



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

**Studio osservazionale retrospettivo real-world
monocentrico sull'impiego di Trastuzumab Deruxtecan
nel carcinoma mammario in stadio avanzato**

-

**Monocenter real-world retrospective observational
study on the use of Trastuzumab Deruxtecan in
Advanced Breast Cancer**

Relatore: Chiar.ma

Prof.ssa Rossana Berardi

Tesi di Laurea di:

Christian Martinelli

Correlatore: Chiar.mo

Dott. Mirco Pistelli

A.A. 2025/2026

Indice

RIASSUNTO	1
1. ANATOMIA DELLA MAMMELLA	2
1.1 Cenni di anatomia macroscopica e microscopica.....	2
1.2 Vascolarizzazione	3
1.3 Innervazione	3
2. CARCINOMA MAMMARIO	4
2.1 Epidemiologia	4
2.2 Fattori di rischio	5
2.3 Screening	6
2.4 Diagnosi.....	7
2.5 Classificazione istologica	9
2.6 Classificazione biomolecolare.....	12
2.7 Classificazione secondo il TNM	16
2.8 Fattori prognostici e predittivi.....	21
2.9 Trattamento.....	23
2.9.1 Trattamento del carcinoma mammario in stadio precoce	24
2.9.2 Trattamento del carcinoma mammario in stadio avanzato	27
3. ANTICORPI-FARMACO CONIUGATI.....	31
3.1 Introduzione.....	31
3.2 Struttura	31
3.3 Antigeni specifici.....	37
3.4 Meccanismo d'azione.....	38
3.5 Generazioni	39

3.6 Trastuzumab Deruxtecan	41
3.6.1 Generalità.....	41
3.6.2 Farmacocinetica	42
3.6.3 Farmacodinamica.....	43
3.6.4 Studi DESTINY-Breast.....	44
3.6.5 Indicazioni	51
3.6.6 Effetti indesiderati.....	51
3.7 Altri ADC	52
4. CARATTERISTICHE DELLO STUDIO	57
4.1 Obiettivi.....	57
4.2 Pazienti e metodi	57
5. RISULTATI	59
5.1 Analisi generale delle pazienti esaminate.....	59
5.2 Sottoanalisi delle pazienti HER2+	67
5.3 Sottoanalisi delle pazienti HER2-low	75
5.4 Confronto di PFS e OS tra pazienti HER2+ e HER2-low.....	84
6. DISCUSSIONE.....	86
7. CONCLUSIONI.....	91
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	92

RIASSUNTO

Il carcinoma mammario rappresenta la neoplasia maligna a più alta incidenza nel mondo e la prima per mortalità nel sesso femminile. Storicamente, è stato suddiviso in quattro classi molecolari – *Luminal A*, *Luminal B*, *HER2-enriched*, *Basal-like* – secondo i livelli di espressione dei recettori degli estrogeni (ER) e del progesterone (PgR), dell'espressione della proteina HER2 e di Ki67. Dal 2022 è stata introdotta una nuova classe, denominata *HER2-low*, grazie ai risultati mostrati dallo studio DESTINY-Breast04 sull'efficacia di Trastuzumab Deruxtecan anche in neoplasie valutate all'immunoistochimica come HER2 1+ o HER2 2+ con FISH non amplificata. Trastuzumab Deruxtecan è solo uno dei molteplici farmaci che fanno parte della categoria degli ADC (*Antibody-Drug Conjugates*), farmaci i cui gli effetti antineoplastici sono associati sia all'anticorpo monoclonale che al citotossico che ne formano la struttura molecolare.

Il presente studio, dal disegno retrospettivo, ha avuto come obiettivo quello di valutare nella reale pratica clinica l'efficacia e la *safety* di Trastuzumab Deruxtecan in pazienti con carcinoma mammario HER2+ o *HER2-low* in stadio avanzato. Gli *endpoint* primari sono stati la *Best Response* (BR), la *Progression Free Survival* (PFS), l'*Overall Survival* (OS) e la *safety* relative a Trastuzumab Deruxtecan. Sono stati inclusi 45 pazienti, di sesso femminile, che presentavano una età mediana di 51.0 anni (*range* 29.0 – 72.0 anni). Il *follow up* mediano è pari a 99.8 mesi (*range* 12.5 – 403.5 mesi). L'analisi ha dimostrato chiaramente che lo stato di HER2 e la BR sono parametri fondamentali nella determinazione della PFS, dato che induce a pensare che gli stessi potrebbero influenzare anche l'OS – per cui non è stata però riscontrata una differenza statisticamente significativa. Sugli effetti indesiderati, sostanzialmente sono emersi gli stessi risultati mostrati dai maggiori studi DESTINY-Breast, ad eccezione di alopecia e ILD, la cui incidenza nel presente studio si è rivelata inferiore. Da qui la necessità di proseguire lo studio anche negli anni a venire, così da ampliare la casistica e, oltre che confermare quanto già documentato, scoprire nuove correlazioni tra Trastuzumab Deruxtecan e i parametri riferiti a paziente, malattia o altri trattamenti.

1. ANATOMIA DELLA MAMMELLA

1.1 Cenni di anatomia macroscopica e microscopica

La mammella è un rilievo cutaneo pari e simmetrico posto a livello della parete anteriore del torace, ai lati della linea mediana. Nella donna, occupa generalmente lo spazio tra la terza e la settima costa e si estende lungo la cosiddetta “cresta lattea”, linea immaginaria che collega ascella e tubercolo pubico. Nell’uomo, invece, occupa il quarto spazio intercostale e si estende lungo la linea emiclaveare. All’apice, la mammella presenta un’area rotondeggiante pigmentata, detta “areola”, al centro della quale si stacca una struttura tipicamente cilindrica, detta “capezzolo”. Tra le due mammelle si individua il seno, solco più o meno ampio che corrisponde al corpo del sottostante sterno. Incidendo la cute si arriva al parenchima mammario, costituito da grasso e tessuto ghiandolare [1]. Nell’ambito dell’anatomia microscopica della mammella, è opportuno distinguere le tre diverse tipologie di tessuto che la costituiscono: cute, tessuto sottocutaneo e ghiandola mammaria. Di questi, l’ultima è la componente effettivamente più interessante e caratteristica. Nel suo insieme, la ghiandola mammaria è costituita da un sistema di lobi e dotti e viene considerata una ghiandola tubulo-acinosa composta. La ghiandola mammaria è costituita da 15-20 lobi, ognuno suddiviso in lobuli, che a loro volta presentano gli alveoli, corrispondenti alle unità secernenti ghiandolari. La parete di ciascun alveolo è delimitato da una membrana basale, che racchiude cellule mioepiteliali e cellule secernenti. Le prime si trovano a diretto contatto con la membrana basale e, attraverso l’azione contrattile, spremono le cellule secernenti, favorendo l’eiezione del latte durante l’allattamento. Le seconde, invece, tappezzano la parete interna degli alveoli, sono circondate dallo strato mioepiteliale e hanno azione secretoria, producendo il latte materno. Oltre che da un sistema lobare, la ghiandola mammaria è costituita da un sistema duttale, che fa capo al lobare e attraverso cui passa il secreto delle cellule ghiandolari. In particolare, ad un gruppo di alveoli corrisponde un dotto alveolare, che si unisce con altri dotti alveolari a formare un dotto intralobulare, che fuoriesce dal lobulo di appartenenza e “cambia” quindi nome in dotto extralobulare, che si unisce con altri dotti extralobulari a formare un dotto galattoforo, che raccoglie dunque il secreto di tutte le cellule ghiandolari che costituiscono il relativo lobo. Per finire, il dotto galattoforo si dilata nel seno

galattoforo a livello del capezzolo, sboccando poi a livello dell'apice. L'insieme di dotto intralobulare e relativo lobulo prende il nome di "unità terminale duttulo-lobulare", che può essere considerata come l'unità morfofunzionale della ghiandola mammaria. Da un punto di vista istologico, la parete dei dotti galattofori è costituita da epitelio pavimentoso composto non cheratinizzato, che diventa cubico semplice nel contesto dei dotti alveolari [1-3].

1.2 Vascolarizzazione

La mammella presenta una vascolarizzazione sia superficiale, destinata alla cute, che profonda, destinata al tessuto sottocutaneo e ghiandolare. La vascolarizzazione arteriosa è garantita principalmente da rami collaterali dell'arteria ascellare e dell'arteria toracica interna. In particolare, dall'arteria ascellare originano i rami toracoacromiale e toracico laterale, responsabili dell'irrorazione dei quadranti superiori e laterali della ghiandola mammaria. L'arteria toracica interna contribuisce, invece, mediante rami perforanti mediali, deputati alla vascolarizzazione della porzione mediale della mammella. Infine, sono da considerare anche rami delle arterie intercostali posteriori, che vascolarizzano la regione profonda. Le vene superficiali della mammella si raccolgono a formare una fitta rete sottocutanea, che dall'areola drena superiormente verso la vena giugulare esterna, inferiormente verso la vena epigastrica superficiale, medialmente verso la vena toracica interna e lateralmente verso la vena toracica laterale. Le vene profonde, invece, drenano verso le vene intercostali posteriori [1]. Riguardo i vasi linfatici, invece, questi decorrono prima lungo i setti interlobulari, costituendo una complessa rete linfatica a maglie larghe, per poi raccogliersi verso i vasi linfatici mediali, laterali e retromammari. I primi drenano ai linfonodi parasternali, gli altri ai linfonodi ascellari. Nel contesto del drenaggio linfatico della mammella, sono importanti da ricordare anche i linfonodi infraclaveari e sovraclaveari [1].

1.3 Innervazione

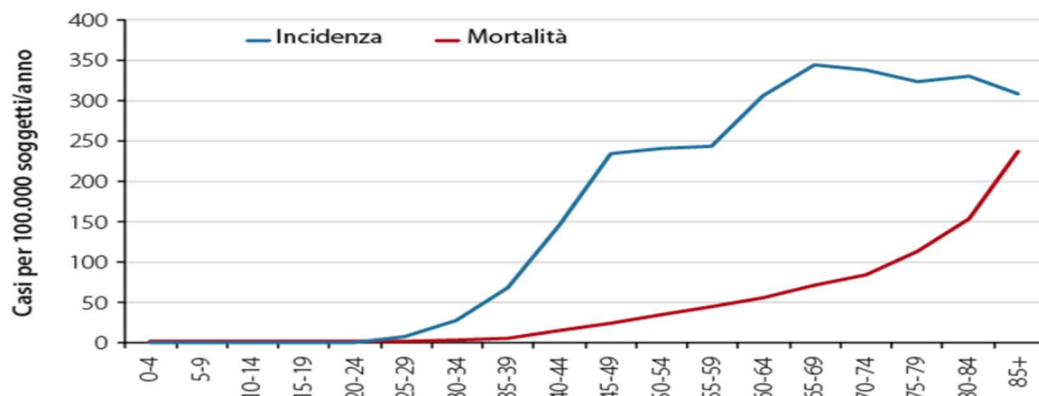
I nervi sensitivi della mammella, provenienti dal secondo al sesto nervo intercostale, formano numerose terminazioni soprattutto nel contesto della cute, mentre le strutture parenchimali sono innervate da fibre autonome di pertinenza dei gangli toracici del sistema simpatico [1].

2. CARCINOMA MAMMARIO

2.1 Epidemiologia

Il carcinoma mammario rappresenta la neoplasia maligna con maggior incidenza e mortalità nella donna, attestandosi come principale causa di morte nelle donne tra i 35 e 55 anni. In rapporto all'età, si possono riconoscere due picchi di incidenza: il primo intorno ai 45-50 anni, a cui segue una fase di *plateau* fino al *post-menopausa*, quando si riscontra una nuova impennata [5], come mostrato in Figura 1. È importante sottolineare infatti come il carcinoma mammario sia non solo la neoplasia maligna complessivamente più frequente nella donna, ma anche la più frequentemente diagnosticata in tutte le fasce d'età (0-49 anni: 41%, 50-69 anni: 35%, > 70 anni: 22%) [4]. Nell'uomo i dati epidemiologici sono invece ben diversi: il tumore della mammella maschile rappresenta appena lo 0.2% di tutte le neoplasie del sesso maschile e l'1% di tutte le neoplasie mammarie [4]. In Italia sono stati stimati circa 53.686 nuovi casi nel 2024 (di cui 53.065 donne e 621 uomini), con circa 15.500 decessi nel 2022 e in totale circa 1.000.000 di donne che hanno avuto diagnosi di tumore della mammella. Sebbene il *trend* di incidenza sia in leggero aumento, quello di mortalità è in costante diminuzione, grazie ai programmi di *screening* e alle innovazioni terapeutiche. La sopravvivenza netta a 5 anni è pari all'88%, la sopravvivenza condizionata ad 1 anno è del 91% [6]. Anche nella regione Marche il tumore della mammella rappresenta la neoplasia più frequentemente diagnosticata nel sesso femminile, con 7084 nuovi casi registrati nel quinquennio 2017-2021, ma comunque una tra quelle a più elevata sopravvivenza a 5 anni, che si attesta al 93% nella donna e all'83% nell'uomo [7].

Figura 1 – Incidenza e mortalità riferite al carcinoma mammario



2.2 Fattori di rischio

I fattori di rischio principali per il carcinoma mammario sono rappresentati da: sesso, età, fattori riproduttivi, fattori ormonali, fattori metabolici (obesità, sindrome metabolica), dieta (elevato consumo di alcool e grassi animali, basso consumo di fibre), pregressa radioterapia a livello toracico, precedenti displasie o neoplasie mammarie, familiarità ed ereditarietà [4]. In particolare, viene da sé come il sesso femminile rappresenti il fattore che più di tutti influisce sul rischio di sviluppare un tumore mammario, con un rapporto approssimativo M:F = 1:100 [8]. Ciò è ovvio anche per l'età, come già riportato sopra tra i dati epidemiologici. Per quanto riguarda i fattori riproduttivi e ormonali, invece, entrambi trovano spiegazione in quella che si può definire una “lunga esposizione ad estrogeni”, soprattutto quando questa esposizione è relativa ad elevati livelli ormonali. Tra i primi sono compresi menarca precoce, menopausa tardiva, nulliparità, prima gravidanza a termine dopo i 30 anni e mancato allattamento al seno, mentre tra i secondi si hanno terapia ormonale sostitutiva e assunzione di contraccettivi orali (in entrambi i casi quando l'uso è prolungato per anni) [9]. Per ultimo, è essenziale considerare la predisposizione genetica come fattore di rischio del carcinoma mammario, fattore che si esprime attraverso l'aggregazione familiare e l'ereditarietà vera e propria. Quest'ultima, in particolare, si esprime attraverso mutazioni geniche germinali che non determinano con certezza lo sviluppo di una neoplasia, ma ne aumenta il rischio negli anni. I due principali geni coinvolti sono gli oncosoppressori BRCA1 e BRCA2, che rispettivamente aumentano il rischio cumulativo medio a 80 anni di tumore mammario del 72% e del 69% e configurano la cosiddetta “Sindrome del Carcinoma Mammario e Ovarico Ereditario” (HBOC). In entrambi i casi si avrà infatti anche aumentato rischio di carcinoma ovarico, oltre che di altre neoplasie (es. carcinoma prostatico e carcinoma pancreatico) [9] [10]. Sebbene sia vero che questi due geni siano quelli principalmente coinvolti nell'ereditarietà del carcinoma mammario, altri da tenere in considerazione sono sicuramente PALB2, CHEK2, BARD1, ATM, RAD51C, RAD51D e p53 [11], come anche PTEN e STK11/LKB [4]. Complessivamente, i casi di carcinoma mammario su base eredo-familiare si attestano intorno al 10-15% del totale [10].

2.3 Screening

Lo *screening* è uno strumento di prevenzione secondaria che ha lo scopo di “identificare persone all’interno di una popolazione apparentemente sana che sono a più alto rischio di problemi di salute o di una condizione, così da poter offrire un trattamento o intervento precoce in modo da ridurre l’incidenza e/o la mortalità del problema di salute o condizione entro la popolazione” [12]. Nell’ambito dello *screening* per il carcinoma mammario, è necessario distinguerne di due tipologie: *screening* nella popolazione generale e *screening* nelle donne ad alto rischio [4].

Le linee guida più recenti per lo *screening* nella popolazione generale sono quelle della *European Commission Initiative on Breast Cancer* (ECIBC) [13], che raccomanda innanzitutto l’utilizzo del modello di *screening* “organizzato” piuttosto che quello “spontaneo-opportunistico”. In particolare, in Italia è prevista di base l’esecuzione di una mammografia ogni 2 anni nelle donne tra 50-69 anni, con alcune regioni che hanno esteso l’inizio a 45 anni e/o il termine a 74 anni [13] [14]. Nelle Marche, il programma di *screening* è attivo dal 2001 e ad oggi è esteso alla fascia 45-74 anni [15]. In generale, se alla mammografia vengono riscontrate lesioni sospette si procede con esami di secondo livello, quale un’ecografia mammaria durante visita senologica. Se anche questa conferma la lesione, si procede con biopsia incisionale mediante *core needle biopsy* (o *vacuum assisted biopsy*, per microcalcificazioni rilevate alla mammografia), con successiva analisi istologica da parte del servizio di Anatomia Patologica [14] [16]. Nonostante l’accuratezza della mammografia, la donna dovrebbe essere correttamente informata circa la possibilità di andare incontro ad un risultato falsamente positivo (con rischio di sovradiagnosi e *overtreatment*) o negativo [17] [18].

Lo *screening* nelle donne ad alto rischio, invece, presenta delle evidenti ed ovvie differenze. Innanzitutto, è necessario definire chi sono le donne ad alto rischio: sindrome del carcinoma mammario e ovarico ereditario, sindrome di Li-Fraumeni, sindrome di Cowden, sindrome di Bannayan-Riley-Ruvacalba, pregressa radioterapia toracica tra i 10-30 anni e rischio *lifetime* del 20-25% secondo i comuni modelli di predizione del rischio (modelli di Gail e Tyrer-Cuzyck di predizione del rischio di carcinoma mammario) [19-21]. Visto l’aumentato rischio rispetto alla

popolazione generale, in queste donne lo *screening* inizia a 25 anni o 10 anni prima dell'età di insorgenza del tumore nel familiare più giovane e prevede l'esecuzione di una risonanza magnetica all'anno, a cui tipicamente si associa un'ecografia mammaria annuale, le due intervallate da 6 mesi (sebbene quest'ultima non abbia mostrato benefici in termini di diagnosi precoce) [22] [23].

2.4 Diagnosi

La diagnosi di carcinoma mammario viene posta essenzialmente attraverso due possibili vie: riscontro palpatorio di un nodulo mammario o *screening*. Quando ci si trova davanti al riscontro occasionale di un nodulo durante la palpazione della mammella – che può essere effettuata sia da un medico che dalla paziente stessa – appare indispensabile eseguire un approfondimento diagnostico con visita senologica ed ecografia mammaria che, se identifica una lesione con caratteristiche di malignità, indica alla biopsia. Sarà dunque l'analisi istologica a confermare o meno la diagnosi di carcinoma mammario. Se confermata, la neoplasia viene studiata rispetto ad alcuni parametri fondamentali, quali istotipo, *grading*, recettori ormonali, HER2 e Ki67 [9]. Nel caso in cui si sospetti di una malattia metastatica all'esordio, la biopsia può essere effettuata sia sulla lesione primitiva (se identificabile), che sulle localizzazioni secondarie. Analogamente nel caso in cui, durante il *follow up* per malattia esordita in stadio precoce, si sospetti una recidiva a distanza: spesso viene indicata direttamente la biopsia sulla metastasi, così da confermare il dubbio diagnostico e re-caratterizzare la neoplasia da un punto di vista biologico. Si ricordi infatti che, a fronte di ogni recidiva o progressione, locale o a distanza che sia, è fondamentale la re-tipizzazione della malattia, che grazie all'accumulo di nuove mutazioni può variare il profilo di espressione biomolecolare. Ciò potrebbe implicare lo *switch* da un tipo di terapia ad un altro (es. una neoplasia ormono-sensibile che diventa ormono-resistente non potrà più beneficiare della terapia endocrina) [24].

Dopo la conferma diagnostica e prima dell'avvio del trattamento, nelle pazienti già sottoposte a chirurgia è indicata una valutazione clinico-laboratoristica comprendente esame obiettivo, emocromo e profilo biochimico completo,

finalizzata alla verifica dell'idoneità terapeutica e all'identificazione di eventuali comorbidità [4].

Gli esami di stadiazione hanno invece lo scopo di definire l'estensione locoregionale e sistemica della malattia. Nelle pazienti asintomatiche con sospetto carcinoma mammario in stadio precoce (I–II), l'esecuzione *routinaria* di indagini di *imaging* sistemico può essere omessa, sebbene nella pratica clinica vengano frequentemente richiesti RX del torace, ecografia epatica, scintigrafia ossea e dosaggio dei marcatori tumorali CEA e CA 15.3. Nei casi di sospetta malattia avanzata (III–IV), sono invece generalmente indicati TC torace-addome, scintigrafia ossea e valutazione dei marcatori tumorali [25-27]. Il sospetto clinico di malattia avanzata si basa prevalentemente su parametri anamnestici e obiettivi, quali sintomatologia sistemica e coinvolgimento linfonodale ascellare, mentre la definizione dello stadio viene confermata dagli esami strumentali.

Le principali sedi metastatiche del carcinoma mammario sono rappresentate da osso, polmone e fegato. Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è meno frequente e raramente costituisce la prima sede di metastatizzazione [28] [29]. L'indicazione all'*imaging* cerebrale è riservata a pazienti sintomatiche o con sottotipi biologici a maggiore rischio di metastasi encefaliche, in particolare *HER2-enriched* e *Basal-like*. In tali circostanze, la RM encefalica rappresenta la metodica diagnostica di riferimento, eventualmente integrata nell'ambito di una *TC total body* [29].

La PET-TC con FDG trova indicazione soprattutto nei casi dubbi o nelle recidive, grazie all'elevata accuratezza diagnostica nella rilevazione di metastasi ossee e viscerali, con limitata sensibilità a livello encefalico [30] [31]. In presenza di sospetto coinvolgimento vertebrale o compressione midollare, è indicata l'esecuzione di RM del rachide per la valutazione dell'interessamento midollare e la pianificazione di eventuali trattamenti loco-regionali chirurgici o radioterapici [32] [33].

2.5 Classificazione istologica

Nell'ambito dei tumori della mammella, secondo la classificazione istologica del WHO 2019 si distinguono tumori epiteliali, tumori fibroepiteliali e amartomi, tumori del capezzolo, tumori mesenchimali, tumori emolinfopoietici, tumori della mammella maschile, tumori metastatici e sindromi genetiche tumorali [34], come mostrato nella Tabella 1.

I tumori epiteliali della mammella rappresentano il gruppo più consistente di neoplasie mammarie. Tra gli istotipi più frequenti, si ricordi innanzitutto il carcinoma infiltrante di istotipo non speciale (NST), comunemente noto come “carcinoma duttale”, che rappresenta da solo il 70-80% dei tumori invasivi della mammella ed è definito “di istotipo non speciale” (*Non-Special Type* – NST) in quanto non presenta caratteristiche sufficienti per poterlo classificare come istotipo speciale (es. carcinoma lobulare, carcinoma tubulare, carcinoma cribriforme) [4].

