglio dire semplicemente grazie.

Grazie perché, nonostante i cambiamenti e le strade diverse che la vita ci ha portato a percorrere, non hai mai smesso di esserci.

Ho sempre scelto di lottare per la nostra amicizia perché sei una persona speciale, un punto di riferimento importante e una presenza che spero di avere accanto per sempre.

Sei stata presente nei momenti belli e in quelli difficili, sempre pronta a sostenermi e a ricordarmi il mio valore quando ne avevo più bisogno.

La tua presenza nella mia vita l'ha arricchita profondamente e, in modo del tutto inaspettato, l'ha resa più bella.

Con te so di trovare sempre ascolto, sincerità e comprensione.

Grazie per esserci stata, per esserci e per tutto ciò che sei.

A Giorgia,

A te che mi hai incoraggiata, supportata e gioito con me per ogni piccolo e grande traguardo raggiunto lungo questo cammino.

Sei un uragano, una ragazza da fare invidia per la tua determinazione, tenacia e la voglia che hai di scoprire il mondo senza una fine.

Riesci sempre a farmi sentire la tua presenza: con un tuo messaggio, una tua chiamata o semplicemente con un pensiero al momento giusto. Sapere di poter contare su di te, sulla tua vicinanza e sul tuo affetto, è stato un dono prezioso lungo tutto questo percorso. Grazie per esserci sempre, in ogni modo possibile.

Grazie per avermi sempre incoraggiata e motivata per arrivare fino alla fine di questo lungo percorso. Sei speciale.

A Sophie,

sei stata una scoperta meravigliosa e inaspettata.

Grazie per avermi sostenuta in quest'ultimo anno, breve nel tempo ma intenso e ricco di esperienze, con una presenza costante e un supporto che hanno reso il nostro legame speciale, come se ci conoscessimo da sempre.

Grazie per aver condiviso con me un percorso importante, fatto di sport, amicizia, crescita reciproca e incoraggiamento continuo.

Grazie per aver creduto insieme a me in ciò che stavamo costruendo e per avermi spinto a dare sempre il meglio. Porterò tutto con me.

A Eleonora,

il mio tornado, capace di travolgere tutto con la sua energia, e che dopo ogni tempesta riesce sempre a riportare il sole.

Grazie per esserci stata sempre, soprattutto nei momenti più difficili, e per aver saputo strapparmi un sorriso anche quando sembrava impossibile.

La tua presenza, il tuo sostegno e la forza straordinaria che ti contraddistinguono sono stati per me un punto di riferimento prezioso.

Grazie per aver condiviso con me questo percorso con la tua autenticità, il tuo entusiasmo e la tua capacità di illuminare anche le giornate più complicate.

A Linda e Giulia,

Le mie compagne di avventure speciali.

Con voi sono cresciuta, ho condiviso momenti che hanno segnato la mia vita e costruito ricordi che porterò sempre con me. Abbiamo attraversato insieme stagioni, estati al mare, giornate di leggerezza e attimi di semplice felicità che, ancora oggi, custodisco tra le cose più belle.

Grazie perché, attraverso la vostra amicizia, ho imparato che spesso sono le cose più semplici ad avere il valore più grande: una risata condivisa, una presenza silenziosa, un abbraccio sincero. Doni preziosi che non ho mai dato per scontati.

Ci siamo vissute intensamente, a volte ci siamo allontanate, ma non ci siamo mai perse di vista. Ho sempre saputo di poter contare su di voi e di trovare, in qualsiasi momento, un porto sicuro in cui tornare.

Grazie per tutto ciò che mi avete insegnato e per aver sempre avuto una parola gentile, un incoraggiamento o una dimostrazione di affetto nei miei confronti. È qualcosa che ho sempre apprezzato e che porto nel cuore con grande gratitudine.

Grazie perché, nel vostro modo unico e speciale, avete fatto parte di questo percorso ancora prima che iniziasse e avete continuato a sostenermi fino a questo importante traguardo.

A voi, che siete una parte preziosa della mia storia, grazie di cuore.

A Sadia,

la mia unica e speciale compagna di università.

Costruire rapporti di amicizia durante questo percorso, come ben sai, non è stato semplice: persone di passaggio e legami poco sinceri. Con te, però, è stato diverso fin dal primo momento. Da quando sei arrivata al secondo anno, ho sentito subito una sintonia unica e ho trovato un'amica vera con cui condividere gioie, difficoltà e traguardi.

Grazie per avermi sempre sostenuta e incoraggiata, soprattutto nei momenti in cui dubitavo di me stesso. Spesso, prima di un esame, eri tu a credere nelle mie capacità più di quanto facessi io, e alla fine avevi sempre ragione.

Ti porterò sempre nel cuore e conserverò con affetto tutti i ricordi vissuti insieme. Spero che le nostre strade continuino a incrociarsi e che questo non sia un addio, ma solo l'inizio di una nuova fase delle nostre vite. Ti voglio bene.

A Francesco, Alessandro, Thomas, Giulia, Alessandra, Luca e Nico,

grazie perché, ognuno a modo proprio, mi siete stati accanto durante questo percorso.

Con il vostro sostegno, i vostri incoraggiamenti e la vostra presenza avete contribuito a rendere più leggeri anche i momenti più impegnativi. Esame dopo esame, avete saputo spronarmi a non perdere la motivazione e a continuare a credere nelle mie capacità.

Grazie per le parole giuste al momento giusto, per le risate, per la vicinanza e per aver condiviso con me una parte di questo cammino.

Anche se spesso non ve ne siete resi conto, il vostro supporto ha avuto un valore importante e mi ha accompagnata fino al raggiungimento di questo traguardo. Grazie.

A Dania, Alessia e Silvia,

le tre meravigliose persone che il periodo delle scuole superiori mi abbia lasciato.

Con il tempo ho capito quanto sia grande e sincero il bene che mi volete, ed è per questo che occupate un posto speciale nel mio cuore. Non sono mancati gli scontri, le incomprensioni e i momenti difficili, ma ciò che ha sempre contraddistinto il nostro legame è stata la capacità di ritrovarci, comprenderci e colmare ogni distanza.

Grazie per il supporto immenso che mi avete dato durante questo lungo percorso e per non avermi mai permesso di arrendermi. Nei momenti di dubbio o fatica siete state una presenza costante e capaci di incoraggiarmi.

Fin dai tempi della quinta superiore avete creduto in me, forse anche più di quanto facessi io stessa. Oggi sono qui per dirvi che ce l'ho fatta, e una piccola parte di questo traguardo appartiene a voi.

Grazie per esserci sempre state e per la vostra amicizia.