Tabella 1 – Classificazione istologica dei tumori mammari secondo WHO 2019

TUMORI EPITELIALI
Carcinoma mammario infiltrante
TUMORI EPITELIALI DELLA MAMMELLA
Carcinoma infiltrante di istotipo non speciale (NST) / Carcinoma duttale infiltrante NAS
Carcinoma lobulare
Carcinoma tubulare
Carcinoma cribriforme
Carcinoma mucinoso
Cistoadenocarcinoma mucinoso
Carcinoma infiltrante micropapillare
Adenocarcinoma apocrino
Carcinoma metaplastico

Tumori rari del tipo ghiandole salivari

Carcinoma a cellule aciniche

Carcinoma adenoideo cistico

Carcinoma secretorio

Carcinoma mucoepidermoide

Adenocarcinoma polimorfo

Carcinoma a cellule alte con polarità invertita

Neoplasie neuroendocrine

Tumore neuroendocrino

Carcinoma neuroendocrino

Proliferazioni epiteliali benigne e precursori

Iperplasia duttale usuale

Lesioni a cellule colonnari

Iperplasia duttale atipica

Adenosi e lesioni sclerosanti benigne

Adenosi sclerosante

Adenoma apocrino

Adenosi microghiandolare

Cicatrice radiale / lesione sclerosante complessa

Adenomi

Adenoma tubulare NAS

Adenoma lattazionale

Adenoma duttale NAS

Tumori epiteliali-mioepiteliali

Adenoma pleomorfo

Adenomioepitelioma NAS

Adenomioepitelioma con carcinoma

Carcinoma epiteliale-mioepiteliale

Neoplasie papillari

Papilloma intraduttale

Carcinoma duttale in situ

Carcinoma papillare incapsulato

Carcinoma papillare incapsulato con invasione

Carcinoma solido-papillare in situ

Carcinoma solido-papillare con invasione

Adenocarcinoma intraduttale papillare con invasione

Neoplasia lobulare non invasiva

Iperplasia lobulare atipica

Carcinoma lobulare in situ NAS

Carcinoma lobulare in situ classico

Carcinoma lobulare in situ florido

Carcinoma lobulare in situ pleomorfo

Carcinoma duttale in situ (CDIS)

Carcinoma intraduttale, non-infiltrante, NAS, CDIS di basso grado

CDIS di grado nucleare intermedio

CDIS di alto grado nucleare

TUMORI FIBROEPITELIALI E AMARTOMI DELLA MAMMELLA

Amartoma

Fibroadenoma

Tumore filloide

TUMORI DEL CAPEZZOLO

Adenoma del capezzolo

Tumore siringomatoso

Malattia di Paget del capezzolo

TUMORI MESENCHIMALI DELLA MAMMELLA

Tumori vascolari

Tumori fibroblastici e miofibroblastici

Tumori dei nervi periferici

Tumori del muscolo liscio

Tumori del tessuto adiposo

Altri tumori mesenchimali e condizioni simil-tumorali

TUMORI EMOLINFOPOIETICI DELLA MAMMELLA

Linfomi

TUMORI DELLA MAMMELLA MASCHILE

Carcinoma invasivo

Carcinoma in situ

TUMORI METASTATICI

SINDROMI GENETICHE TUMORALI

2.6 Classificazione biomolecolare

Vista l'eterogeneità del carcinoma mammario in termini di aggressività, risposta alle terapie e prognosi, si è ritenuto necessario affiancare alla classificazione istologica un'ulteriore classificazione, basata sulla biologia molecolare del tumore, ossia sul grado di espressione di alcuni geni specifici [4]. Dall'analisi di 496 geni mediante la metodica del *microarray* sono stati dunque individuati quattro sottotipi di carcinoma invasivo: “*Luminal A*”, “*Luminal B*”, “*HER2-enriched*” e “*Basal-like*” [35-37]. Ad oggi, per suddividere la neoplasia in una di queste categorie, lo studio del profilo biomolecolare prevede l'analisi dell'espressione dei recettori ormonali (recettore degli estrogeni – ER – e recettore del progesterone – PgR –), HER2 e l'indice di proliferazione Ki67 [38-40], come mostrato nella Tabella 2.

Tabella 2 – Caratteristiche immunofenotipiche e relativa terapia dei principali sottogruppi fenotipici di carcinoma mammario

Gruppo immunofenotipico		Caratteristiche immunofenotipiche	Terapia
Luminal A		ER e/o PgR+ HER2– Ki67 basso (< 14%)	OT
Luminal B	HER2–	ER e/o PgR+ Ki67 medio-alto	OT ± CHT
	HER2+	ER e/o PgR+ Qualsiasi Ki67	OT + CHT + Trastuzumab
HER2-enriched		ER e PgR– HER2+	CHT + Trastuzumab
Basal-like		ER e/o PgR– HER2–	CHT

Lo studio della positività per i recettori ormonali ER e PgR viene effettuato attraverso immunoistochimica [38] [39]. Prima di descrivere il funzionamento dei suddetti recettori, vale la pena soffermarsi brevemente sul significato biologico degli stessi e dei relativi ligandi, estrogeni e progesterone – che agiscono a livello sia genitale che extragenitale, rivestendo un ruolo centrale soprattutto nella donna. Tra le azioni principali, gli estrogeni concorrono alla maturazione dell'intero sistema genitale femminile, sviluppo dei caratteri sessuali secondari, sostenimento della libido e della psiche e stimolazione del metabolismo energetico. Sulla mammella, in particolare, gli estrogeni determinano la proliferazione e ramificazione dei dotti ghiandolari, aumento della massa adiposa, pigmentazione del sistema areola-capezzolo e aumento della sensibilità tissutale al progesterone. Per quanto riguarda il progesterone, in generale si può dire che anch'esso agisca a livello sia genitale che extragenitale. Tra le azioni più salienti, si ricordi come questo ormone sia attivamente implicato nell'inizio e mantenimento della gravidanza, con processi come stimolazione all'ipertrofia e iperplasia endometriale e all'attività secretoria delle ghiandole endometriali. A livello mammario, invece,

stimola la proliferazione dei lobuli ghiandolari. Sia che si parli di estrogeni che di progesterone, comunque, al fine di esplicitare tutte le azioni sopra riportate questi ormoni devono legarsi a specifici recettori, che prendono il nome di recettore degli estrogeni (ER) e recettore del progesterone (PgR). Entrambi corrispondono effettivamente a fattori di trascrizione attivati da ormoni e fanno parte della superfamiglia dei recettori nucleari [41] [42]. Tornando allo studio dei recettori ormonali, attraverso appunto l'immunoistochimica il patologo va a quantificare sottoforma di percentuale (1-100%) l'espressione di questi elementi da parte delle cellule tumorali, dove tale percentuale sta ad indicare quante cellule neoplastiche esprimono i recettori ormonali. In particolare, l'ormono-sensibilità di una neoplasia mammaria è definita per una percentuale di cellule esprimenti i recettori ormonali superiore al 10%. In questo caso, si indica alla possibilità di trattamento con terapia endocrina [43], che sfrutta farmaci facenti parte della categoria dei SERMs (*Selective Estrogen Receptor Modulator* – Tamoxifene), SERDs (*Selective Estrogen Receptor Degradar* – Fulvestrant) e inibitori dell'aromatasi (Anastrozolo, Letrozolo, Exemestane), oltre ad eventuali LH-RH-analoghi (Leuporelina, Triptorelina, Goserelin) nella donna in *pre-menopausa* [44].

Passiamo ora ad un altro marcatore biomolecolare fondamentale nel carcinoma mammario, HER2/neu (o semplicemente HER2), appartenente alla superfamiglia dei recettori tirosin-chinasici e in particolare alla famiglia dei recettori EGFR. In quanto recettori tirosin-chinasici, gli EGFR vanno ad attivare *pathway* molecolari coinvolti in processi di proliferazione, differenziamento e sopravvivenza cellulare. Tra le vie di segnalazione più importanti si ricordino la via delle MAP chinasi, della fosfolipasi C e di PI3K-AKT-mTOR che, se costitutivamente attive (come nelle cellule tumorali), determinano un enorme vantaggio proliferativo per la cellula. Da qui l'importanza dello studio della positività del recettore HER2 nel carcinoma mammario [42] [45]. Questo, come per i recettori ormonali, viene effettuato innanzitutto attraverso immunoistochimica, che restituisce quattro possibili esiti: HER2 0, 1+, 2+ e 3+. HER2 0 viene considerato effettivamente come HER2 negativo, mentre HER2 3+ come HER2 positivo. Per quanto riguarda gli altri due, invece, è necessario fare una distinzione tra il vecchio e nuovo sistema di interpretazione del risultato. Partendo da HER2 1+, secondo le vecchie indicazioni

questo equivaleva ad un HER2 negativo, mentre ad oggi fa parte di un nuovo gruppo biomolecolare definito “HER2-low”, a cui si affianca addirittura un “HER2-ultralow” (corrispondente ad un HER2 compreso tra 0 e 1+). Il discorso si fa più complesso per HER2 2+, che ancora oggi viene inizialmente interpretato come “ambiguo”, motivo per cui viene indicato un esame di approfondimento diagnostico – “FISH” (*Fluorescence In Situ Hybridization*) – attraverso cui viene effettuata l’analisi di eventuali amplificazioni di ErbB2 (gene per HER2), che definirebbero una FISH positiva [46]. A questo punto, si possono trarre conclusioni definitive circa lo stato di HER2: una neoplasia HER2 2+ con FISH positiva viene considerata effettivamente HER2 positiva, mentre se la FISH fosse negativa viene considerata ad oggi HER2-low (fino al 2022 HER2 negativa) [47-49] [116]. L’importanza dello studio di HER2 non sta però solo nella possibilità di caratterizzazione della neoplasia in sé, ma anche nella possibilità di trattamento con specifici farmaci a bersaglio molecolare. Tra questi distinguiamo anticorpi monoclonali, quali Trastuzumab, Pertuzumab e i più recenti Trastuzumab Emtansine e Trastuzumab Deruxtecan, e inibitori tirosin-chinasici, quali Lapatinib e Tucatinib. Tutti questi sono indicati quindi solo nelle neoplasie HER2+ [44]. Per il nuovo gruppo di neoplasie HER2-low, invece, l’unico farmaco anti-HER2 ad oggi disponibile è Trastuzumab Deruxtecan [50].

Per finire, anche lo studio del Ki67 viene effettuato attraverso immunoistochimica, che ne va dunque a quantificare i livelli all’interno delle cellule tumorali. In particolare, Ki67 è una proteina nucleare espressa esclusivamente negli elementi cellulari in attiva proliferazione, per cui viene da sé che elevati livelli di Ki67 nel tessuto neoplastico depongono a favore per una neoplasia altamente aggressiva. Il *cutoff* ad oggi considerato nei tumori mammari per definire la malattia come più o meno aggressiva è 20%. Da diversi studi è emerso inoltre come questo possa essere considerato non solo un marcatore di aggressività, ma anche di prognosi [51].

2.7 Classificazione secondo il TNM

Secondo le ultime linee guida dell'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC), corrispondenti all'ottava edizione (AJCC 2017), il sistema TNM per il carcinoma mammario prevede, come per molte altre neoplasie, una classificazione anatomica della malattia (*Tumour, Nodes, Metastasis*) [52] [53], a cui si corredata poi una classificazione prognostica secondo il *Prognostic Stage Group* che include, oltre ai parametri T, N e M, anche grado tumorale, stato dei recettori ormonali e stato di HER2 [4], come mostrato nella Tabella 3.

Tabella 3 – Classificazione TNM del carcinoma mammario secondo AJCC 2017 (8° edizione)

Classificazione clinica
Tumore primitivo (T): Tx: tumore primitivo non definibile T0: non evidenza del tumore primitivo Tis: carcinoma in situ: Tis (DCIS): carcinoma duttale in situ Tis (Paget): malattia di Paget del capezzolo non associata con carcinoma invasivo e/o in situ nel parenchima mammario sottostante T1: tumore della dimensione massima fino a 20 mm T1mi: microinvasione <1 mm T1a: tumore dalla dimensione compresa tra 1 mm e 5 mm (arrotondare misurazioni comprese tra 1,0 e 1,9 mm a 2 mm) T1b: tumore dalla dimensione >5 mm e <10 mm T1c: tumore dalla dimensione >10 mm e <20 mm T2: tumore superiore a 20 mm ma non superiore a 50 mm nella dimensione massima T3: tumore superiore a 50 mm nella dimensione massima T4: tumore di qualsiasi dimensione con estensione diretta alla parete toracica e/o alla cute (ulcerazione o noduli cutanei) T4a: estensione alla parete toracica (esclusa la sola aderenza/invasione del

muscolo pettorale)

T4b: ulcerazione della cute e/o noduli cutanei satelliti ipsilaterali e/o edema della cute (inclusa cute a buccia d'arancia) che non presenta i criteri per definire il carcinoma infiammatorio

T4c: presenza contemporanea delle caratteristiche di T4a e T4b

T4d: carcinoma infiammatorio

Linfonodi regionali (N):

Nx: linfonodi regionali non valutabili (ad esempio, se precedentemente asportati)

N0: linfonodi regionali liberi da metastasi (agli esami strumentali e all'esame clinico)

N1: metastasi nei linfonodi ascellari omolaterali mobili (livello I-II)

cN1mi: micrometastasi (approssimativamente 200 cellule, deposito maggiore di 0,2 mm, ma nessuno maggiore di 2,0 mm)

N2: metastasi nei linfonodi ascellari omolaterali (livello I-II) che sono clinicamente fissi o fissi tra di loro; o in linfonodi mammari interni omolaterali clinicamente rilevabili in assenza di metastasi clinicamente evidenti nei linfonodi ascellari

N2a: metastasi nei linfonodi ascellari omolaterali (livello I-II) fissi tra di loro o ad altre strutture

N2b: metastasi solamente nei linfonodi mammari interni omolaterali e in assenza di metastasi nei linfonodi ascellari (livello I-II)

N3: metastasi in uno o più linfonodi sottoclaveari omolaterali (livello III ascellare) con o senza coinvolgimento di linfonodi ascellari del livello I, II; o nei linfonodi mammari interni omolaterali in presenza di metastasi nei linfonodi ascellari livello I-II; o metastasi in uno o più linfonodi sovraclaveari omolaterali con o senza coinvolgimento dei linfonodi ascellari o mammari interni

N3a: metastasi nei linfonodi sottoclaveari omolaterali

N3b: metastasi nei linfonodi mammari interni e ascellari

N3c: metastasi nei linfonodi sovraclaveari

Metastasi a distanza (M):

Mx: metastasi a distanza non accertabili (ma la diagnostica per immagini non è richiesta per assegnare la categoria M0)

M0: non evidenza clinica o radiologica di metastasi a distanza

cM0(i+): non evidenza clinica o radiologica di metastasi a distanza, ma depositi di cellule tumorali evidenziati mediante biologia molecolare o microscopicamente nel sangue, midollo osseo o in altri tessuti diversi dai linfonodi regionali, di dimensioni non superiori a 0,2 mm in una paziente senza segni o sintomi di metastasi

M1: metastasi a distanza evidenziate mediante classici esami clinico e radiologico e/o istologicamente dimostrate di dimensioni superiori a 0,2 mm (pM)

Classificazione patologica**pT: Tumore primitivo**

La classificazione patologica del tumore primitivo corrisponde a quella clinica

pN: Linfonodi regionali

pNx: i linfonodi regionali non possono essere definiti (ad esempio: non sono stati prelevati o sono stati rimossi in precedenza)

pN0: non metastasi nei linfonodi regionali identificate istologicamente o presenza di sole cellule tumorali isolate (ITC)

Nota: si definiscono cellule tumorali isolate (isolated tumor cell=ITC) piccoli aggregati di cellule non più grandi di 0,2 mm o singole cellule tumorali o un piccolo raggruppamento di cellule con meno di 200 cellule in una singola sezione istologica. Le cellule tumorali isolate possono essere evidenziate con i metodi istologici tradizionali o con metodi immunoistochimici. I linfonodi contenenti solo cellule tumorale isolate sono esclusi dalla conta totale dei linfonodi positivi ai fini della classificazione N, ma dovrebbero essere inclusi nel numero totale dei linfonodi esaminati

pN0 (i-): non metastasi nei linfonodi regionali all'istologia (con colorazione

standard ematossilina-eosina), negativo il metodo immunoistochimico

pN0 (i+): presenza di cellule maligne (ITC) nei linfonodi regionali non superiori a 0,2 mm (evidenziate con ematossilina-eosina o con l'immunoistochimica)

pN0 (mol-): non metastasi nei linfonodi regionali istologicamente accertate, RT-PCR (*Real Time-Polymerase Chain Reaction*) negativa

pN0 (mol+): RT-PCR positiva ma non metastasi nei linfonodi regionali all'istologia o all'immunoistochimica; non identificate ITC

pN1: micrometastasi; o metastasi in 1-3 linfonodi ascellari omolaterali; e/o metastasi (micro- o macro-) nei linfonodi mammari interni omolaterali rilevate con biopsia del linfonodo sentinella ma non clinicamente rilevabili
pN1mi: micrometastasi (aggregato di cellule tumorali contigue di dimensioni superiori a 0,2 mm e/o più di 200 cellule, ma non più grandi di 2 mm)
pN1a: metastasi in 1-3 linfonodi ascellari, includendo almeno una metastasi delle dimensioni massime superiori a 2 mm
pN1b: metastasi nei linfonodi mammari interni, ITC escluse pN1c: combinazione di pN1a e pN1b

pN2: metastasi in 4-9 linfonodi ascellari omolaterali; o in linfonodi mammari interni omolaterali agli esami strumentali in assenza di metastasi nei linfonodi ascellari

pN2a: metastasi in 4-9 linfonodi ascellari, includendo almeno una localizzazione tumorale delle dimensioni massime superiori a 2 mm

pN2b: metastasi clinicamente rilevabili nei linfonodi mammari interni, con o senza conferma istologica, in assenza di metastasi nei linfonodi ascellari

pN3: metastasi in 10 o più linfonodi ascellari omolaterali; o in linfonodi sottoclavicolari (livello III ascellare) omolaterali; o metastasi nei linfonodi mammari interni omolaterali evidenti all'indagine strumentale in presenza di metastasi in uno o più linfonodi ascellari positivi livello I-II; o metastasi in più di 3 linfonodi ascellari e nei linfonodi mammari interni con metastasi microscopiche o macroscopiche evidenziate con biopsia del linfonodo sentinella ma non clinicamente rilevabili; o metastasi nei linfonodi sovraclaveari omolaterali

pN3a: metastasi in 10 o più linfonodi ascellari omolaterali (almeno uno delle dimensioni massime superiori a 2 mm); o metastasi nei linfonodi sottoclavicolari (linfonodi ascellari III livello)

pN3b: pN1a o pN2a in presenza di cN2b (linfonodi mammari interni omolaterali positivi all'analisi strumentale), o pN2a in presenza di pN1b

pN3c: metastasi nei linfonodi sovraclaveari omolaterali

Sempre secondo l'AJCC, attraverso i parametri T, N e M è possibile suddividere la neoplasia in quattro stadi di malattia (o meglio, cinque, se si considera anche il carcinoma *in situ*) [4], come mostrato nella seguente Tabella 4.

Tabella 4 – Classificazione in stadi del carcinoma mammario secondo AJCC 2017 (8° edizione)

Stadio 0		Tis	N0	M0
Stadio I	IA	T1	N0	M0
	IB	T0 T1	N1mi N1mi	
Stadio II	IIA	T0	N1	M0
		T1	N1	
		T2	N0	
	IIB	T2 T3	N1 N0	
Stadio III	IIIA	T0	N2	M0
		T1	N2	
		T2	N2	
		T3	N1	
		T3	N2	
	IIIB	T4	N0 N1 N2	
	IIIC	Ogni T	N3	
Stadio IV		Ogni T	Ogni N	M1

2.8 Fattori prognostici e predittivi

Nel carcinoma mammario, i fattori prognostici più utilizzati sono le dimensioni del tumore, stato dei linfonodi ascellari (cellule tumorali isolate o micrometastasi del linfonodo sentinella non sembrano essere rilevanti) [54] [55], grado istologico, Ki67, tipo istologico, invasione vascolare (non accettata unanimamente come fattore prognostico) [56], stato dei recettori ormonali [57], stato di HER2, multifocalità [58], età della paziente (< 35 anni è un fattore negativo), profili di espressione genica (*Luminal A*, *Luminal B*, *HER2-enriched*, *Basal-like*), Linfociti Infiltranti il Tumore (TILs – *Tumour-Infiltrating Lymphocytes*) [59] ed eventuali classificatori genomici (es. Oncotype DX) [4].

Riguardo ai fattori predittivi, invece, si ricordino in particolare lo stato dei recettori ormonali, stato di HER2, espressione di PD-L1 e varianti patogenetiche germinali dei geni BRCA1 e BRCA2 [4]. PD-L1 corrisponde al ligando del recettore PD-1, di cui il primo viene espresso sulla superficie delle cellule neoplastiche, mentre il secondo sui linfociti T. Dall'interazione PD1-PDL1 risulta l'inattivazione dei linfociti T, con conseguente spegnimento della risposta immunitaria anti-tumorale [44] [60]. Ad oggi esistono dei farmaci specifici che bloccano tale interazione, i cosiddetti “inibitori dei *checkpoint* immunitari”, il cui scopo è quindi quello di riattivare il sistema immunitario contro la malattia [44]. Nel carcinoma mammario triplo-negativo, in particolare, per poter beneficiare dell'immunoterapia viene indicato lo studio immunoistochimico dei livelli di espressione di PD-L1 da parte delle cellule neoplastiche. È importante tenere a mente che l'espressione di questo ligando è altamente mutabile sia nel tempo (maggior probabilità di espressione su tumori primari che secondari) che nello spazio (maggior probabilità di espressione su metastasi linfonodali e polmonari che in altre sedi) [61]. In base alla percentuale di cellule tumorali che esprimono PD-L1 potrà essere quindi indicata l'immunoterapia con Pembrolizumab o Atezolizumab [62] [63]. BRCA1 e BRCA2, invece, sono entrambi oncosoppressori coinvolti nel meccanismo di riparo omologo (*Homology-Directed Repair*, *HDR*) delle rotture a doppio filamento di DNA. Per BRCA, in particolare, non solo le mutazioni dirette al gene relativo ne determinano l'inattivazione: è ormai assodato che anche modificazioni epigenetiche possono produrre lo stesso risultato, tra cui le più implicate

sembrerebbero essere l'ipermetilazione del promotore genico (che riduce la trascrizione del gene stesso) e l'iperespressione di microRNA-182 (che riduce la traduzione dell'mRNA per BRCA) [42]. Lo studio può essere effettuato attraverso diverse tecniche di laboratorio, di cui le due più utilizzate al giorno d'oggi sono la PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e il NGS (*Next Generation Sequencing*). Entrambe sono molto valide e possono essere effettuate su un campione di ctDNA (DNA tumorale circolante), ottenuto attraverso biopsia liquida, o a partire da una biopsia tissutale [64]. Una mutazione germinale di BRCA, comunque, non è da studiare solo a scopo preventivo, cioè per rilevare quei casi di tumore alla mammella su base ereditaria, ma anche per offrire un'ulteriore possibilità di terapia: è qui che si inseriscono i farmaci PARP-inibitori [24]. In particolare, donne gBRCA-mutate con carcinoma mammario HR+/HER2- possono beneficiare del trattamento con Talazoparib, mentre quelle con neoplasia triplo negativa di Olaparib o Talazoparib [65] [66]. Altri biomarcatori predittivi che potrebbero essere valutati, soprattutto nella malattia avanzata refrattaria a diverse linee terapeutiche, sono le varianti dei geni per PIK3CA, MMR, NTRK e ESR1 [24]. In particolare, PIK3CA rappresenta la subunità catalitica alfa dell'enzima fosfatidil-inositolo-3-chinasi, coinvolto nell'attivazione del *pathway* di AKT-mTOR [24]. Come per altri geni, la ricerca di eventuali mutazioni del gene di PIK3CA può essere effettuata attraverso PCR o NGS ed è indicata essenzialmente nelle neoplasie mammarie HR+/HER2- [67]. Nei casi positivi, può essere offerto il trattamento con l'inibitore tirosin-chinasico Alpelisib o Capivasertib [68-70]. Il *mismatch repair* (MMR) rappresenta uno dei sistemi di riparo del DNA, coinvolto in particolare nella correzione dei *mismatch*, gli errati appaiamenti tra basi azotate [42]. Una mutazione di uno dei fattori coinvolti nel suddetto sistema (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) determina quindi incapacità nel correggere errori di questo tipo, con conseguente instabilità dei microsatelliti, che si traduce infine in instabilità genomica e, in generale, maggior probabilità di accumulare mutazioni [71] [72]. Per quanto questo sia chiaramente un fattore di rischio per lo sviluppo di neoplasie, sia sporadiche che a substrato ereditario, quando la malattia si presenta in realtà l'instabilità dei microsatelliti rappresenta un fattore predittivo positivo, che permette al paziente di beneficiare dell'immunoterapia con Pembrolizumab [73]. Lo studio dei geni per

l'MMR, in particolare, prevede di base l'esecuzione di una immunoistochimica su campione di tessuto tumorale per identificare la mancanza di una o più proteine del sistema MMR, a cui segue l'analisi con PCR per identificare la conseguente instabilità genomica [74]. NTRK (*Neurotrophic Tyrosine Receptor Kinase*) è un recettore tirosin-chinasico legante le neurotrofine. È coinvolto nello sviluppo del sistema nervoso e nella sopravvivenza neuronale ma, in certi casi, può essere costitutivamente attivo nelle cellule tumorali, grazie alla fusione di uno dei geni per NTRK con un altro gene. La peculiarità di NTRK è che, a differenza di tutti gli altri biomarcatori, non è specifico per una o alcune neoplasie, potenzialmente tutte possono mutarlo e sfruttarlo a proprio vantaggio. Se lo studio di NTRK, effettuato attraverso NGS, risulta positivo, si indica all'utilizzo di Larotrectinib o Entrectinib [24] [75]. ESR1 è il gene per il recettore degli estrogeni di tipo alfa (ER α), per cui la probabilità di mutazione – associata alla resistenza endocrina nel carcinoma mammario HR+/HER2– in stadio avanzato – aumenta con la progressione di malattia. Ciò impone lo studio di ESR1, attraverso PCR o NGS su biopsia liquida, nel caso di neoplasia HR+/HER2– avanzata che sta perdendo l'ormono-sensibilità. Se si riscontrasse una mutazione di ESR1, la paziente potrebbe beneficiare del trattamento con Elacestrant – uno dei più recenti farmaci introdotti nella pratica clinica in oncologia, appartenente al gruppo dei SERDs [76] [77].

2.9 Trattamento

Data la variabilità istologica, ma soprattutto biologica, del carcinoma mammario, il trattamento stesso è estremamente complesso e variegato. Dipende innanzitutto dal profilo biomolecolare della neoplasia che, come si è visto, permette di scegliere tra diversi tipi di terapia: chemioterapia, *target therapy*, ormonoterapia, immunoterapia – a cui si aggiungono chirurgia e radioterapia [4]. Il trattamento dei tumori mammari presenta inoltre un aspetto che, attualmente, lo distingue da quello di tutte le altre neoplasie: è l'unico ad essere descritto da due linee guida diverse, una dedicata al carcinoma mammario in stadio precoce, l'altra al carcinoma mammario in stadio avanzato [4] [24].

2.9.1 Trattamento del carcinoma mammario in stadio precoce

Per “stadio precoce” di fatto si intende una neoplasia in stadio 0, I o IIA, dove lo stadio IIA corrisponde ad un T0N1M0, T1N1M0 o T2N0M0. In realtà, all’interno di queste linee guida collimano anche stadi più avanzati (IIB e III), per i quali può comunque essere offerto un trattamento con finalità curativa. Ciò vale per neoplasie localizzate o localmente avanzate ma operabili. Tralasciando lo stadio 0 – che identifica un carcinoma *in situ* – a partire dallo stadio I, dopo la diagnosi, viene effettuata una prima valutazione da parte del *team* multidisciplinare di competenza (*Breast Unit*) al fine di indicare una eventuale terapia neoadiuvante, le cui specifiche verranno dettagliate in base alla classe biomolecolare [4].

Riguardo alla chirurgia mammaria, le tecniche ad oggi utilizzate prevedono di base un approccio più conservativo (quadrantectomia) o uno più demolitivo (mastectomia). È importante considerare che, nel caso di quadrantectomia, la paziente dovrà poi essere sottoposta di *default* a radioterapia complementare sulla mammella residua (QUART), mentre nel caso di mastectomia si indica al trattamento radioterapico – che coinvolgerà parete toracica e stazioni linfonodali – solo in casi selezionati [78-80]. Per quanto riguarda la chirurgia ascellare, la linfadenectomia ascellare viene eseguita solo in casi selezionati [4]. Ad oggi, infatti, trova molto più impiego lo studio del linfonodo sentinella: se dall’inizio non sussistono i criteri per eseguire una dissezione linfonodale ascellare, è di base indicata l’asportazione del suddetto linfonodo (che può essere anche più di uno) nella medesima seduta di chirurgia mammaria. Se dalla successiva analisi istologica ne risultasse la positività, sarebbe compito del *team* della *Breast Unit* valutare l’eventuale linfadenectomia [79] [81].

Resta da trattare la terapia sistemica adiuvante, che può prevedere la combinazione di chemioterapia [82], *target therapy* [83] e ormonoterapia [84]. La decisione di quale trattamento utilizzare viene rimandata a diversi fattori, quali innanzitutto fattori prognostici e fattori predittivi, ma anche rapporto tra benefici attesi ed effetti collaterali, comorbidità della paziente e preferenza della paziente stessa. I fattori prognostici permettono di definire il rischio di recidiva, mentre i fattori predittivi (in particolare stato dei recettori ormonali e di HER2) di scegliere nello

specifico il tipo di terapia [4]. La chemioterapia, in particolare, rappresenta uno dei trattamenti cardine per il carcinoma mammario in stadio precoce. A differenza degli altri, comunque, non presenta indicazioni esclusivamente associate al profilo di espressione biomolecolare: nel caso di una neoplasia HR+/HER2– è infatti richiesta l’analisi di cinque caratteristiche della neoplasia, quali *grading*, parametro T, Ki67, stato di ER, parametro N [4] [85], come mostrato nella Tabella 5.

Tabella 5 – Definizione di basso e alto rischio di recidiva

BASSO RISCHIO	ALTO RISCHIO
Le seguenti 5 caratteristiche	Almeno 4 delle seguenti caratteristiche
G1 T1 (a-b)* Ki67 < 20% ER > 80% N0	G3 T3-T4 Ki67 > 30% ER < 30% N+
<i>*In caso di T1a non è indicato l’accesso al test in presenza di almeno altri 2 parametri fondamentali</i>	

Come si evince dalla tabella, per alcune caratteristiche di malattia è possibile ricadere in una “zona grigia”, per cui risulta impossibile collocare la paziente in una delle due categorie di rischio. È qui che entrano in gioco i test genomici, come Oncotype DX: attraverso l’analisi di 21 geni espressi dalle cellule neoplastiche, Oncotype DX permette la suddivisione delle neoplasie HR+/HER2– in base al rischio di recidiva e, di conseguenza, la definizione dell’effettiva necessità della chemioterapia, associata all’ormonoterapia di base [86]. In generale, in letteratura non è stato identificato un intervallo ottimale tra intervento chirurgico e inizio della chemioterapia [87], motivo per cui rimane valida l’indicazione generale ad iniziare il trattamento entro le 4-8 settimane *post*-chirurgia, una volta che la paziente abbia completato il decorso operatorio. La durata ottimale, invece, è fissata a 4-8 cicli [4]. Riguardo ai farmaci impiegati, ad oggi sono disponibili fino a tre generazioni di schemi chemioterapici, tutti basati sulla combinazione di almeno due agenti citotossici [82]. Tra i più utilizzati, si ricordino i regimi sequenziali di III generazione basati sull’associazione di antraciclina (Doxorubicina o Epirubicina)

e Ciclofosfamide concomitanti per 4 cicli, seguiti da altri 4-8 cicli di taxano (Docetaxel o Paclitaxel). Questo perché i sequenziali, rispetto a quelli di combinazione (come il TAC – Docetaxel, Doxorubicina, Ciclofosfamide), sono schemi associati ad un miglior profilo di tossicità che permettono di ridurre la dose totale di antraciclina [82] [88].

La *target therapy* rappresenta una delle terapie più innovative (e in continua evoluzione) in ambito oncologico [44]. L'indicazione alla stessa viene posta in caso di neoplasia HER2+ e si fonda sull'utilizzo di farmaci anti-HER2, quali Trastuzumab e Pertuzumab. In particolare, il trattamento di base prevede l'associazione di Trastuzumab alla chemioterapia, con inizio diverso secondo lo schema chemioterapico intrapreso [83]. Ad esempio, in pazienti sottoposte al classico regime a base di antraciclina e taxano, il biologico è da iniziare in concomitanza al taxano e da proseguire fino al completamento di 1 anno di terapia [4]. Pertuzumab, invece, trova indicazione solo nella malattia ad alto rischio N+, in associazione a Trastuzumab [89].

L'ormonoterapia è indicata nella malattia HR+, con dati solidi solo per livelli di espressione dei recettori ormonali pari almeno al 10% [4]. In generale, la durata della terapia ormonale dovrebbe essere di almeno 5 anni, con possibilità di prosecuzione per altri 5 anni (fino a 10 anni totali) in casi selezionati [84]. Prima di trattare i farmaci considerati nell'ormonoterapia, c'è da fare una distinzione tra due situazioni: donna in *pre-menopausa* e donna in *post-menopausa*. Nella prima, infatti, la produzione di estrogeni e progesterone è principalmente a carico dell'ovaio, motivo per cui sarà necessario innanzitutto andare ad operare una soppressione dell'attività ovarica attraverso specifici farmaci [90]. Nella seconda, invece, i suddetti ormoni non derivano dall'ovaio, già privo di funzionalità, bensì dall'aromatizzazione periferica (a livello soprattutto epatico e adiposo) degli androgeni surrenalici [91]. Viene da sé che la terapia ormonale nella donna in *pre-menopausa* sarà sensibilmente diversa rispetto a quella della donna in *post-menopausa*. Tra i farmaci utilizzati si ricordino Tamoxifene e inibitori dell'aromatasi (associati a un inibitore delle CDK4/6 in casi selezionati), oltre che LH-RH-analoghi per la soppressione ovarica nella donna in *pre-menopausa* [44].

2.9.2 Trattamento del carcinoma mammario in stadio avanzato

Per “stadio avanzato” di fatto si intende una neoplasia in stadio IIB, III o IV, per cui cambiano gli esami richiesti per la stadiazione rispetto agli stadi più precoci [4]. Da un punto di vista terapeutico, invece, la malattia si intende in stadio avanzato quando viene giudicata come non operabile (seppur non metastatica) o è già in fase metastatica. Anche in questo caso resta centrale lo studio biomolecolare del tumore, in particolare per quanto riguarda lo stato dei recettori ormonali e di HER2. A differenza di quanto accade per la malattia in stadio precoce, però, in questo *setting* la terapia non viene distinta in base alle quattro classi biomolecolari, ma in tre gruppi: malattia HR+/HER2–, malattia HER2+, malattia triplo negativa [24].

2.9.2.1 Carcinoma mammario HR+/HER2–

Un concetto da chiarire innanzitutto è quello di crisi viscerale, definita come “uno scenario critico in cui il carico della malattia metastatica risulta in un rapido deterioramento della funzione degli organi”, che può dunque portare alla morte per insufficienza d’organo. Rappresenta un evento acuto ad elevata mortalità, il cui trattamento dovrà quindi essere tempestivo e intensivo, richiedendo l’impiego di farmaci citotossici più che citostatici. Un esempio di schema terapeutico a cui si potrebbe attingere in caso di crisi viscerale è la combinazione di Paclitaxel e Bevacizumab [92].

Al di fuori di tale contesto, il trattamento di prima linea del carcinoma mammario HR+/HER2– avanzato si basa sull’associazione tra terapia endocrina e inibitori di CDK4/6, quali Palbociclib, Ribociclib e Abemaciclib, caratterizzati da efficacia sovrapponibile ma differente profilo di tossicità [93-98]. Nelle pazienti in *pre-menopausa* è necessaria la soppressione ovarica mediante LH-RH-analoghi, associati a inibitori dell’aromatasi o a Fulvestrant. Gli inibitori dell’aromatasi sono preferiti nei casi di malattia metastatica *de novo* o recidiva tardiva, mentre Fulvestrant trova indicazione nelle recidive precoci durante o entro 12 mesi dalla terapia adiuvante [99]. Un elemento centrale nella gestione della malattia HR+ è rappresentato dall’endocrino-resistenza, distinta in primaria e secondaria secondo il *consensus* ABC5 [100]. In caso di progressione, la scelta della seconda linea dipende dai trattamenti precedenti e dalla durata del beneficio clinico [24].

Tra le principali opzioni terapeutiche rientrano Exemestane associato a Everolimus [101], Fulvestrant con o senza inibitori di CDK4/6 [94] [95] [98] e terapie mirate in sottogruppi selezionati, quali Talazoparib nelle pazienti con mutazione germinale BRCA [102] e Alpelisib o Capivasertib associati a Fulvestrant nelle pazienti con mutazione di PIK3CA [103] [104]. Dalla terza linea terapeutica in poi, il trattamento deve essere guidato anche dall'eventuale comparsa di nuove alterazioni molecolari. In presenza di persistenza dell'ormono-sensibilità possono essere impiegati ulteriori agenti endocrini, mentre nei casi di ormono-resistenza si ricorre generalmente a monochemioterapia con taxani o antracicline liposomiali [24] [105]. Inoltre, la presenza di mutazioni di ESR1 identifica pazienti potenzialmente candidabili a trattamento con Elacestrant [76]. Infine, Trastuzumab Deruxtecan, che rappresenta un'ulteriore opzione terapeutica nelle neoplasie HER2-*low pre-trattate* [106].

2.9.2.2 Carcinoma mammario HER2+

Lo *standard* di prima linea nella malattia HER2+ prevede l'associazione di un taxano (Docetaxel, Paclitaxel) e terapia anti-HER2 (Trastuzumab, Pertuzumab) [107] [108], a cui segue mantenimento con Trastuzumab ± Pertuzumab e, nella malattia HR+, ormonoterapia a base di inibitore dell'aromatasi. In caso di paziente in *post-menopausa* con neoplasia HR+/HER2+, controindicazioni alla chemioterapia e malattia particolarmente indolente, può essere offerto il trattamento con uno o più agenti anti-HER2 (Trastuzumab, Lapatinib) e un inibitore dell'aromatasi [109-111]. Riguardo alla seconda linea, ormai lo *standard* è rappresentato da Trastuzumab Deruxtecan. A partire dalla terza linea, le possibilità sono diverse, tutte basate comunque sull'impiego di farmaci anti-HER2, quali Trastuzumab, Tucatinib, Lapatinib, Trastuzumab Emtansine e Trastuzumab Deruxtecan [24]. Tucatinib viene indicato in associazione a Trastuzumab e Capecitabina almeno come terza linea di terapia [112]. Lapatinib viene invece associato a Capecitabina o Trastuzumab, di cui nel primo caso dopo un trattamento che includa antracicline e taxani e una terapia per malattia metastatica a base di Trastuzumab, nel secondo caso dopo un trattamento con Trastuzumab e chemioterapia per una neoplasia HR-/HER2+ [113]. Trastuzumab Emtansine trova utilizzo nella malattia già precedentemente trattata con taxano e Trastuzumab

(stadio iniziale), progredita durante una terapia adiuvante con Trastuzumab o entro 6 mesi dalla sua interruzione o progredita in corso di Trastuzumab nel *setting* metastatico (stadio avanzato) [114]. Infine, Trastuzumab Deruxtecan, indicato in pazienti con neoplasia HER2+, HER2-*low* o HER2-*ultralow* (in quest'ultimo sottogruppo non è però ancora rimborsabile) non resecabile o metastatica che hanno ricevuto almeno un trattamento per malattia metastatica a base di agenti anti-HER2 o sono andati incontro a progressione durante una terapia neoadiuvante/adiuvante o entro 6 mesi dalla sua interruzione [106] [115] [116].

2.9.2.3 Carcinoma mammario triplo negativo

Nel carcinoma mammario triplo negativo viene richiesta di *default* la valutazione dei livelli di espressione di PD-L1 [24]. Se la malattia viene giudicata PD-L1 positiva, indipendentemente dallo stato di BRCA1/2, il trattamento di prima linea verrà basato sull'associazione di chemioterapia e immunoterapia, in particolare secondo i regimi Atezolizumab + Nab-Paclitaxel [117], Pembrolizumab + Nab-Paclitaxel o Pembrolizumab + Carboplatino e Gemcitabina [118]. Nel caso di malattia PD-L1 negativa e BRCA1/2 positiva, la terapia di prima linea dovrebbe basarsi sull'utilizzo di un PARP-inibitore (Olaparib, Talazoparib) piuttosto che di una chemioterapia che, se indicata, prevede comunque l'impiego di un derivato del platino [119] [120]. Infine, per neoplasia PD-L1 negativa e BRCA1/2 *wild type* l'unica opzione terapeutica rimane la chemioterapia, secondo schemi di monochemioterapia a base di antraciclina o taxano se non c'è rischio imminente di crisi viscerale o, qualora ci fosse, polichemioterapia sempre a base di antraciclina o taxano o, in alternativa, Paclitaxel + Bevacizumab [121-123]. Sebbene sia vero che gli schemi di combinazione siano associati ad un tasso più alto di risposta al trattamento e intervalli di progressione più lunghi rispetto alla monochemioterapia, non sono stati dimostrati benefici in termini di sopravvivenza globale, a fronte di maggiori tossicità [124]. Nel caso di recidiva di malattia entro 6-12 mesi dalla fine di una terapia neoadiuvante/adiuvante, due farmaci che possono essere presi in considerazione come prima linea sono Eribulina e Sacituzumab Govitecan [24] [125]. A partire dalla seconda linea, il trattamento può essere orientato o verso una monochemioterapia (preferibilmente a base di Eribulina o Capecitabina) o verso una *target therapy* con anticorpi-farmaco coniugati (Sacituzumab Govitecan,

Trastuzumab Deruxtecan) [24]. Sacituzumab Govitecan, in particolare, è indicato nel carcinoma mammario triplo negativo non operabile o metastatico già trattato con almeno due terapie sistemiche, di cui almeno una per malattia avanzata. In particolare, per questo sottogruppo di malattia rappresenta ad oggi lo standard di *seconda* linea, per quanto da recenti studi sia passato addirittura in prima linea (dove però non ha ancora ottenuto la rimborsabilità) [126]. Trastuzumab Deruxtecan, invece, rimane comunque utilizzabile solo se la neoplasia viene giudicata HER2-*low* o HER2-*ultralow* (anche in questo caso, non è ancora stata estesa la rimborsabilità) [106] [116].

3. ANTICORPI-FARMACO CONIUGATI

3.1 Introduzione

Gli anticorpi-farmaco coniugati (*Antibody-Drug Conjugates, ADC*) rappresentano una delle più recenti innovazioni in farmacologia e una delle frontiere più promettenti in ambito oncologico ed ematologico. Gli ADC sono dei farmaci che combinano l'azione di anticorpi monoclonali altamente specifici e di potenti agenti citotossici (*payload*), legati tra loro per mezzo di una molecola ponte (*linker*). Il razionale sarebbe dunque quello di far fronte alla mancanza di selettività della classica chemioterapia e di incrementare l'efficacia della *target therapy*, offrendo una terapia potente e mirata, con effetti indesiderati minimi [127]. È il principio su cui si fondava la cosiddetta “teoria del proiettile magico”, formulata da Paul Ehrlich nei primi del '900. Secondo questa teoria, si postulava una sostanza capace di colpire selettivamente i microrganismi (allora la medicina era rivolta soprattutto alla ricerca di terapie contro le malattie infettive) senza danneggiare l'organismo ospite [128]. Il primo ADC introdotto in commercio è Gemtuzumab Ozogamicin, approvato nel 2000 dalla *Food and Drug Administration (FDA)* per il trattamento della leucemia mieloide acuta dell'adulto [129]. Da quel momento, la ricerca si è sempre più indirizzata verso lo studio di questa nuova categoria farmacologica, portando alla commercializzazione di altri 15 farmaci simili in tutto il mondo (12 in Europa e USA). Ad oggi, oltre 400 molecole provviste di tali caratteristiche sono in sperimentazione, di cui oltre 20 hanno ormai raggiunto la fase III [130] [131].

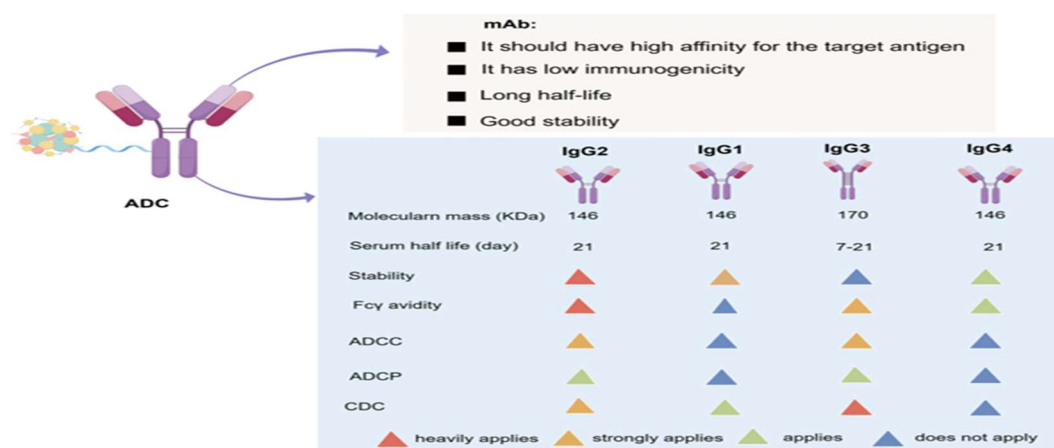
3.2 Struttura

Come accennato sopra, gli ADC sono costituiti essenzialmente da tre componenti: un anticorpo monoclonale, un *linker* e un *payload*.

L'anticorpo monoclonale rappresenta la base dell'intero farmaco, sia in termini di struttura che di efficacia. In quanto tale, deve possedere la capacità di legarsi selettivamente all'antigene *target* e a nessun altro sito *off-target*, oltre che di penetrare efficientemente all'interno della cellula neoplastica [132]. Queste due proprietà sono strettamente interconnesse: da diversi studi [133] [134] si è visto come un'affinità moderata per il *target* faciliti il processo di internalizzazione e degradazione del farmaco, mentre un'affinità eccessiva ne potrebbe determinare

l'accumulo a livello extracellulare. Un ADC, inoltre, dovrebbe presentare bassa immunogenicità, lunga emivita e alta stabilità. [135] Il ruolo dell'anticorpo monoclonale, comunque, non è solo quello di assicurare la selettività d'azione del citotossico: rappresenta anch'esso una molecola farmacologicamente attiva, secondo l'interazione dei domini Fc e Fab con specifici *target*. In particolare, il dominio Fc potenzia l'attività del sistema immunitario andando ad attivare i classici meccanismi di citotossicità anticorpo-dipendente (ADCC), fagocitosi anticorpo-dipendente (ADCP) e citotossicità complemento-dipendente (CDC). Inoltre, legandosi al recettore Fc neonatale (FcRn), lo stesso protegge il farmaco dalla degradazione lisosomiale, aumentandone così l'emivita. Il dominio Fab, invece, riconosce specifici antigeni tumorali, determinando l'inibizione di *pathway* di crescita intracellulari e l'attivazione dell'apoptosi. [136-139] Da un punto di vista strutturale, la porzione anticorpale dell'ADC è classificata come una IgG chimerica o umanizzata, suddivisa in quattro sottotipi in base alla catena pesante e alle regioni *hinge*: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Tra queste, la più impiegata attualmente è la IgG1, che rispetto alle altre presenta una migliore stabilità *in vivo* e farmacocinetica, oltre che una scarsa immunogenicità [140] [141]. Prima di concludere la trattazione, vale la pena nominare gli anticorpi bi-specifici (BsAbs), un tipo di anticorpi capaci di legare due diversi epitopi sullo stesso antigene o addirittura su antigeni distinti. Nell'ambito degli ADC, questa applicazione sembrerebbe dare benefici sia in termini farmacocinetici che farmacodinamici, rappresentando quindi un campo di forte interesse per la ricerca [142] [143]. Le caratteristiche della porzione anticorpale negli ADC sono riassunte nella Figura 2.

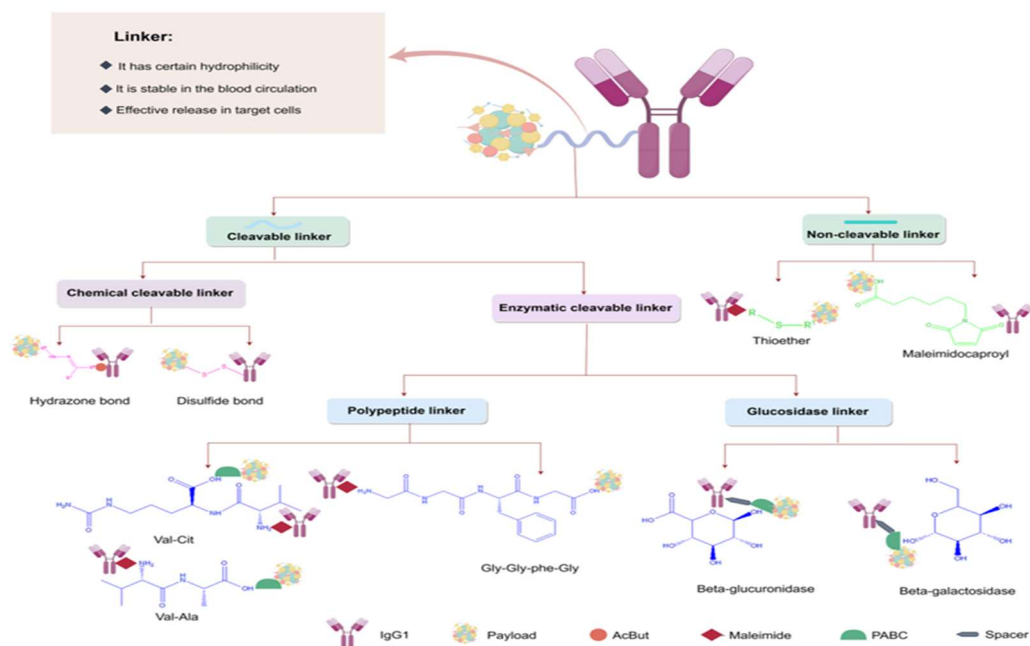
Figura 2 – Caratteristiche essenziali della porzione anticorpale negli ADC



Il *linker* rappresenta la porzione che fa da ponte tra l'anticorpo monoclonale e il citotossico. Per quanto possa sembrare trascurabile, in realtà il *linker* è un componente fondamentale per l'intera struttura dell'ADC, garantendo la veicolazione del *payload* fin dentro la cellula *target* e rilasciandolo solo a questo punto. Una proprietà fondamentale di questa regione è l'idrofilia/lipofilia che, combinata con l'idrofilia/lipofilia del citotossico, può alterare la conformazione dell'intero ADC. Ad esempio, un *linker* idrofobico legato ad un *payload* idrofobico determina aggregazione della molecola, riducendone stabilità ed efficacia e aumentandone l'immunogenicità [144] [145]. Un'altra caratteristica fondamentale di questo dominio è la possibilità di clivaggio, per cui si distinguono *linker* clivabili e *linker* non clivabili. I *linker* clivabili sono formulati in modo da "riconoscere" l'ambiente intracellulare tumorale, caratterizzato da specifiche condizioni di pH, reazioni di ossidoriduzione o attività enzimatiche, cosa che concorre a garantire la selettività d'azione del farmaco verso la cellula neoplastica stessa e le cellule vicine (effetto *bystander*) [146] [147]. A questo punto, il rilascio del citotossico può avvenire attraverso due possibili meccanismi di clivaggio, che permettono la distinzione tra *linker* clivabili chimicamente e *linker* clivabili da enzimi [145] [148]. I primi vengono ulteriormente suddivisi in due categorie, in base al legame cardine che li costituisce: *linker* con legami idrazone e *linker* con legami a ponte disolfuro. I primi normalmente vengono scissi dal pH acido presente all'interno dei lisosomi e endosomi citoplasmatici, ma può capitare che tale clivaggio avvenga erroneamente nel plasma, portando ad effetti indesiderati. Per tale motivo, ad oggi l'utilizzo di questi *linker* è stato molto limitato [149]. I secondi, invece, vengono scissi dal glutathione, presente ad elevate concentrazioni in forma ridotta nell'ambiente intracellulare. A differenza dei *linker* con legami idrazone, questi hanno maggior stabilità nel sangue [150-152]. Passando ai *linker* clivabili da enzimi, anche questa categoria è suddivisibile in due sottogruppi, in base al tipo di enzimi coinvolti nel clivaggio e quindi alla struttura base della molecola stessa: *linker* polipeptidici e *linker* glicosidici. I primi sono costituiti da dipeptidi del tipo valina-citrullina, fenilalanina-lisina o valina-alanina o dal tetrapeptide glicina-glicina-fenilalanina-glicina (tra i principali), scissi dalla cathepsina B, peptidasi di pertinenza lisosomiale [153-155]. I secondi, invece, sono costituiti da gruppi

β -glucuronidi o β -galattosidi, scindibili da mutui enzimi glucosidasi. In generale, entrambi hanno dimostrato elevata stabilità plasmatica [145] [154-156]. L'altro grande gruppo di *linker* è rappresentato dai *linker* non clivabili, caratterizzati da specifici gruppi funzionali (es. tioetere, maleimidocaproyl) che ne garantiscono la stabilità plasmatica e la resistenza al clivaggio intracellulare [157] [158]. Il rilascio del *payload* avviene comunque in maniera selettiva all'interno della cellula neoplastica *targettata*, grazie al pH acido e all'azione litica delle idrolasi lisosomiali, che determinano però la degradazione della sola componente anticorpale dell'ADC [159]. Ciononostante, *linker* di questo tipo sono associati ad un rilascio più lento del citotossico, oltre che ad un minor effetto *bystander*. Potendo questi svantaggi impattare sull'efficacia terapeutica generale, ad oggi solo circa il 25% degli ADC approvati o in fase III presentano *linker* non clivabili [160]. Le caratteristiche del *linker* negli ADC sono riassunte nella Figura 3.

Figura 3 – Caratteristiche essenziali del linker negli ADC

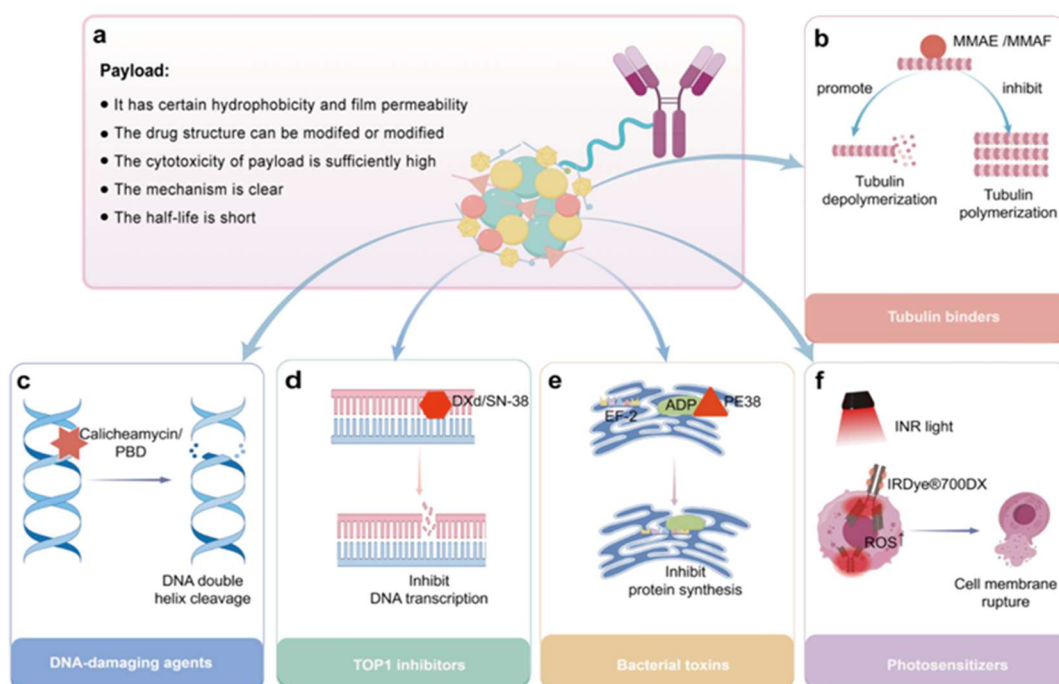


Per ultimo, resta da trattare la componente forse più caratteristica degli ADC, il *payload*. Questo è rappresentato da un potente agente citotossico, che viene prima veicolato nell'organismo legato alla porzione anticorpale, poi rilasciato all'interno della cellula tumorale, dove sprigiona la propria azione. Le proprietà base che ogni citotossico dovrebbe possedere sono basso peso molecolare, alta idrofilia, stabilità plasmatica, resistenza all'ambiente intra-lisosomiale, breve emivita ed efficacia

anche a basse concentrazioni [161] [162]. In base al meccanismo d'azione, gli agenti citotossici vengono distinti in inibitori delle tubuline, agenti danneggianti il DNA, inibitori della topoisomerasi I, tossine batteriche e fotosensibilizzanti. Altre categorie farmacodinamiche che stanno emergendo sono, tra le varie, le piccole molecole immunostimolanti, gli inibitori dell'RNA e gli inibitori del proteasoma [160]. Riguardo agli inibitori delle tubuline, ad oggi i più utilizzati fanno parte della classe delle auristatine e dei maitansinoidi [163]. Tra le auristatine, si ricordi la monometil auristatina E (MMAE), mentre tra i maitansinoidi si ricordino i derivati della maitansina 1 e 4 (DM1, DM4), che legano l'estremità dei microtubuli impedendone la polimerizzazione e favorendone la depolimerizzazione, con conseguente blocco del ciclo cellulare in fase G2/M e successiva apoptosi [163] [164]. Passando agli agenti danneggianti il DNA, c'è da dire innanzitutto che la loro azione di base si esplica in maniera diversa, attraverso l'inibizione della duplicazione del DNA (fase S) o la distruzione diretta per alchilazione, rottura a doppio filamento o *cross-linking*. Un vantaggio rispetto ad altri *payload* è la possibilità di bersagliare anche neoplasie che esprimono scarsamente l'antigene *target* [160]. Oltre a ciò, questi agenti si sono dimostrati più potenti come citotossici rispetto agli inibitori delle tubuline [165] [166]. Le tre molecole principali facenti parti di questo gruppo sono la calicheamicina, le pirrolobenzodiazepine (PBD) e la duobamicina idrossibenzammide-azaindolo (DUBA). La prima si lega al DNA inducendo direttamente rottura a doppio filamento, la seconda inducendo dei legami crociati intra-catena e impedendo la trascrizione del DNA, la terza agendo come agente alchilante. Di queste tre, finora solo le prime due sono state effettivamente approvate [167-171]. Gli inibitori della topoisomerasi I, agendo sul suddetto enzima, vanno invece ad inibire duplicazione e trascrizione del DNA, determinandone la rottura e quindi alla fine apoptosi cellulare [172]. All'interno di questa classe sono compresi SN38 e DXd, di cui il primo rappresenta il metabolita attivo dell'irinotecano e il secondo un derivato dell'esatecano. DXd, in particolare, non solo presenta un'attività citotossica circa 10 volte superiore quella di SN38, ma anche una miglior idrofilia, minor emivita e un potente effetto *bystander*. Sebbene la citotossicità degli inibitori della topoisomerasi I sia leggermente inferiore a quella degli agenti danneggianti il DNA, l'utilizzo di specifici *linker* permette di

raggiungere una DAR (vedi oltre) più elevata, miglior stabilità nell'organismo e un maggior effetto *bystander*. Per questo motivo, gli inibitori della topoisomerasi I rappresentano la classe di *payload* più promettenti [160]. Le tossine batteriche rappresentano una categoria di citotossici meno utilizzata, vista l'elevata immunogenicità. Tra queste si ricordi l'esotossina A di *P. aeruginosa* (PEA), che induce la rottura del coenzima NAD in nicotinammide e adenosina difosfato ribosio, di cui quest'ultimo si lega al fattore di elongazione 2 (EF-2), determinando così l'inibizione della traduzione degli mRNA e quindi alla fine l'apoptosi cellulare [173-175]. Infine, resta da trattare la classe dei fotosensibilizzanti, anch'essa più secondaria rispetto alle altre. Il principio alla base del loro funzionamento è lo stesso della terapia fotodinamica, per cui si va innanzitutto a somministrare una sostanza fotosensibilizzante che, dopo essersi accumulata all'interno delle cellule bersaglio, viene colpita da un fascio di luce a specifica lunghezza d'onda (650-1100 nm). Ciò determina l'eccitamento della sostanza in questione, che trasferisce poi l'energia all'O₂ presente all'interno della cellula. Si formano così specie reattive dell'ossigeno che, creando stress ossidativo, portano a morte cellulare [176-178]. Un esempio di principio attivo compreso in questa categoria è IRDye® 700DX [179]. Le caratteristiche del *payload* negli ADC sono riassunte nella Figura 4.

Figura 4 – Caratteristiche essenziali del *payload* negli ADC



Poco sopra è stato accennato al concetto di “DAR”, acronimo che sta per “*Drug-to-Antibody Ratio*”, a indicare il numero medio di citotossici legati ad un singolo anticorpo monoclonale. L'importanza di questo valore è sia in termini farmacocinetici che farmacodinamici: un'alta DAR equivale a breve emivita (quindi cicli di terapia più ravvicinati) ed elevata potenza citotossica [180]. Questo parametro deve comunque rimanere entro un intervallo prestabilito (2-8), così da evitare interferenze con la distribuzione nell'organismo e l'attività terapeutica del farmaco [162] [181].

Per ultimo, vale la pena accennare alla tecnologia di accoppiamento tra anticorpo monoclonale e agente citotossico, che ne determinerà la DAR e con essa i parametri farmacocinetici e farmacodinamici. Questo legame tra le due componenti può essere sito-specifico o non-sito-specifico [160]. Nel primo caso, si opera l'ingegnerizzazione dell'anticorpo tramite l'aggiunta di gruppi funzionali (come cisteina o amminoacidi non naturali) in una posizione precisa dello stesso [182], cosa che aumenta stabilità ed efficacia del farmaco e ne amplia la finestra terapeutica [160]. Nel secondo caso, invece, si sfruttano dei residui di lisina o cisteina presenti sull'anticorpo come siti reattivi per il legame col citotossico [144]. Sebbene questa tecnica sia più svantaggiosa rispetto alla prima (cosa che porta a maggiori tossicità), ancora oggi è la più utilizzata nella produzione degli ADC [160].

3.3 Antigeni specifici

Nell'ambito dei bersagli verso cui gli ADC sono diretti, come anche per tutti gli altri farmaci mirati, idealmente l'antigene *target* dovrebbe essere altamente espresso dalle cellule tumorali e minimamente (o per nulla) espresso dalle cellule normali [183] [184]. Inoltre, per garantire l'efficacia e la sicurezza in termini di effetti indesiderati, l'antigene dovrebbe non essere secreto, essere efficientemente endocitato una volta legato dall'anticorpo monoclonale e possedere un ruolo chiave nelle vie di segnalazione intracellulari [185] [186]. Nella pratica, i principali fattori bersagliati dagli ADC finora approvati sono CD19, CD22 e CD30 in ambito ematologico e EGFR, HER2 (già trattati sopra), TROP2, Nectina-4, FR α e il fattore tissutale in ambito oncologico [160]. TROP2, acronimo di “*Trophoblastic cell*

surface antigen 2” è una glicoproteina di membrana coinvolta nella proliferazione cellulare e, quando iperespressa dalle cellule neoplastiche, nel processo di invasione [187]. Nectina-4 è una proteina transmembrana che gioca un ruolo cruciale nell’adesione intercellulare, nel rimodellamento del citoscheletro di actina e nell’induzione della transizione epitelio-mesenchimale [188]. FR α (*Folate Receptor Alpha*) è una proteina ritrovabile sia in forma transmembrana che in forma libera intracellulare. Nel primo caso svolge il compito di recettore per il folato, legando lo stesso e permettendone l’internalizzazione nella cellula. Nel secondo caso, invece, funziona da fattore di trascrizione per geni coinvolti nella proliferazione e nella metastatizzazione [189] [190]. Infine, il fattore tissutale, che corrisponde ad una glicoproteina transmembrana legante i fattori della coagulazione VII e X e stimolante dunque la via estrinseca della cascata coagulativa. Oltre a ciò, il fattore tissutale è implicato in processi quali angiogenesi, rilascio di metalloproteasi e attivazione piastrinica [160].

3.4 Meccanismo d’azione

Come ampiamente descritto sopra, ogni componente della struttura degli ADC ha un ruolo fondamentale nell’assicurare la cinetica e la dinamica del farmaco. In particolare, l’anticorpo monoclonale assicura la selettività verso un dato antigene, che deve essere espresso dalle cellule tumorali e, idealmente, da nessun’altra cellula [132] [183] [184]. Durante la fase di distribuzione che segue la somministrazione del principio attivo, questo deve rimanere stabile nel torrente circolatorio e non modificarsi in alcun modo, pena una minor efficacia terapeutica a fronte di maggiori tossicità. Per garantire ciò, sia la porzione anticorpale, che il *linker*, che il *payload* devono possedere una struttura chimica adatta all’interazione con le altre componenti del farmaco e con l’ambiente plasmatico, appunto. In questo senso, il *linker* gioca un ruolo centrale [191] [192]. Una volta che il complesso arriva a destinazione, l’anticorpo monoclonale si lega all’antigene *target*, che tipicamente corrisponde ad una proteina transmembrana. Già con questo legame l’ADC mostra parte della propria attività farmacologica, andando ad inibire la funzionalità del recettore in questione (grazie al dominio Fab) e attivando meccanismi immunitari quali ADCC, ADCP e CDC (grazie al dominio Fc) [193-197]. Dopo il legame farmaco-antigene segue dunque l’internalizzazione per endocitosi dell’intero

complesso macromolecolare, incluso in un endosoma che, da precoce, evolve in tardivo, fondendosi alla fine con un lisosoma. A questo punto avviene il rilascio del citotossico, mediante clivaggio del *linker* o semplice degradazione della porzione anticorpale. Il *payload* si dirige dunque verso il proprio recettore che, nella maggior parte dei casi, è rappresentato da tubuline, DNA o topoisomerasi I [198] [199]. A parte l'effetto citotossico diretto, alcuni ADC esibiscono un ulteriore meccanismo d'azione, denominato "effetto *bystander*". Questo si basa sulla diffusione passiva dell'agente citotossico verso le cellule vicine alla cellula primariamente *targettata*, che possono ipoesprimere l'antigene bersaglio. Ciò permette di distruggere non solo le cellule tumorali più sensibili (antigene-positive), ma anche quelle che si mostrano più resistenti (antigene-negative) [200], andando inoltre a modificare lo stesso microambiente tumorale [201]. Basandosi su di un meccanismo di trasporto passivo, questo effetto è direttamente dipendente dalla capacità del *payload* di attraversare o meno le membrane biologiche [160]. La classe di agenti citotossici che mostra il più potente effetto *bystander* è quella degli inibitori della topoisomerasi I, come SN38 e DXd [202].

3.5 Generazioni

Gli ADC possono essere distinti in quattro generazioni, in base alle caratteristiche chimico-strutturali dei tre componenti fondamentali: anticorpo monoclonale, *linker* e agente citotossico [160].

Al principio, la I generazione si fondava sull'impiego di anticorpi murini e classici agenti citotossici, legati tra loro attraverso un *linker* non clivabile [161]. Queste molecole sin da subito sono risultate inefficienti, a causa dell'elevata immunogenicità della porzione anticorpale e della scarsa efficacia del *payload* [203]. Si passa dunque all'utilizzo di anticorpi umanizzati e citotossici non convenzionali (molto più potenti degli altri), da cui nasce Gemtuzumab Ozogamicin, il primo ADC ad essere approvato (2000), indicato nel trattamento della leucemia mieloide acuta dell'adulto [204] [205].

La II generazione risolve diverse criticità presenti nella I, ad esempio aumentando la stabilità plasmatica del farmaco e migliorandone la DAR. Oltre a ciò, con la II generazione vengono introdotti anche anticorpi completamente umani e nuovi

citotossici, ancora più potenti dei precedenti. Anche questa generazione non è comunque scevra da problematiche, che hanno a che vedere con gli effetti *off-target*, la distribuzione eterogenea nell'organismo (dovuta alle tecniche di accoppiamento non-sito-specifiche) e la non ancor ottimale stabilità plasmatica [162] [206]. Gli ADC oggi utilizzati compresi nella II generazione sono Brentuximab Vedotin, Inotuzumab Ozogamicin, Belantamab Mafodotin e Trastuzumab Emtansine [160].

Viene quindi introdotta una III generazione, che comprende ADC con una DAR di 2 o 4, prodotti attraverso una tecnologia di accoppiamento sito-specifica e basati su anticorpi completamente umani e, in alcuni casi, *linker* idrofilici. Tutte queste caratteristiche concorrono a migliorare il profilo di tossicità *off-target*, l'immunogenicità e l'efficacia generale del farmaco [207] [208]. Gli ADC oggi utilizzati compresi nella III generazione sono Polatuzumab Vedotin, Loncastuximab Tesirine, Enfortumab Vedotin, Tisotumab Vedotin e Mirvetuximab Soravtansine [160].

Per ultima, la IV generazione, introdotta nel 2019 con l'approvazione di Trastuzumab Deruxtecan. Una delle novità sta innanzitutto sulla DAR, che viene portata fino a valori vicini a 8, oggi considerato il limite massimo. Ciò rende chiara la potentissima attività antineoplastica esplicita da questi farmaci, caratterizzati inoltre da un'elevatissima specificità d'azione. Di contro, la stabilità plasmatica ancora risulta non del tutto efficiente, cosa che spiega gli effetti indesiderati [209] [210]. Gli ADC oggi utilizzati compresi nella IV generazione sono Trastuzumab Deruxtecan, Sacituzumab Govitecan e Datopotamab Deruxtecan [160] [244].

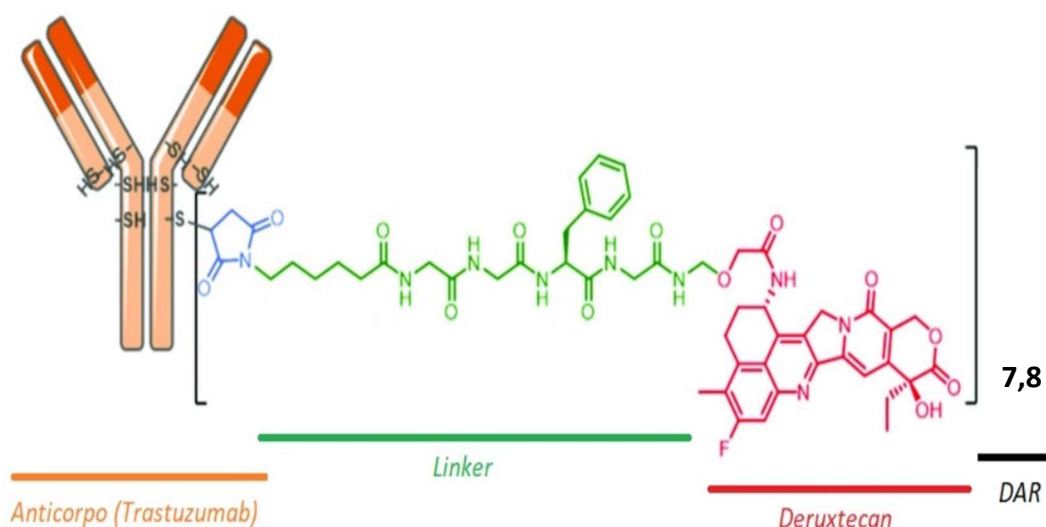
Visti gli interessi attuali della ricerca, le future generazioni potrebbero presentare delle novità sorprendenti in termini di struttura e farmacodinamica, il tutto volto ovviamente ad aumentare il profilo di efficacia e limitare quello di tossicità. Sono già in corso sperimentazioni per lo studio e l'introduzione di ADC che bersagliano proteine mutanti (esprese esclusivamente dalle cellule tumorali), ADC costituiti da anticorpi bi-specifici o da due diversi agenti citotossici, ADC che non necessitano di internalizzazione nella cellula e, addirittura, una nuova categoria farmacologica: i PDC (*Peptide-Drug Conjugates*) [160].

3.6 Trastuzumab Deruxtecan

3.6.1 Generalità

Trastuzumab Deruxtecan (Enhertu) è un ADC di IV generazione approvato con iter accelerato dalla FDA il 20 Dicembre 2019 e dall'EMA il 18 Gennaio 2021 per il trattamento del carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico in pazienti che hanno ricevuto almeno due linee di terapia anti-HER2 [211]. T-DXd è il primo farmaco di IV generazione ad essere introdotto sul mercato, generazione che, si ricordi, tra le novità presenta sicuramente una DAR molto maggiore rispetto a quella delle categorie precedenti (vedi oltre). Vista l'efficacia e il buon profilo di tollerabilità, negli anni successivi si sono susseguiti vari altri studi su T-DXd, che ne hanno portato all'ampliamento delle indicazioni sia sul tumore della mammella (di cui ha anche rivoluzionato il sistema classificativo) che su altre neoplasie solide. Per tali ragioni, ad oggi Trastuzumab Deruxtecan rappresenta uno degli ADC di maggior interesse nella pratica clinica, tanto da essere tuttora in corso nuovi studi. Da un punto di vista strutturale, T-DXd è costituito da un anticorpo monoclonale umanizzato del tipo IgG1 (Trastuzumab), collegato all'agente citotossico (Deruxtecan, analogo dell'esatecano – famiglia delle camptotecine) per mezzo di un *linker* clivabile tetrapeptidico (Gly–Gly–Phe–Gly). La DAR è la più alta tra tutti gli ADC, con una media di 7.8 molecole di citotossico ogni molecola anticorpale [212].

Figura 5 – Struttura di Trastuzumab Deruxtecan



3.6.2 Farmacocinetica

Trastuzumab Deruxtecan viene somministrato ogni 21 giorni mediante infusione endovenosa della durata di 90 minuti, per quanto riguarda la prima somministrazione. Se questa viene ben tollerata, le successive verranno erogate a velocità maggiore, con durata di 30 minuti. La dose standard è di 5.4 mg/Kg, scalabile a 4.4 mg/Kg (prima riduzione di dose) o 3.2 mg/Kg (seconda riduzione di dose) in caso di tossicità o compromissione delle condizioni cliniche. Qualora fosse necessaria un'ulteriore riduzione, è mandatoria l'interruzione del trattamento [213].

Al dosaggio iniziale, una volta in circolo la C_{max} (massima concentrazione plasmatica) si attesta a 122 µg/mL per il T-DXd e 4.4 ng/mL per il DXd, con una AUC (*Area Under the Curve*) di 735 µg/die/mL e 28 ng/die/mL [212] e un volume di distribuzione nei compartimenti centrali di 2.77 L e 27.4 L rispettivamente [213] [214]. Diversi studi [215-218] hanno dimostrato che, grazie alla stabilità del *linker*, il rilascio di DXd nel plasma è minimo, come anche è molto inferiore il tasso di rilascio di DXd rispetto a quello di DM1 (2.1% vs 18.4% dopo 21 giorni). Uno di questi [217] ha poi mostrato quanto la distribuzione di T-DXd sia tumore-specifica, con livelli di DXd nelle cellule neoplastiche di cinque volte superiori rispetto a quelli nelle cellule sane. Il legame con le proteine plasmatiche è risultato elevato (pari al 97%) [214], mentre sul metabolismo si è visto che questo avviene primariamente nel fegato (ad opera del CYP3A4) per il DXd e nei lisosomi per la porzione anticorpale, che viene degradata in peptidi e amminoacidi dopo l'internalizzazione nella cellula. Infine, per quanto riguarda l'eliminazione, lo stesso ha evidenziato che la velocità di *clearance* dal plasma in pazienti con carcinoma mammario metastatico HER2+ è pari a 0.42 L/die e 19.2 L/h per T-DXd e DXd rispettivamente, cosa che minimizza la tossicità *off-target* [215] [217]. Dopo la metabolizzazione epatica, DXd viene finalmente escreto soprattutto attraverso la via biliare, ritrovandosi dunque sottoforma di metaboliti inattivi nelle feci [215] [217]. L'emivita al terzo ciclo di somministrazione si attesta approssimativamente a 7 giorni [214].

3.6.3 Farmacodinamica

Le componenti farmacologicamente attive di Trastuzumab Deruxtecan sono la porzione anticorpale (Trastuzumab) e l'agente citotossico (DXd). Trastuzumab bersaglia il recettore di membrana HER2, andando innanzitutto ad inibirne le vie di segnalazione intracellulari e, quindi, antagonizzando processi come proliferazione e sopravvivenza cellulare, con conseguente apoptosi [212]. Oltre a ciò, grazie al dominio Fc, vengono attivati meccanismi immunitari quali ADCC, ADCP e CDC [193-197]. Il vero punto di forza di questo farmaco, però, è il *payload*. Grazie alla selettività d'azione (garantita dall'anticorpo monoclonale) e alla stabilità plasmatica (garantita dal *linker*), questo viene rilasciato per la maggior parte solo una volta che il farmaco è stato internalizzato nella cellula neoplastica. Come sopra riportato, ciò avviene grazie ad un meccanismo di endocitosi mediata da recettore, a cui segue la fusione col lisosoma, entro cui avviene la degradazione della componente anticorpale e il clivaggio proteolitico del *linker*, processo mediato dalla catepsina B lisosomiale. A questo punto, DXd si ritrova in forma libera all'interno della cellula, dove agisce da inibitore della topoisomerasi I. In questo modo, vengono bloccate duplicazione e trascrizione del DNA, che sviluppa quindi un danno irreversibile, risultante nell'apoptosi della cellula tumorale. Sebbene presenti attività simile a quella del classico irinotecano, DXd mostra una potenza ben più alta dello stesso, tanto da poter essere potenzialmente utilizzato anche in neoplasie irinotecano-resistenti [216] [219] [220]. Un fenomeno importante che spiega tale efficacia è l'effetto *bystander*, ampiamente visibile per Trastuzumab Deruxtecan grazie alle caratteristiche chimico-strutturali del DXd, che ne permettono l'attraversamento delle membrane cellulari e quindi l'azione anche all'interno di cellule vicine a quella effettivamente *targettata* [221]. Infine, uno studio [222] sembra aver mostrato anche un certo *enhancement* dell'attività antineoplastica relativa al sistema immunitario da parte di T-DXd. In particolare, il suddetto studio ha evidenziato un aumento dei livelli di espressione dei marcatori corrispondenti alle cellule dendritiche, MHC di classe I nelle cellule tumorali e un aumento della risposta adattativa verso la neoplasia.

3.6.4 Studi DESTINY-Breast

Gli studi DESTINY-Breast rappresentano un gruppo di 15 *trial* clinici volti a valutare diversi parametri riferiti a Trastuzumab Deruxtecan, parametri riguardanti in particolare la farmacocinetica, farmacodinamica, efficacia terapeutica ed effetti indesiderati. Di questi 15 studi solo 4 sono stati effettivamente completati, altri sono già stati pubblicati ma tuttora attivi, altri ancora devono ancora essere pubblicati. Prima di arrivare al DESTINY-Breast01 (che corrisponde ad uno studio di fase II), sono stati comunque effettuati studi di fase I, di cui il principale è denominato “DS-8201-A-J101”. Tra i risultati, il suddetto *trial* ha permesso di individuare la posologia di partenza per tutti i successivi DESTINY-Breast (5.4 mg/Kg, utilizzata anche nella pratica clinica come dose standard). Altra scoperta di centrale importanza, lo studio DS-8201-A-J101 è stato il primo a mettere in luce uno degli effetti indesiderati più severi di T-DXd: l’interstiziopatia polmonare [223] [224].

Lo studio DESTINY-Breast01 [115] è un *trial* clinico di fase II multicentrico, *single-arm, open-label* – pubblicato il 13 Febbraio 2020 – che ha portato all’approvazione accelerata da parte dell’FDA di Trastuzumab Deruxtecan per il trattamento del carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico (Dicembre 2019). Lo studio ha coinvolto 184 pazienti, già trattate con almeno due terapie anti-HER2, di cui una con Trastuzumab Emtansine. La dose utilizzata è quella *standard* di 5.4 mg/Kg, con somministrazione a cadenza trisettimanale. Il *follow up* mediano si attesta a 26.5 mesi. Dallo studio sono emersi risultati sorprendenti, che hanno portato appunto alla commercializzazione del farmaco già dopo la fase II. In particolare, nelle pazienti sottoposte a T-DXd lo studio ha riportato un ORR (*Objective Response Rate*) del 62.0% (95% CI 54.5-69.0), una DOR (*Duration Of Response*) mediana di 18.2 mesi (95% CI 15.0-non valutabile), una PFS (*Progression Free Survival*) mediana di 19.4 mesi (95% CI 14.1-25.0) e una OS (*Overall Survival*) mediana di 29.1 mesi (95% CI 24.6-36.1). Risultati consistenti sono stati osservati sia in pazienti con metastasi cerebrali (n = 24, PFS = 18.1 mesi, 95% CI 6.7-18.1) che in pazienti senza metastasi cerebrali (n = 160, PFS = 16.4 mesi, 95% CI 12.7-non valutabile). Sul profilo di sicurezza, lo stesso studio ha riportato effetti indesiderati di severità almeno G3 nel 53.8% dei pazienti trattati. I principali sono stati astenia, nausea, vomito, diarrea, stipsi,

alopecia, anoressia, neutropenia e anemia. 29 pazienti (15.8% del totale) hanno inoltre sviluppato interstiziopatia polmonare, di cui 5 (2.7% del totale) sono morti per la stessa.

Lo studio DESTINY-Breast02 [225] è un *trial* clinico di fase III multicentrico, *head-to-head, open-label* – pubblicato il 19 Aprile 2023 – che ha confermato in via definitiva i risultati ottenuti dal precedente studio DESTINY-Breast01, dimostrando la superiorità di Trastuzumab Deruxtecan sopra alcune terapie *standard* usate fino a quel momento nel carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico. Lo studio ha coinvolto 608 pazienti, già trattate precedentemente con Trastuzumab Emtansine, ognuna delle quali è stata *randomizzata* (2:1) ad uno dei due bracci dello studio. Come è ovvio, il braccio di trattamento è rappresentato dalle pazienti sottoposte a T-DXd (406 in tutto), il braccio di controllo da quelle sottoposte a Capecitabina + Trastuzumab o Capecitabina + Lapatinib (202 in tutto). La dose utilizzata è quella *standard* di 5.4 mg/Kg a cadenza trisettimanale per T-DXd, 1250 mg/m² (nel primo caso) o 1000 mg/m² (nel secondo caso) due volte al giorno nei giorni 1-14 per la Capecitabina orale, 8mg/Kg (primo ciclo, poi 6 mg/Kg nei successivi) per Trastuzumab e 1250 mg una volta al giorno nei giorni 1-21 per Lapatinib. Il *follow up* mediano si attesta a 21.5 mesi (95% CI 15.2-28.4) per il braccio di trattamento e 18.6 mesi (95% CI 8.8-26.0) per il braccio di controllo. L'*endpoint* primario considerato è la PFS mediana, che è risultata di 17.8 mesi (95% CI 14.3-20.8) per T-DXd e 6.9 mesi (95% CI 5.5-8.4) per gli altri due regimi di trattamento (HR = 0.36, 95% CI 0.28-0.45, $p < 0.001$). Anche i dati sugli effetti indesiderati relativi a T-DXd sono concordi con quanto riportato da studi precedenti. A differenza del DESTINY-Breast01, qui è stato possibile avere un confronto diretto con altri farmaci: in particolare, tra le tossicità più comuni si ricordino nausea (73% per T-DXd vs 37% per gli altri), vomito (38% vs 13%), diarrea (27% vs 54%), astenia (36% vs 27%), alopecia (37% vs 4%) e eritrodisestesia palmo-plantari (2% vs 51%). Eventi di grado 3 o superiore sono stati osservati nel 53% delle pazienti sottoposte a T-DXd contro il 44% di quelle sottoposte a Capecitabina + Trastuzumab o Capecitabina + Lapatinib. Un dato importante rimane l'incidenza di ILD, attestata al 10% nel gruppo di trattamento e < 1% nel gruppo di controllo.

Lo studio DESTINY-Breast03 [226] è un *trial* clinico di fase III multicentrico, *head-to-head*, *open-label* – pubblicato il 24 Marzo 2022 – che ha dimostrato la superiorità di Trastuzumab Deruxtecan sopra Trastuzumab Emtansine per il trattamento del carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico. Lo studio ha coinvolto 524 pazienti, già trattate precedentemente con Trastuzumab e un taxano, ognuna delle quali è stata *randomizzata* ad uno dei due bracci dello studio. Come per il DESTINY-Breast02, anche qui il braccio di trattamento è rappresentato dalle pazienti sottoposte a T-DXd (261 in tutto), il braccio di controllo da quelle sottoposte a T-DM1 (263 in tutto). La dose utilizzata è quella standard di 5.4 mg/Kg per T-DXd e 3.6 mg/Kg per T-DM1, con somministrazione a cadenza trisettimanale. In tutto sono state effettuate due analisi: la prima dagli stessi investigatori del DESTINY-Breast03 [226], la seconda come analisi *ad interim* da Hurvitz *et al.* [227] nel 2023. Partendo dalla prima, il *follow up* mediano si attesta a 16.2 mesi per T-DXd e 15.3 mesi per T-DM1 (HR = 0.28, 95% CI 0.22-0.37, $p < 0.001$), con una PFS mediana di 25.1 mesi e 7.2 mesi rispettivamente (HR = 0.26, 95% CI 0.20–0.35, $p < 0.001$). Nella seconda, invece, il *follow up* mediano si attesta a 28.4 mesi per T-DXd e 26.5 mesi per T-DM1 (HR = 0.33, 95% CI 0.26-0.43, $p < 0.001$), con una PFS mediana di 28.8 mesi (95% CI 22.4–37.9) e 6.8 mesi (95% CI 5.6-8.2) rispettivamente. Questa seconda analisi ha inoltre riportato un ORR del 79.0% (95% CI 73.1-83.4) e del 35% (95% CI 29.2-41.1) rispettivamente nel braccio di trattamento e nel braccio di controllo. Sulle metastasi cerebrali, lo studio DESTINY-Breast03 ha mostrato una PFS mediana di 15.0 mesi per le pazienti trattate con T-DXd, contro i 5.7 mesi di quelle trattate con T-DM1. Simili i risultati dell'analisi eseguita da Hurvitz *et al.*, con PFS mediana di 15.0 mesi per T-DXd e appena 3.0 mesi per T-DM1 in pazienti con ripetizioni cerebrali stabili al basale. Sempre in questo sottogruppo, l'ORR si attesta al 67.4% e al 20.5% rispettivamente. Tutto ciò mostra chiaramente, come già detto, la superiorità di Trastuzumab Deruxtecan sopra Trastuzumab Emtansine. Sebbene poi entrambi i farmaci siano associati ad una buona qualità di vita, per T-DXd si è osservato un tempo di deterioramento delle condizioni cliniche più lungo rispetto a T-DM1, come anche il tempo di prima ospedalizzazione è tre volte più lungo per il primo rispetto al secondo [228]. Infine, riguardo agli effetti collaterali, entrambe le analisi

hanno confermato ciò che era stato già riportato dai precedenti studi. Sulla ILD, in particolare, è stata segnalata un'incidenza del 10.5% dallo studio di Cortés *et al.*, percentuale salita al 15% dopo l'analisi *ad interim* di Hurvitz *et al.*.

Lo studio DESTINY-Breast04 [106] è un *trial* di fase III multicentrico, *head-to-head, open-label* – pubblicato il 7 Luglio 2022 – che ha dimostrato la superiorità di Trastuzumab Deruxtecan sopra la chemioterapia tradizionale per il trattamento del carcinoma mammario HER2-*low* non resecabile o metastatico. L'HER2-*low*, in particolare, rappresenta un nuovo gruppo biomolecolare corrispondente ad un HER2 1+ o HER2 2+ (con FISH negativa) secondo l'analisi immunoistochimica, fino a quel momento considerati come HER2-. Lo studio ha coinvolto 557 pazienti, già trattate precedentemente con almeno una linea di chemioterapia per malattia metastatica, ognuna delle quali è stata *randomizzata* (2:1) ad uno dei due bracci dello studio. Di queste pazienti, 494 (88.7%) avevano una malattia HR+, mentre 63 (11.3%) HR-. Anche in questo caso, ovviamente il braccio di trattamento è rappresentato dalle pazienti sottoposte a T-DXd (373 in tutto), il braccio di controllo da quelle sottoposte a chemioterapia tradizionale (184 in tutto) a base di Eribulina (51.1%), Capecitabina (20.1%), Nab-Paclitaxel (10.3%), Gemcitabina (10.3%) o Paclitaxel (8.2%). Delle 373 pazienti randomizzate al T-DXd e delle 184 randomizzate alla chemioterapia, rispettivamente 331 (88.7%) e 163 (88.6%) presentavano una neoplasia HR+. Il *follow up* mediano si attesta a 18.4 mesi (95% CI, 17.7-18.9). Gli *endpoint* primari sono stati PFS, OS e ORR. Riguardo alla PFS mediana, nella coorte di pazienti ormono-sensibili questa si attesta a 10.1 mesi (95% CI 9.5-11.5) per quelle trattate con T-DXd e 5.4 mesi (95% CI 4.4-7.1) in quelle trattate con chemioterapia *standard* (HR = 0.51, 95% CI 0.40-0.64, $p < 0.001$), mentre nella corte ormono-resistente si attesta a 8.5 mesi (95% CI 4.3-11.7) vs 2.9 mesi (95% CI 1.4-5.1) rispettivamente (HR = 0.46, 95% CI 0.24-0.89). Considerando tutte le pazienti, la PFS mediana scende a 9.9 mesi (95% CI 9.0-11.3) per il braccio di trattamento e 5.1 mesi (95% CI 4.2-6.8) per il braccio di controllo (HR = 0.50, $p < 0.001$). Riguardo all'OS, nelle pazienti ormono-sensibili corrisponde a 23.9 mesi (95% CI 20.8-24.8) per il braccio di trattamento e a 17.5 mesi (95% CI 15.2-22.4) per il braccio di controllo (HR = 0.64, 95% CI 0.48-0.86, $p = 0.003$), mentre nelle ormono-resistenti corrisponde a 18.2 mesi (95% CI 13.6-

non valutabile) vs 8.3 mesi (95% CI, 5.6-20.6) rispettivamente (HR = 0.48, 95% CI 0.24-0.95). Considerando tutte le pazienti, l'OS si modifica a 23.4 mesi (95% CI 20.0-24.8) vs 16.8 mesi (95% CI 14.5-20.0) rispettivamente (HR = 0.64, 95% CI 0.49-0.84, $p = 0.001$). Infine, per quanto concerne l'ORR, nella coorte ormono-sensibile si attesta a 52.6% (95% CI 47.0-58.0) nel gruppo sottoposto a T-DXd e a 16.3% (95% CI 11.0-22.8) nell'altro. Di questa coorte, 12 pazienti (3.6%) e 1 paziente (0.6%) rispettivamente sono andate in contro a risposta completa, mentre 26 (7.8%) e 35 (21.%) rispettivamente hanno avuto una progressione di malattia come BR. Riguardo alla coorte ormono-resistente, invece, l'ORR corrisponde a 50.0% (95% CI 33.8-66.2) per il braccio di trattamento e 16.7% (95% CI 3.6-41.4) per il braccio di controllo. Considerando tutte le pazienti, infine, è stata riportata una ORR del 52.3% (95% CI 47.1-57.4) vs 16.3% (95% CI 11.3-22.5). Sugli effetti indesiderati, rispetto al totale lo studio DESTINY-Breast04 prende in considerazione 371 pazienti sottoposte a T-DXd e 172 sottoposte a chemioterapia *standard*. Quasi la totalità (99.5% e 98.3% rispettivamente) delle pazienti ha manifestato (o ha riferito peggioramento) almeno un evento avverso dopo l'inizio del trattamento, fino a 47 giorni dopo l'ultima dose. L'incidenza di tossicità di grado 3 o superiore si attesta al 52.6% nel primo gruppo e al 67.4% nel secondo. Il 16.2% delle pazienti del gruppo di trattamento ha sviluppato reazioni che hanno richiesto sospensione del farmaco, mentre il 22.6% reazioni che hanno richiesto una riduzione di dose, contro l'8.1% e il 38.4% rispettivamente per il gruppo di controllo. Sugli eventi fatali, la percentuale è del 3.8% per il primo gruppo e 2.9% per il secondo. Riguardo alle morti associate a Trastuzumab Deruxtecán, tra le cause principali sono state annoverate ILD (2 pazienti, 0.5% del totale), colite ischemica, coagulazione intravascolare disseminata, dispnea, neutropenia febbrile e sepsi (1 paziente – 0.3% – ognuna), mentre nell'altro gruppo non sono state osservate morti *drug-related*. Sempre riguardo a T-DXd, gli eventi avversi principalmente riportati sono nausea (73.0%), astenia (47.7%) e alopecia (37.7%), tutti più frequenti rispetto al gruppo sottoposto a chemioterapia tradizionale (23.8%, 42.4%, 32.6% rispettivamente). Sulle tossicità di grado 3 o superiore, le più osservate sono neutropenia (13.7% vs 40.7%), anemia (8.1% vs 4.7%) e astenia (7.5% vs 4.7%). Per quanto riguarda gli effetti indesiderati più rari, invece, sono compresi

cardiotossicità (intesa come disfunzione del ventricolo sinistro) e interstiziopatia polmonare. Sulla prima, l'incidenza nel gruppo di trattamento è del 4.7%, con una severità tipicamente lieve (11.9% G2, 1.5% G3). Sulla seconda, invece, l'incidenza nelle pazienti sottoposte a T-DXd è del 12.1% (3.5% G1, 6.5% G2, 1.3% G3, 0.8% G5) con un tempo di insorgenza mediano di 129.0 giorni (*range* 26-710), mentre nelle pazienti trattate con chemioterapia standard l'incidenza è dello 0.6% (1 solo paziente in terapia con Eribulina, ILD G1).

Lo studio DESTINY-Breast05 [229] è un *trial* clinico di fase III multicentrico, *head-to-head, open-label* – pubblicato il 26 Febbraio 2026 – che ha dimostrato la superiorità di T-DXd sopra T-DM1 nell'aumento della iDFS in pazienti con residuo di malattia HER2+ ad alto rischio *post*-terapia neoadiuvante. Lo studio ha coinvolto 1635 pazienti con carcinoma mammario HER2+ in stadio precoce ad alto rischio che presentavano residuo di malattia *post*-terapia neoadiuvante a base di anti-HER2 e taxano, di cui 818 sono state *randomizzate* a T-DXd (braccio di trattamento) e 817 a T-DM1 (braccio di controllo). Il *follow up* mediano si attesta a circa 30.0 mesi per entrambi i bracci. L'*endpoint* primario analizzato è rappresentato dalla iDFS (*invasive Disease Free Survival*). Lo studio ha riportato eventi di malattia invasiva o morte in 51 pazienti (6.2%) del braccio di trattamento e in 102 (12.5%) del braccio di controllo (HR = 0.47, 95 CI = 0.34-0.66, $p < 0.001$), con una iDFS del 92.4% vs 83.7% rispettivamente. Per quanto riguarda gli effetti indesiderati, i risultati sono concordi con quanto mostrato negli altri studi DESTINY-Breast, ponendo anche qui una particolare attenzione sul rischio di sviluppare interstiziopatia polmonare.

Lo studio DESTINY-Breast06 [230] è un *trial* clinico di fase III multicentrico, *head-to-head, open-label* – pubblicato il 5 Dicembre 2024 – che ha dimostrato la superiorità di T-DXd sopra la chemioterapia tradizionale in pazienti con carcinoma mammario HR+/HER2-*low* o HER2-*ultralow* non resecabile o metastatico. Similmente all'HER2-*low*, l'HER2-*ultralow* rappresenta un nuovo gruppo biomolecolare corrispondente ad un HER2 compreso tra 0 e 1+ secondo l'analisi immunoistochimica, fino a quel momento considerati come HER2-. Lo studio ha coinvolto 866 pazienti – di cui 713 con neoplasia HER2-*low* e 153 HER2-*ultralow* – che avevano già eseguito almeno una linea di terapia endocrina e nessuna chemioterapia previa per malattia metastatica. Le suddette pazienti sono state

randomizzate con rapporto 1:1 a ricevere T-DXd o la chemioterapia tradizionale, andando poi ad analizzare la PFS delle pazienti HER2-*low* come *endpoint* primario e la PFS generale, OS e *safety* come *endpoint* secondari. Riguardo alle pazienti HER2-*low*, dallo studio è risultata una PFS mediana di 13.2 mesi per T-DXd e di 8.1 mesi per la chemioterapia (HR = 0.62, 95% CI = 0.52-0.75, $p < 0.001$), con risultati altrettanto consistenti anche per le pazienti HER2-*ultralow*. Per quanto riguarda gli effetti indesiderati, i risultati sono concordi con quanto mostrato negli altri studi DESTINY-Breast, ponendo anche qui una particolare attenzione sul rischio di sviluppare interstiziopatia polmonare.

Lo studio DESTINY-Breast11 [231] è un *trial* clinico di fase III multicentrico, *head-to-head*, *open-label* – pubblicato il 21 Ottobre 2025 – che ha dimostrato la superiorità di T-DXd associato THP (Paclitaxel + Trastuzumab + Pertuzumab) sopra al regime tradizionale ddAC-THP (Doxorubicina + Ciclofosfamide + Paclitaxel + Trastuzumab + Pertuzumab) come terapia neoadiuvante in pazienti con carcinoma mammario HER2+ in stadio precoce. Lo studio ha coinvolto 927 pazienti, che sono state *randomizzate* con rapporto 1:1:1 a ricevere T-DXd (286 pazienti, 30.9%), T-DXd-THP (321 pazienti, 34.6%) o ddAC-THP (320 pazienti, 34.5%). L'*endpoint* primario considerato è la pCR (*pathological Complete Response*), riscontrata nel 43.0% (n = 123) delle pazienti appartenenti al primo braccio, nel 67.3% (n = 216) di quelle appartenenti al secondo braccio e nel 56.3% (n = 180) di quelle appartenenti al terzo braccio. Andando poi a confrontare direttamente il secondo e terzo braccio, la differenza assoluta del tasso di pCR si attesta a 11.2% (95% CI 4.0%-18.3%, $p = 0.003$), con beneficio sia nelle pazienti HR+ che nelle HR-. Riguardo agli effetti indesiderati, dallo studio è emerso che eventi di grado 3 o superiore fossero più frequenti nelle pazienti sottoposte al classico schema ddAC-THP rispetto a T-DXd o T-DXd-THP, inclusa la tossicità cardiaca di ogni grado. Sorprendentemente, il tasso di interstiziopatia polmonare è basso (intorno al 5%) e simile in tutti e tre i gruppi.

Come sopra accennato, sono tuttora in corso vari altri studi DESTINY-Breast, tra cui uno particolarmente interessante e promettente sembra essere DESTINY-Breast15 [232], *trial* clinico di fase III multicentrico, *open-label*, *single-arm* – avviato il 30 Dicembre 2023 – volto valutare l'impiego di Trastuzumab Deruxtecan

in linee terapeutiche più precoci rispetto agli studi precedenti nel carcinoma mammario HER-*low* non resecabile o metastatico. La novità assoluta che questo studio porta con sé, comunque, non è tanto legata all'uso precoce di T-DXd nelle pazienti HER2-*low*, bensì l'inclusione nel suddetto anche di pazienti con livelli di espressione di HER2 valutati 0 all'immunoistochimica. Queste, all'attuale, vengono considerate di *default* come HER2- e quindi non possono in alcun modo beneficiare né dei classici farmaci anti-HER2 né di T-DXd.

3.6.5 Indicazioni

Allo stato attuale, Trastuzumab Deruxtecan è indicato per il trattamento del carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico in pazienti che hanno ricevuto almeno un regime di terapia a base di anti-HER2, per il trattamento del carcinoma mammario HER2-*low* e HER2-*ultralow* non resecabile o metastatico in pazienti che hanno ricevuto almeno una terapia endocrina per malattia metastatica e che non sono più considerati candidabili alla terapia endocrina o in pazienti che hanno ricevuto precedente chemioterapia per malattia metastatica o che hanno sviluppato recidiva della malattia entro 6 mesi dal completamento della chemioterapia adiuvante, oltre che per il trattamento del carcinoma polmonare non a piccole cellule HER2+ avanzato che richiede una terapia sistemica dopo una precedente chemioterapia a base di platino con o senza immunoterapia e per il trattamento del carcinoma gastrico o della giunzione gastroesofagea HER2+ avanzati in pazienti che hanno ricevuto un precedente regime a base di Trastuzumab [106] [116] [226].

3.6.6 Effetti indesiderati

Dagli studi DESTINY-Breast è emerso che le tossicità più frequenti insorte in corso di trattamento con Trastuzumab Deruxtecan siano la tossicità gastrointestinale (nausea, più raramente vomito, diarrea, stipsi), tossicità ematologica (neutropenia, anemia, più raramente piastrinopenia), astenia, anoressia e alopecia. Nella maggior parte dei casi, quando presenti, questi effetti non destano particolari preoccupazioni, mostrandosi con intensità lieve-moderata (G1-G2). Molto più raramente si arriva a forme di tossicità grave o molto grave (G3-G4) [106] [115] [225] [226]. Tra gli effetti indesiderati più rari si ricordi innanzitutto la ben nota cardiotossicità da

Trastuzumab, che tipicamente si mostra con alterazioni della meccanica cardiaca che conducono a scompenso cardiaco a frazione di eiezione ridotta. Vista la possibilità di danno miocardico, nelle pazienti in terapia con Trastuzumab dovrebbero essere valutati periodicamente i livelli sierici di troponina e NT-proBNP ed effettuati controlli ecocardiografici. La gestione dello stesso è di competenza cardiologica e prevede l'utilizzo di farmaci quali ACE-inibitori/sartani/ARNI, β -bloccanti, MRA e SGLT2-inibitori [233]. Oltre a questa, un altro effetto piuttosto raro ma potenzialmente fatale relativo a T-DXd è l'interstiziopatia polmonare (ILD). Ricordando l'estrema eterogeneità delle ILD, la forma più frequentemente associata a questo farmaco è quella di polmonite organizzativa, che si presenta tipicamente con severità moderata (G2). In caso la paziente lamentasse sintomi respiratori verrebbe indicata una HRTC, esame principe per la diagnosi di ILD. La gestione – che dovrebbe essere multidisciplinare – dipende dalla gravità della manifestazione: per forme lievi basta il semplice *follow up* e la sospensione temporanea di T-DXd, mentre per forme severe è necessario il ricovero ospedaliero, con terapia immunosoppressiva e sospensione definitiva del farmaco [234].

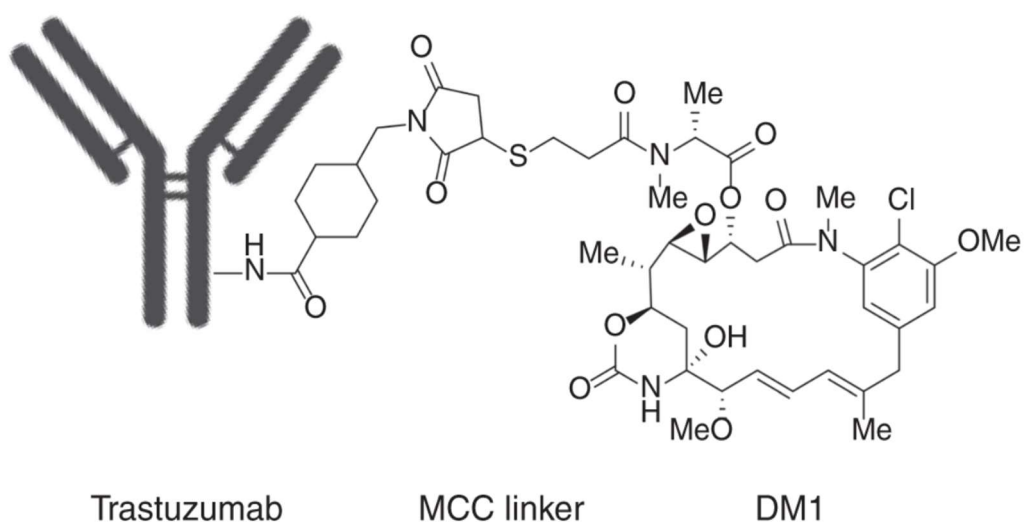
3.7 Altri ADC

Oltre a Trastuzumab Deruxtecan, all'attuale negli USA e in Europa sono disponibili altri dodici ADC. Di questi ultimi, sei vengono impiegati nel trattamento delle neoplasie ematologiche (Gemtuzumab Ozogamicin, Brentuximab Vedotin, Inotuzumab Ozogamicin, Polatuzumab Vedotin, Belantamab Mafodotin, Loncastuximab Tesirine) e sei in quello delle neoplasie solide (Trastuzumab Emtansine, Sacituzumab Govitecan, Enfortumab Vedotin, Mirvetuximab Soravtansine, Tisotumab Vedotin, Datopotamab Deruxtecan).

Trastuzumab Emtansine (Kadcyla) è un ADC di II generazione approvato dalla FDA e dall'EMA nel 2013 (il primo ADC per i tumori solidi) per il trattamento del carcinoma mammario HER2+ non resecabile o metastatico, poi esteso nel 2019 anche nel *setting* adiuvante della malattia in stadio precoce [235]. La struttura consta di un anticorpo umanizzato IgG1 coniugato con il DM1 per mezzo di un *linker* non clivabile, con una DAR media di 3.5 [236], come mostrato in Figura 6. La porzione anticorpale (Trastuzumab) bersaglia HER2, mentre DM1, facente parte

della classe dei maitansinoidi, funge da inibitore delle tubuline, causando arresto del ciclo cellulare in fase G2/M e inducendo infine l'apoptosi. Tra gli effetti indesiderati più comuni si ricordino tossicità gastrointestinale (nausea, stipsi, diarrea), tossicità ematologica (soprattutto neutropenia e piastrinopenia), astenia, anoressia, cefalea, *rash* cutaneo, epistassi ed elevazione degli indici di funzionalità epatica [237]. Altri più rari includono cardiotoxicità (scompenso cardiaco, ipertensione arteriosa, aritmie) [238], neurotossicità centrale (danni al nervo abducente) [239], sindrome mano-piede [240], versamento pleurico/pericardico [241], reazioni allergiche [242] ed interstiziopatia polmonare [243].

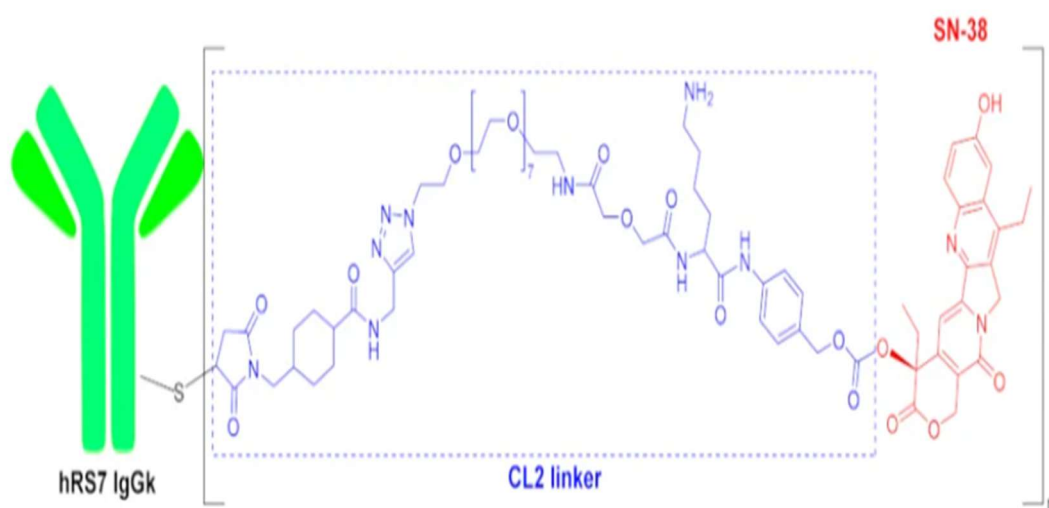
Figura 6 – Struttura di Trastuzumab Emtansine



Sacituzumab Govitecan (Trodelyv) è un ADC di IV generazione approvato dalla FDA nel 2020 e dall'EMA nel 2021 per il trattamento del carcinoma mammario triplo negativo non resecabile o metastatico in pazienti già sottoposte ad almeno due linee di terapia per malattia metastatica [210]. La struttura consta di un anticorpo umanizzato IgG1 coniugato con l'SN38 per mezzo di un *linker* clivabile, con una DAR media di 7.6 [244], come mostrato in Figura 7. La porzione anticorpale (Sacituzumab) bersaglia TROP2, mentre SN38, che corrisponde alla forma attiva dell'irinotecano, funge da inibitore della topoisomerasi I, causando arresto del ciclo cellulare in fase S e della trascrizione del DNA, inducendo infine l'apoptosi. SN38, grazie alle caratteristiche chimico-strutturali, può inoltre

attraversare le membrane cellulari ed esercitare l'azione citotossica anche nelle cellule vicine (effetto *bystander*). Studi clinici stanno valutando Sacituzumab Govitecan per il trattamento anche di altre neoplasie in stadio avanzato: tra queste, i carcinomi uroteliali sembrano mostrare particolare sensibilità [245]. Tra gli effetti indesiderati più comuni si ricordino tossicità gastrointestinale (nausea, stipsi, diarrea), tossicità ematologica (soprattutto neutropenia), astenia e alopecia [237]. Altri più rari includono reazioni allergiche [242], elevazione degli indici di funzionalità epatica [246] e edemi declivi [247].

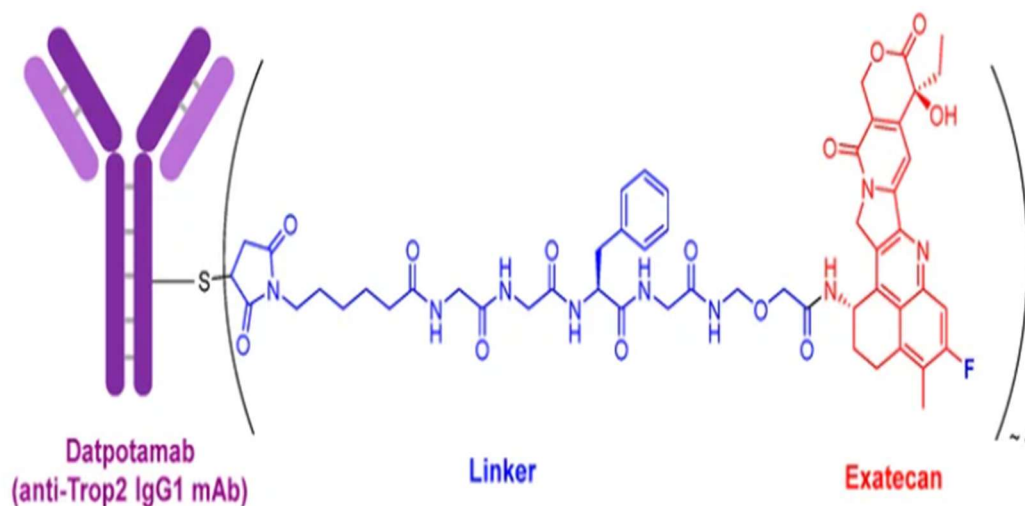
Figura 7 – Struttura di Sacituzumab Govitecan



Datopotamab Deruxtecan (Datroway) è un ADC di IV generazione approvato dalla FDA e dall'EMA nel 2025 per il trattamento del carcinoma mammario HR+/HER2– non resecabile o metastatico in pazienti già sottoposte a terapia endocrina ed almeno una linea di chemioterapia per malattia metastatica. Rappresenta dunque uno degli ultimi ADC ad essere stato immesso in commercio. La struttura consta di un anticorpo umanizzato IgG1 coniugato con il DXd per mezzo di un *linker* clivabile, con una DAR media di 4, come mostrato in Figura 8. La porzione anticorpale (Datopotamab) bersaglia TROP2, mentre DXd, come sopra riportato, funge da inibitore della topoisomerasi I, causando arresto del ciclo cellulare in fase S e della trascrizione del DNA, inducendo infine l'apoptosi. Resta fondamentale anche il potente effetto *bystander* associato al DXd [248].

Tra gli effetti indesiderati più comuni si ricordino tossicità gastrointestinale (mucositi, nausea, vomito, diarrea), tossicità ematologica, astenia e alopecia. Altri più rari includono reazioni allergiche, tossicità oculare (soprattutto xeroftalmia e cheratopatia) ed interstiziopatia polmonare [131] [249].

Figura 8 – Struttura di Datopotamab Deruxtecan



Per concludere, vale la pena fare qualche cenno sugli altri tre ADC approvati per il trattamento di alcune neoplasie solide: Enfortumab Vedotin, Mirvetuximab Soravtansine, Tisotumab Vedotin.

Enfortumab Vedotin (Padcev) è un ADC di III generazione approvato dalla FDA nel 2019 e dall'EMA nel 2022 per il trattamento del carcinoma uroteliale non resecabile o metastatico, in combinazione a Pembrolizumab come prima linea di terapia o in monoterapia per pazienti già trattati con chemioterapia a base di platino e immunoterapia con farmaci anti-PD1/PDL1. La struttura consta di un anticorpo completamente umano IgG1 (Enfortumab) – che bersaglia Nectina-4 – coniugato con MMAE – che funge da inibitore dei microtubuli. Tipicamente ben tollerato, tra gli effetti indesiderati principali si ricordino tossicità gastrointestinale (nausea, diarrea, disgeusia), tossicità cutanea (alopecia, *rash* cutaneo, secchezza cutanea), neuropatia sensoriale periferica, astenia e anoressia – con conseguente calo ponderale [250] [251].

Mirvetuximab Soravtansine (Elahere) è un ADC di III generazione approvato dalla FDA nel 2022 e dall'EMA nel 2024 per il trattamento del carcinoma ovarico sieroso di alto grado, della salpinge o peritoneale primitivo, positivo al recettore alfa dei folati (FR α) e platino-resistente in pazienti già trattate con almeno una linea di terapia sistemica. La struttura consta di un anticorpo umanizzato IgG1 (Mirvetuximab) – che bersaglia FR α – coniugato con DM4 – che funge da inibitore dei microtubuli. Tra gli effetti indesiderati principali si ricordino tossicità gastrointestinale (nausea, vomito, diarrea), tossicità ematologica (anemia, piastrinopenia), tossicità oculare (soprattutto alterazioni del *visus*, xerofthalmia e cheratopatia), tossicità cutanea (onicopatia), neuropatia sensoriale periferica, anoressia, astenia, cefalea e aumento degli indici di funzionalità epatica [252].

Tisotumab Vedotin (Tivdak) è un ADC di III generazione approvato dalla FDA nel 2021 e dall'EMA nel 2025 per il trattamento del carcinoma della cervice uterina recidivato o metastatico in progressione dopo terapia sistemica. La struttura consta di un anticorpo completamente umano IgG1 (Tisotumab) – che bersaglia il fattore tissutale – coniugato con MMAE – che appunto funge da inibitore dei microtubuli. Tra gli effetti indesiderati principali si ricordino tossicità oculare (soprattutto congiuntivite), tossicità gastrointestinale (nausea, diarrea), tossicità ematologica (anemia), tossicità cutanea (alopecia, *rash* cutaneo), neuropatia sensoriale periferica, astenia, anoressia ed epistassi [253] [254].

4. CARATTERISTICHE DELLO STUDIO

4.1 Obiettivi

L'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare in un *setting real-world* l'efficacia e la sicurezza (*safety*) di Trastuzumab Deruxtecan in pazienti con carcinoma mammario HER2+ o HER2-*low* in stadio avanzato seguite c/o la Clinica Oncologica dell'Università Politecnica delle Marche – Azienda Ospedaliero Universitaria delle Marche, tra Aprile 2021 e Aprile 2026.

4.2 Pazienti e metodi

Lo studio è monocentrico, osservazionale retrospettivo, *real-world*. Viste le indicazioni terapeutiche per T-DXd e gli obiettivi dello studio, sono state incluse pazienti affette da carcinoma mammario HER2+ o HER2-*low* non resecabile o metastatico che sono state sottoposte a trattamento con T-DXd in monoterapia dal 30/04/2021 al 30/04/2026. Sebbene il sesso non fosse un criterio di esclusione, l'intero campione è costituito da soggetti di sesso femminile. In totale, sono state arruolate 45 pazienti donne, di cui 21 con malattia HER2+ e 24 con malattia HER2-*low*.

Criteri di inclusione:

- Età ≥ 18 anni
- Diagnosi di carcinoma mammario HER2+ o HER2-*low* avanzato
- Trattamento con Trastuzumab Deruxtecan come da scheda tecnica del farmaco e secondo la rimborsabilità terapeutica prevista da AIFA
- Capacità a fornire consenso informato scritto al trattamento dei dati personali

Criteri di esclusione:

- Età < 18 anni
- Stato di HER2 0 o HER2-*ultralow* all'immunoistochimica
- Incapacità a fornire consenso informato scritto al trattamento dei dati personali

I dati di ogni paziente sono stati raccolti in maniera descrittiva attraverso un *database* in formato elettronico con il programma Excel, con particolare riguardo alla migliore risposta (– *Best Response* – BR), alla sopravvivenza libera da progressione (– *Progression Free Survival* – PFS), alla sopravvivenza globale (– *Overall Survival* – OS) e alla *safety* riferiti a T-DXd, dove la BR rappresenta la miglior risposta al trattamento registrata, la PFS rappresenta l'intervallo di tempo tra la data di inizio di T-DXd e la data della progressione di malattia, l'OS rappresenta l'intervallo di tempo tra la data della diagnosi iniziale/malattia metastatica e l'ultimo *follow up*/decesso.

La distribuzione di sopravvivenza è stata stimata con il metodo di *Kaplan-Meyer*, con valutazione della significatività statistica mediante il *log-rank test*. Per stabilire l'influenza dei diversi parametri considerati sulla PFS riferita a T-DXd e sulla OS è stata effettuata solo l'analisi univariata mediante il *Cox proportional Hazards model*. Da questa sono stati così ottenuti l'HR (*Hazard Ratio*) – che fornisce una stima dei rapporti di rischio – con il relativo intervallo di confidenza al 95% (IC) e il *p-value*. Il livello di significatività per la suddetta analisi è stato impostato su un *p-value* < 0.0500. Tutti i valori del *p-value* sono stati considerati a due code.

Considerando la variabile BR riferita a T-DXd, è stato poi effettuato il test χ^2 (chi-quadro), con lo scopo di valutare la possibile associazione con altre variabili riferite alla paziente, alla malattia o ai trattamenti eseguiti. Anche in questo caso, è stato considerato statisticamente significativo un *p-value* < 0.0500.

L'analisi statistica è stata eseguita mediante il pacchetto *software* statistico MedCalc (versione 20.011).

5. RISULTATI

5.1 Analisi generale delle pazienti esaminate

Sono state incluse 45 pazienti, tutte di sesso femminile. L'età mediana è pari a 51.0 anni (*range* 29.0 – 72.0 anni), con 39 pazienti (86.7%) di età < 65 anni e 6 (13.3%) di età ≥ 65 anni. 40 di queste (88.9%) si trovavano già in stato *post*-menopausale – fisiologico o farmacologicamente indotto – al momento dell'inizio del trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, contro le 5 (11.1%) ancora in stato *pre*-menopausale. Il *follow up* mediano è pari a 99.8 mesi (*range* 12.5 – 403.5 mesi). Ad Aprile 2026, 26 pazienti (57.8%) risultavano decedute e 19 (42.2%) ancora in vita, di cui 11 (24.4%) ancora sotto trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, 6 (13.3%) sottoposte ad altra terapia – per sospensione di Trastuzumab Deruxtecan – e 2 (4.4%) trasferite presso un altro centro.

Riguardo alla malattia, al momento della diagnosi 12 pazienti (26.7%) presentavano una neoplasia con dimensioni ≤ 2 cm, corrispondente ad un T1, mentre le restanti 33 (73.3%) con dimensioni > 2 cm, corrispondente ad un T2-4. 8 pazienti (17.8%) presentavano linfonodi indenni da metastasi (N0), mentre 37 (82.2%) presentavano metastasi linfonodali (N+) già alla diagnosi. 6 pazienti (13.3%) presentavano una neoplasia in stadio I, 11 pazienti (24.4%) una neoplasia in stadio II, 15 pazienti (33.3%) una neoplasia in stadio III e 13 pazienti (28.9%) una neoplasia già in stadio IV all'esordio. Una paziente (2.2%) presentava un tumore di grado 1, 14 pazienti (31.1%) un tumore di grado 2 e 29 pazienti (64.4%) un tumore di grado 3. Riguardo allo stato dei recettori ormonali, 13 pazienti (28.9%) presentavano livelli di espressione di ER < 10% e 32 pazienti (71.1%) livelli di ER ≥ 10%, 20 pazienti (44.4%) livelli di espressione di PgR < 10% e 25 pazienti (55.6%) livelli di PgR ≥ 10%. Infine, riguardo allo stato di HER2, 11 pazienti (24.4%) avevano una neoplasia HER2 1+, 20 pazienti (44.5%) una neoplasia HER2 2+ – di cui 13 (28.9%) con FISH non amplificata e 7 (15.6%) con FISH amplificata – e 14 pazienti (31.1%) una neoplasia HER2 3+.

12 pazienti (26.7%) hanno eseguito una chemioterapia neoadiuvante, mentre 33 (73.3%) non ne hanno beneficiato o in quanto metastatiche all'esordio (13 pazienti, 28.9%) o per assenza di indicazione (20 pazienti, 44.4%). Quasi la totalità

(41 pazienti, 91.1%) è stata sottoposta ad intervento chirurgico. Infine, riguardo alla terapia adiuvante sono stati considerati in particolare i dati riferiti a chemioterapia e ormonoterapia. 25 pazienti (55.6%) sono state sottoposte a chemioterapia adiuvante, contro le 20 (44.5%) che o erano metastatiche all'esordio (13 pazienti, 28.9%) o non presentavano indicazione (7 pazienti, 15.6%). 22 pazienti (48.9%) hanno assunto terapia ormonale, a differenza delle restanti (23 pazienti, 51.1%) che o erano metastatiche all'esordio (13 pazienti, 28.9%) o non presentavano indicazione (10 pazienti, 22.2%).

Relativamente alla malattia metastatica, 31 pazienti (68.9%) presentavano metastasi viscerali. In particolare, 12 pazienti (26.7%) presentavano metastasi epatiche, 17 (37.8%) metastasi polmonari, 23 (51.1%) metastasi ossee, 4 (8.9%) metastasi encefaliche, 26 (57.8%) metastasi linfonodali, 2 (4.4%) metastasi cutanee e 9 (20.0%) metastasi in altri siti (soprattutto alla pleura).

Le caratteristiche generali delle pazienti in studio e della relativa neoplasia sono riassunte nella Tabella 6.

Tabella 6 – Caratteristiche generali delle pazienti e della neoplasia

Età	< 65 anni	39 (86.7%)
	≥ 65 anni	6 (13.3%)
Stato post-menopausale	Sì	40 (88.9%)
	No	5 (11.1%)
Decesso	Sì	26 (57.8%)
	No	19 (42.2%)
T	≤ 2 cm	12 (26.7%)
	> 2 cm	33 (73.3%)
N	N0	8 (17.8%)
	N+	37 (82.2%)
Stadio	I	6 (13.3%)
	II	11 (24.4%)
	III	15 (33.3%)
	IV	13 (28.9%)

Grading	NV	1 (2.2%)
	G1	1 (2.2%)
	G2	14 (31.1%)
	G3	29 (64.4%)
ER	< 10%	13 (28.9%)
	≥ 10%	32 (71.1%)
PgR	< 10%	20 (44.4%)
	≥ 10%	25 (55.6%)
HER2	1+	11 (24.4%)
	2+ FISH non amplificata	13 (28.9%)
	2+ FISH amplificata	7 (15.6%)
	3+	14 (31.1%)
CHT neoadiuvante	Sì	12 (26.7%)
	No	20 (44.4%)
	No (M1)	13 (28.9%)
Chirurgia	Sì	41 (91.1%)
	No	4 (8.9%)
CHT adiuvante	Sì	25 (55.6%)
	No	7 (15.6%)
	No (M1)	13 (28.9%)
OT adiuvante	Sì	22 (48.9%)
	No	10 (22.2%)
	No (M1)	13 (28.9%)
Metastasi viscerali	Sì	31 (68.9%)
	No	14 (31.1%)
Siti di metastasi	Fegato	12 (26.7%)
	Polmone	17 (37.8%)
	Ossa	23 (51.1%)
	Encefalo	4 (8.9%)
	Linfonodi	26 (57.8%)
	Cute	2 (4.4%)

	Altro	9 (20.0%)
Linea T-DXd	I linea	2 (4.4%)
	II linea	9 (20.0%)
	III linea	12 (26.7%)
	IV linea	7 (15.6%)
	V linea	7 (15.6%)
	VI linea	2 (4.4%)
	VII linea	5 (11.1%)
	VIII linea	0
	IX linea	1 (2.2%)

Concentrandoci ora in particolare sui dati relativi al trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, dall'analisi è risultato che 2 pazienti (4.4%) hanno assunto il farmaco come terapia di I linea, 9 (20.0%) come terapia di II linea, 12 (26.7%) come terapia di III linea, 7 (15.6%) come terapia di IV linea, 7 (15.6%) come terapia di V linea, 2 (4.4%) come terapia di VI linea, 5 (11.1%) come terapia di VII linea e 1 (2.2%) come terapia di IX linea.

EFFICACIA

Sei pazienti (13.3%) trattate con T-DXd hanno ottenuto una risposta completa, 25 (55.6%) una risposta parziale, 3 (6.7%) hanno mostrato stabilità di malattia e 11 (24.4%) sono andate in progressione già alla prima rivalutazione di malattia. In merito al ciclo di terapia in cui è stata registrata la BR, per 1 paziente (2.2%) corrisponde al I ciclo, per 5 (11.1%) al II ciclo, per 10 (22.2%) al III ciclo, per 10 (22.2%) al IV ciclo, per 3 (6.7%) al V ciclo, per 14 (31.1%) oltre al V ciclo.

La PFS mediana delle 45 pazienti in studio con T-DXd è stata di 6.09 mesi (*range* 0.16 – 38.79 mesi), come mostrato in Figura 9.

L'OS mediana dalla diagnosi iniziale è pari a 135.41 mesi (*range* 12.49 – 403.51 mesi), come mostrato in Figura 10, mentre l'OS mediana dalla diagnosi di malattia metastatica è pari a 89.87 mesi (*range* 6.20 – 235.90 mesi), come mostrato in Figura 11.

Tra le pazienti in studio, 19 (42.2%) non hanno mai richiesto una riduzione di dose, 20 (44.4%) hanno richiesto una riduzione di I livello – da 5.4 mg/Kg a 4.4 mg/Kg – e 6 (13.3%) una riduzione di II livello – da 4.4 mg/Kg a 3.2 mg/Kg.

I dati relativi l'efficacia di T-DXd sono riassunti nella Tabella 7.

Figura 9 – PFS con T-DXd delle 45 pazienti in studio

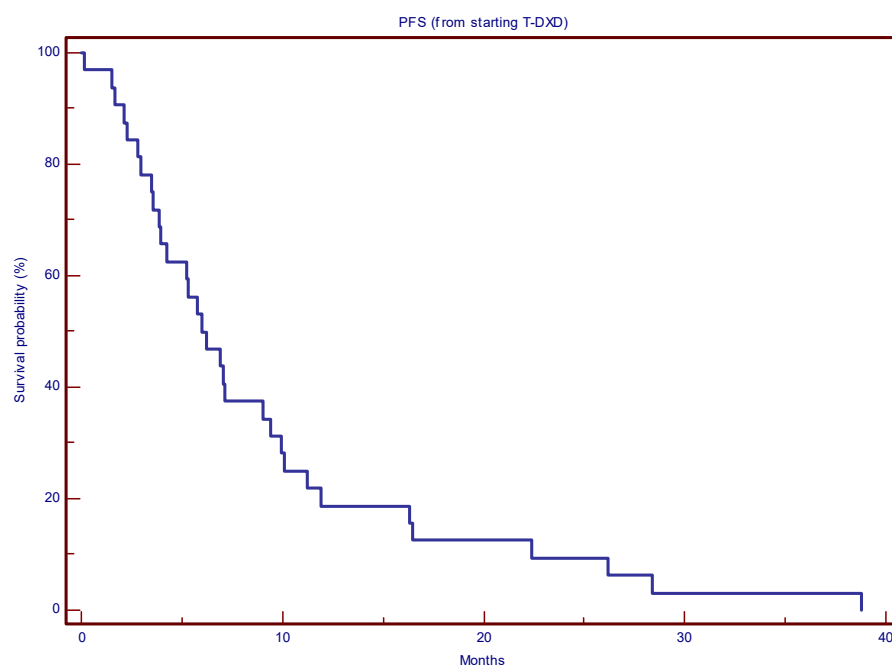


Figura 10 – OS dalla diagnosi iniziale delle 45 pazienti in studio

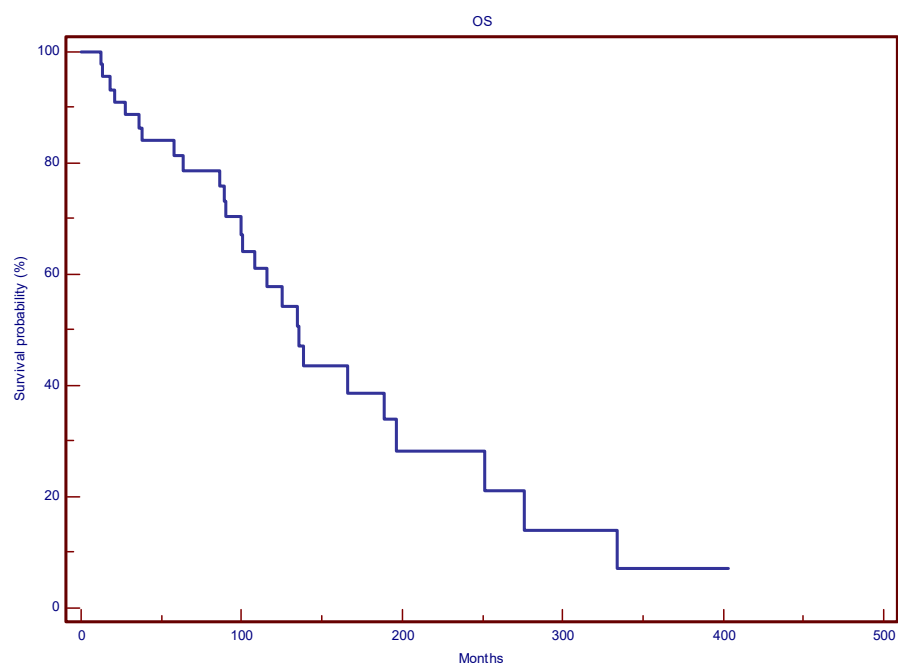


Figura 11 – OS dalla diagnosi di malattia metastatica delle 45 pazienti in studio

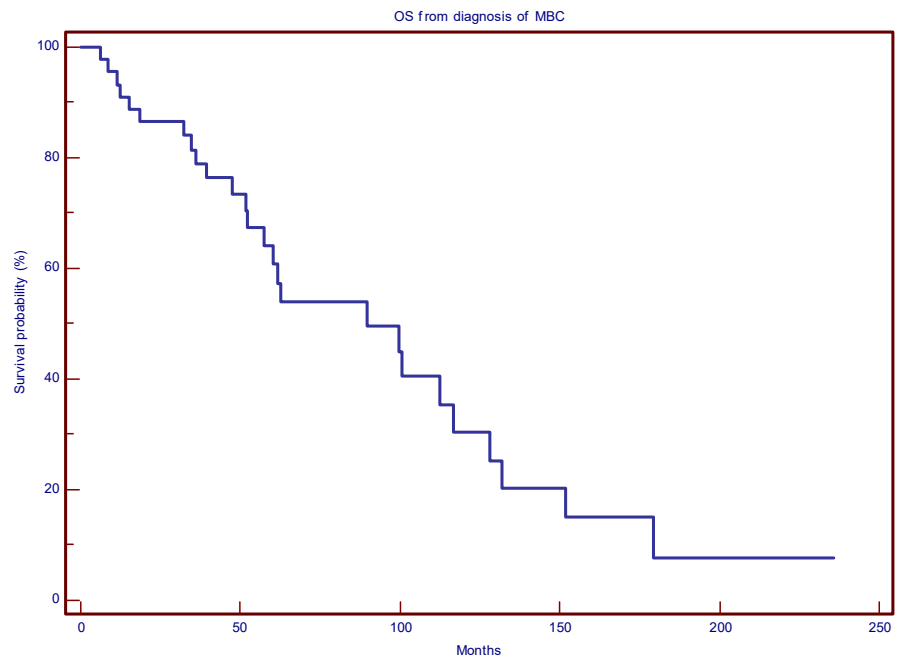


Tabella 7 – Dati relativi l'efficacia di T-DXd

Best Response T-DXd	Risposta Completa	6 (13.3%)
	Risposta Parziale	25 (55.56%)
	Stabilità di Malattia	3 (6.7%)
	Progressione di Malattia	11 (24.4%)
Ciclo Best Response	1	1 (2.2%)
	2	5 (11.1%)
	3	10 (22.2%)
	4	10 (22.2%)
	5	3 (6.7%)
	≥ 6	14 (31.1%)
	NV	2 (4.4%)
Sospensione T-DXd	Sì – per progressione	25 (55.6%)
	Sì – per tossicità	2 (4.4%)
	No	17 (37.8%)
	NV	1 (2.2%)
Progressione a T-DXd	Sì	32 (72.7%)
	No	12 (27.3%)
	NV	1 (2.2%)
Riduzione dose T-DXd	Sì – I livello	20 (44.4%)
	Sì – II livello	6 (13.3%)
	No	19 (42.2%)

SAFETY

Riguardo agli effetti indesiderati, 28 pazienti (62.2%) hanno riferito astenia – di cui 6 (13.3%) ≥ G3, 22 (48.9%) nausea – di cui 1 (2.2%) ≥ G3, 8 (17.8%) vomito – di cui 1 (2.2%) ≥ G3, 14 (31.1%) diarrea – di cui 3 (6.7%) ≥ G3, 15 (33.3%) neutropenia – di cui 4 (8.9%) ≥ G3, 12 (26.7%) anemia – di cui nessuna ≥ G3, 8 (17.8%) piastrinopenia – di cui nessuna ≥ G3, 6 (13.3%) alopecia – di cui nessuna ≥ G3, 3 (6.7%) ILD – di cui 1 (2.2%) ≥ G3, 1 (2.2%) cardiotossicità G1 (riduzione della FE) e 9 (20.0%) neuropatia sensoriale periferica – di cui nessuna ≥ G3.

15 pazienti (33.3%) sono andate in contro ad almeno un evento di grado 3 o superiore. Le tossicità più severe riportate, che hanno imposto la sospensione definitiva del trattamento con T-DXd, sono state ILD G3 (1 paziente, 2.2%) e diarrea G4 (1 paziente, 2.2%).

I dati relativi le tossicità di T-DXd sono riassunti nella Tabella 8.

Tabella 8 – Dati relativi le tossicità di T-DXd

Astenia	Sì	28 (62.2%)
	No	17 (37.8%)
Nausea	Sì	22 (51.1%)
	No	23 (48.9%)
Vomito	Sì	8 (17.8%)
	No	37 (82.2%)
Diarrea	Sì	14 (31.1%)
	No	31 (68.9%)
Neutropenia	Sì	15 (33.3%)
	No	30 (66.7%)
Anemia	Sì	12 (26.7%)
	No	33 (73.3%)
Piastrinopenia	Sì	8 (17.8%)
	No	37 (82.2%)
Alopecia	Sì	6 (13.3%)
	No	39 (86.7%)
ILD	Sì	3 (6.7%)
	No	42 (93.3%)
Cardiotossicità	Sì	1 (2.2%)
	No	44 (97.8%)
Neuropatia Periferica	Sì	9 (20.0%)
	No	36 (80.0%)

5.2 Sottoanalisi delle pazienti HER2+

Nelle 21 pazienti con malattia HER2+, l'età mediana è pari a 55.0 anni (*range* 36.0 – 72.0 anni), con 16 pazienti (76.2%) di età < 65 anni e 5 (23.8%) di età ≥ 65 anni. 18 di queste (85.7%) si trovavano già in stato *post*-menopausale – fisiologico o farmacologicamente indotto – al momento dell'inizio del trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, contro le 3 (14.3%) ancora in stato *pre*-menopausale. Il *follow up* mediano si attesta a 166.36 mesi (*range* 20.92 – 403.51 mesi). Ad Aprile 2026, 11 pazienti (52.4%) risultavano decedute e 10 (47.6%) ancora in vita, di cui 7 (33.3%) ancora in trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, 1 (4.2%) ormai sottoposta ad altra terapia e 2 (9.5%) trasferite presso un altro centro.

Riguardo alla malattia, al momento della diagnosi 6 pazienti (28.6%) presentavano una neoplasia con dimensioni ≤ 2 cm, corrispondente ad un T1, mentre le restanti 15 (71.4%) con dimensioni > 2 cm, corrispondente ad un T2-4. 5 pazienti (23.8%) presentavano linfonodi indenni da metastasi (N0), mentre 16 (76.2%) presentavano metastasi linfonodali (N+) già alla diagnosi. 5 pazienti (23.8%) presentavano una neoplasia in stadio I, 6 pazienti (28.5%) una neoplasia in stadio II, 3 pazienti (14.3%) una neoplasia in stadio III e 7 pazienti (33.3%) una neoplasia già in stadio IV all'esordio. 3 pazienti (14.3%) presentavano una neoplasia di grado 2 e 17 (81.0%) di grado 3. Riguardo allo stato dei recettori ormonali, 9 pazienti (42.9%) presentavano livelli di espressione di ER < 10% e 12 (57.1%) livelli di ER ≥ 10%, 12 pazienti (57.1%) livelli di espressione di PgR < 10% e 9 (42.9%) livelli di PgR ≥ 10%. Infine, riguardo allo stato di HER2, 7 pazienti (33.3%) avevano una neoplasia HER2 2+ con FISH amplificata e 14 (66.7%) una neoplasia HER2 3+.

6 pazienti (28.6%) hanno eseguito una chemioterapia neoadiuvante, mentre 15 (71.4%) non ne hanno beneficiato o in quanto metastatiche all'esordio (7 pazienti, 33.3%) o per assenza di indicazione (8 pazienti, 38.1%). Quasi la totalità (19 pazienti, 90.5%) è stata sottoposta ad intervento chirurgico. 13 pazienti (61.9%) sono state sottoposte a chemioterapia adiuvante, contro le 8 (38.1%) che o erano metastatiche all'esordio (7 pazienti, 33.3%) o non presentavano indicazione (1 paziente, 4.8%). 7 pazienti (33.3%) hanno assunto terapia ormonale, a differenza

delle restanti (14 pazienti, 66.7%) che o erano metastatiche all'esordio (7 pazienti, 33.3%) o non presentavano indicazione (7 pazienti, 33.3%).

Le caratteristiche generali delle pazienti in studio e della relativa neoplasia sono riassunte nella Tabella 9.

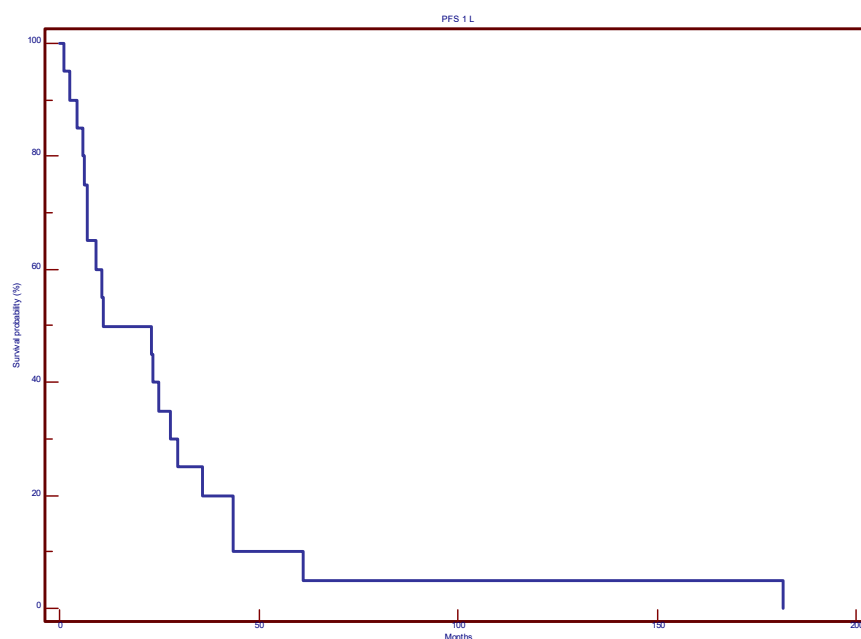
Tabella 9 – Caratteristiche generali delle pazienti e della neoplasia (gruppo HER2+)

Età	< 65 anni	16 (76.2%)
	≥ 65 anni	5 (23.8%)
Stato post-menopausale	Sì	18 (85.7%)
	No	3 (14.3%)
Decesso	Sì	11 (52.4%)
	No	10 (47.6%)
T	≤ 2 cm	6 (28.6%)
	> 2 cm	15 (71.4%)
N	N0	5 (23.8%)
	N+	16 (76.2%)
Stadio	I	5 (23.8%)
	II	6 (28.5%)
	III	3 (14.3%)
	IV	7 (33.3%)
Grading	NV	1 (4.8%)
	G1	0
	G2	3 (14.3%)
	G3	17 (81.0%)
ER	< 10%	9 (42.9%)
	≥ 10%	12 (57.1%)
PgR	< 10%	12 (57.1%)
	≥ 10%	9 (42.9%)
HER2	2+ FISH amplificata	7 (33.3%)
	3+	14 (66.7%)

CHT neoadiuvante	Sì	6 (28.6%)
	No (assenza indicazione)	8 (38.1%)
	No (M1)	7 (33.3%)
Chirurgia	Sì	19 (90.5%)
	No	2 (9.5%)
CHT adiuvante	Sì	13 (61.9%)
	No (assenza indicazione)	1 (4.8%)
	No (M1)	7 (33.3%)
OT adiuvante	Sì	7 (33.3%)
	No (assenza indicazione)	7 (33.3%)
	No (M1)	7 (33.3%)

Delle 21 pazienti HER2+ 1 (4.8%) ha ricevuto – e sta ancora ricevendo – T-DXd come I linea. La PFS mediana riferita alla I linea si attesta a 10.98 mesi (*range* 1.18 – 181.51 mesi), come mostrato in Figura 12. Andando poi a stratificare in base alla terapia eseguita, 4 pazienti (19.1%) sono state sottoposte a chemioterapia + Trastuzumab, 14 (66.7%) a chemioterapia + Trastuzumab + Pertuzumab, 1 (4.8%) a ormonoterapia, 1 (4.8%) a Trastuzumab Emtansine.

Figura 12 – PFS riferita alla I linea di trattamento per malattia metastatica nelle pazienti HER2+



In merito a Trastuzumab Deruxtecan, dall'analisi è risultato che 1 paziente (4.8%) ha assunto il farmaco come terapia di I linea, 8 (38.1%) come terapia di II linea, 3 (14.3%) come terapia di III linea e 9 (42.9%) come terapia oltre la III linea.

EFFICACIA

Riguardo alla BR, 6 pazienti (28.6%) sono andate in risposta completa e 15 (71.4%) in risposta parziale. In merito al ciclo di terapia in cui è stata registrata la BR, per 3 pazienti (14.3%) corrisponde al II ciclo, per 4 (19.0%) al III ciclo, per 5 (23.8%) al IV ciclo, per nessuno al V ciclo, per 8 (38.1%) oltre al V ciclo.

Durante il trattamento con T-DXd, 13 pazienti (61.9%) sono andate in progressione, 7 (33.3%) sono ancora in vita e continuano il farmaco. Per 1 paziente (4.8%) non è stato possibile valutare la sospensione o progressione a Trastuzumab Deruxtecan, avendo cambiato centro mentre era ancora sotto trattamento. La PFS mediana con Trastuzumab Deruxtecan è pari a 10.10 mesi (*range* 3.84 – 38.79 mesi), come mostrato in Figura 13. Di queste 13, 3 (23.1%) hanno assunto il farmaco come terapia di II linea, 2 (15.4%) come terapia di III linea e 8 (61.5%) come terapia oltre la III linea. Nel primo caso si è riscontrata una PFS mediana di 7.08 mesi, nel secondo caso di 19.23 mesi e nel terzo caso di 12.87 mesi ($p = 0.5287$), come mostrato in Figura 14. Andando a stratificare invece secondo lo stato dei recettori ormonali – ER in particolare – è emerso che, delle 13 pazienti, 11 (84.6%) presentavano livelli di espressione di $ER \geq 10\%$, mentre 2 (15.4%) livelli di $ER < 10\%$. Nel primo caso la PFS mediana corrisponde a 11.14 mesi, nel secondo caso a 10.10 mesi ($HR = 1.45$, $95\% CI = 0.27 - 9.40$, $p = 0.6154$). Stratificando poi secondo lo stato di HER2 all'immunoistochimica, 7 pazienti (53.9%) avevano una neoplasia HER2 2+ con FISH amplificata, contro le altre 6 (46.1%) con un HER2 3+. Nel primo caso la PFS mediana è pari a 7.08 mesi (*range* 3.84 – 16.30 mesi), nel secondo caso a 21.31 mesi (*range* 5.77 – 38.79 mesi) ($HR = 0.35$, $95\% CI 0.06 - 0.83$, $p = 0.0262$), come mostrato in Figura 15. Infine, è stata operata un'ulteriore stratificazione in base alla BR; in caso di risposta completa raggiunge 28.36 mesi (*range* 26.16 – 38.79 mesi), in caso di risposta parziale 9.44 mesi (*range* 3.84 – 16.46 mesi) ($HR = 0.25$, $95\% CI = 0.04 - 0.58$, $p = 0.0059$), come mostrato in Figura 16.

Figura 13 – PFS delle pazienti HER2+ che hanno ricevuto T-DXd

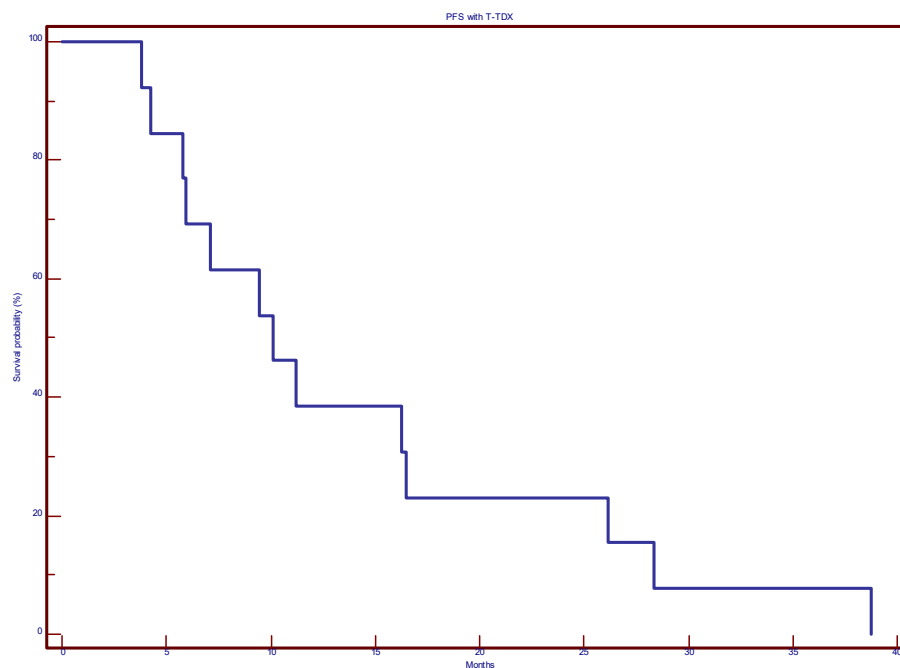


Figura 14 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2+ durante trattamento con T-DXd, suddivise per linea terapeutica: II linea (blu), III linea (rosso) $\geq$ III linea (giallo)

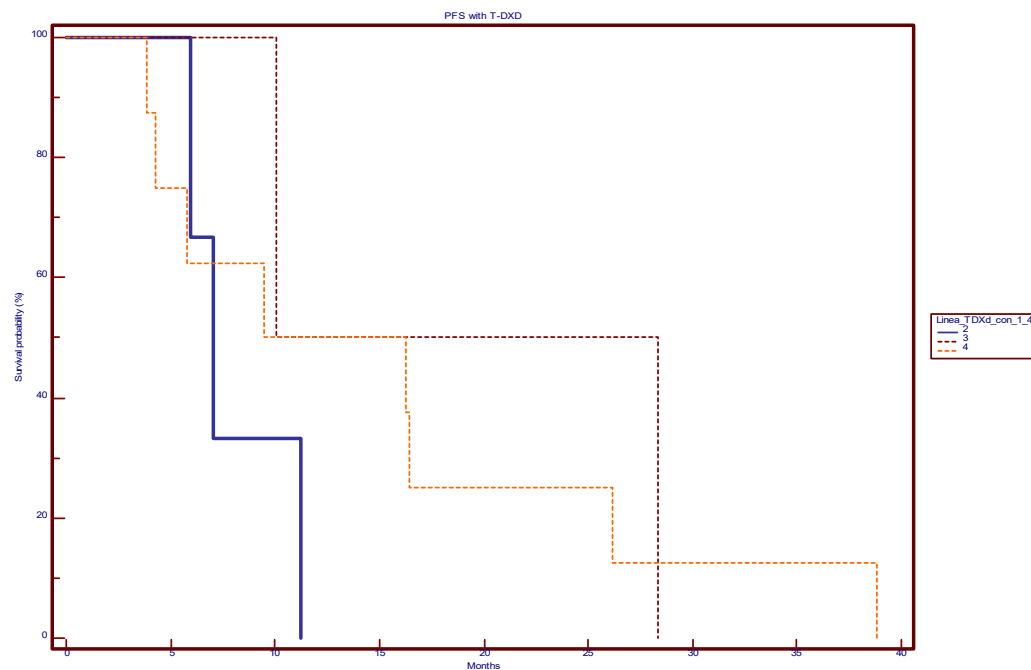


Figura 15 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2+ durante trattamento con T-DXd, suddivise in HER2 3+ (blu) e HER2 2+ con FISH amplificata (rosso)

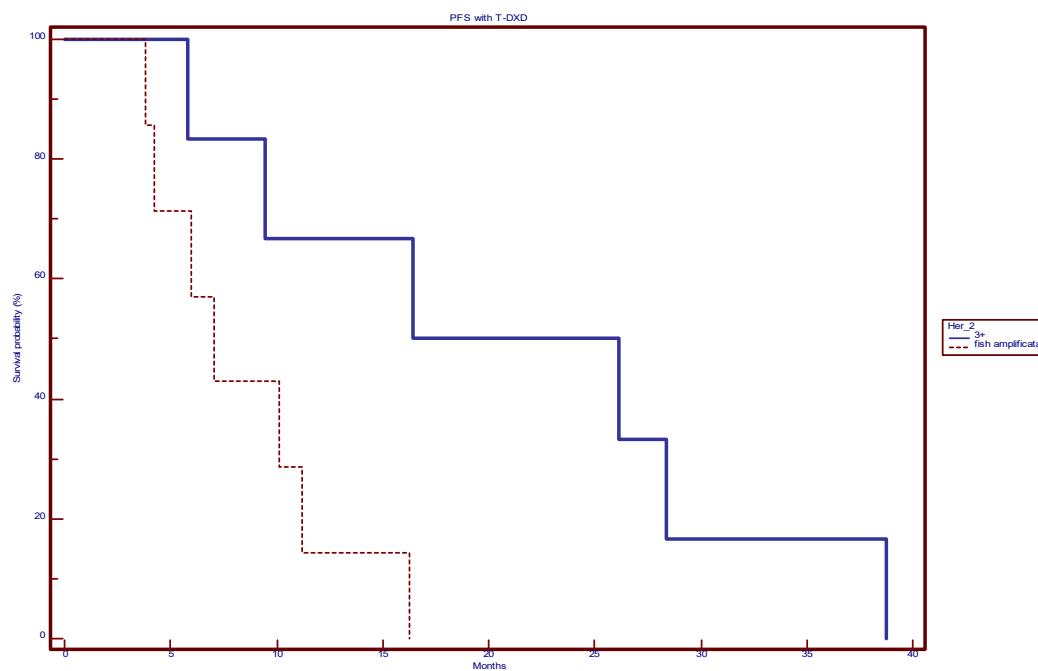
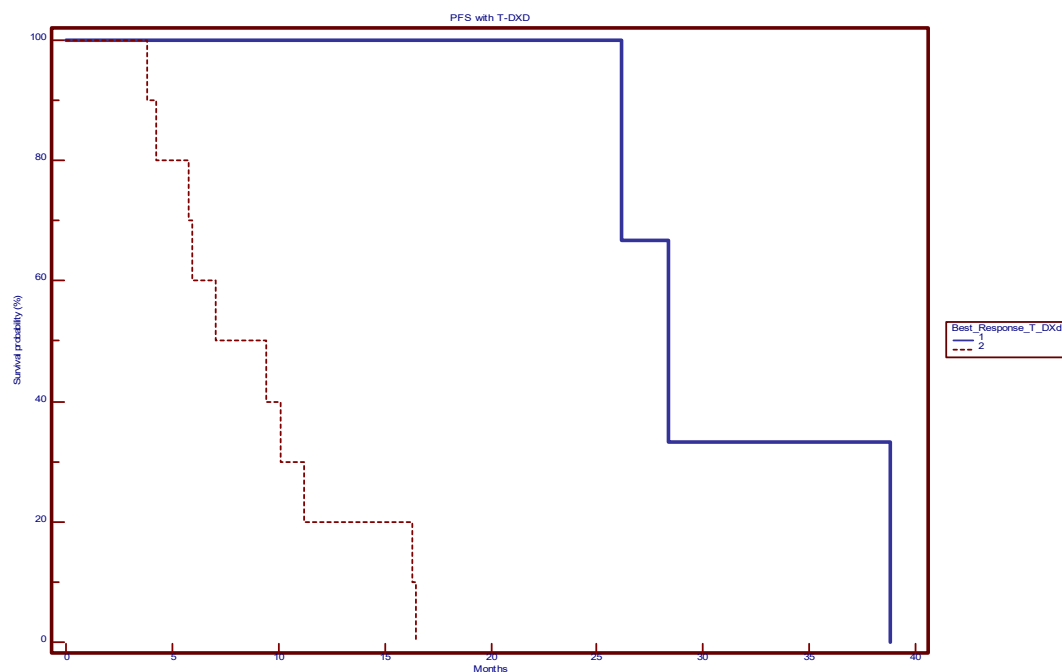


Figura 16 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2+ durante trattamento con T-DXd, suddivise in base alla BR: risposta completa (blu) e chi una risposta parziale (rosso)



L'OS mediana dalla diagnosi iniziale è pari a 166.36 mesi (*range* 20.92 – 403.51 mesi), come mostrato in Figura 17, mentre l'OS mediana dalla diagnosi di malattia metastatica è pari a 100.78 mesi (*range* 15.31 – 235.90 mesi), come mostrato in Figura 18. I dati relativi l'efficacia di T-DXd sono riassunti nella Tabella 10.

Figura 17 – OS dalla diagnosi iniziale nelle 21 pazienti HER2+

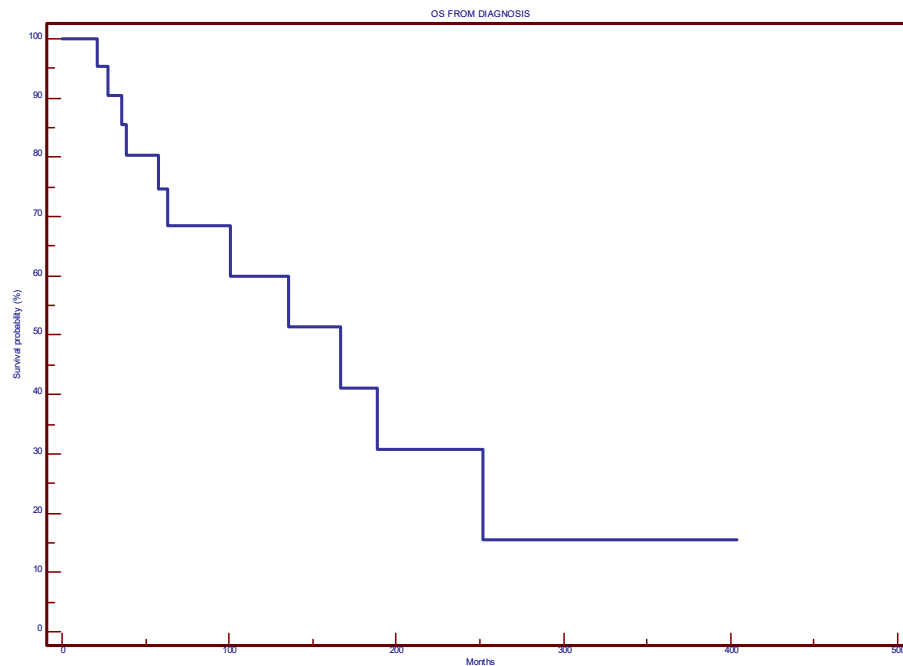


Figura 18 – OS dalla diagnosi di malattia metastatica nelle 21 pazienti HER2+

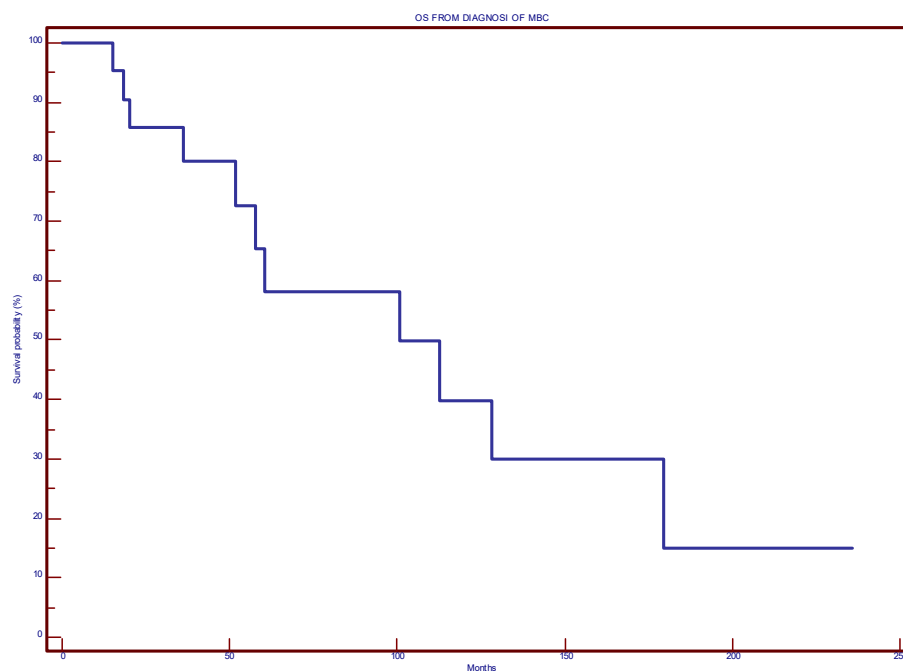


Tabella 10 – Dati relativi l'efficacia di Trastuzumab Deruxtecan (gruppo HER2+)

Linea T-DXd	I linea	1 (4.8%)
	II linea	8 (38.1%)
	III linea	3 (14.3%)
	≥ III linea	9 (42.9%)
Best Response T-DXd	Risposta Completa	6 (28.6%)
	Risposta Parziale	15 (71.4%)
	Stabilità di Malattia	0
	Progressione di Malattia	0
Ciclo Best Response	1	0
	2	3 (14.3%)
	3	4 (19.0%)
	4	5 (23.8%)
	5	0
	≥ 6	8 (38.1%)
	NV	1 (4.8%)
Progressione a T-DXd	Sì	13 (61.9%)
	No	7 (33.3%)
	NV	1 (4.8%)

Per ultimo, attraverso l'analisi χ^2 è stata studiata la relazione che intercorre tra BR riferita a Trastuzumab Deruxtecan e alcuni parametri riferiti alla paziente, alla malattia o al trattamento, quali età, stadio alla diagnosi, livelli di espressione di ER, stato di HER2, chemioterapia neoadiuvante, chemioterapia adiuvante e linea in cui è stato eseguita la terapia con Trastuzumab Deruxtecan. Dall'analisi è emerso un risultato ai limiti della significatività statistica ($p = 0.0503$) solo per quanto riguarda il rapporto tra BR e chemioterapia neoadiuvante.

5.3 Sottoanalisi delle pazienti HER2-low

Nelle 24 pazienti con malattia HER2-low, l'età mediana è pari a 50.0 anni (*range* 29.0 – 67.0 anni), con 23 pazienti (95.8%) di età < 65 anni e 1 (4.2%) di età ≥ 65 anni. 22 di queste (91.7%) si trovavano già in stato *post*-menopausale – fisiologico o farmacologicamente indotto – al momento dell'inizio del trattamento con Trastuzumab Deruxtecan, contro le 2 (8.3%) ancora in stato *pre*-menopausale. Il *follow up* mediano è pari a 135.41 mesi (*range* 12.69 – 334.33 mesi). Ad Aprile 2026, 15 pazienti (62.5%) risultavano decedute e 9 (37.5%) ancora in vita, di cui 4 (16.7%) ancora in trattamento con Trastuzumab Deruxtecan e 5 (20.8%) ormai sottoposte ad altra terapia.

Riguardo alla malattia, al momento della diagnosi 6 pazienti (25.0%) presentavano una neoplasia con dimensioni ≤ 2 cm, corrispondente ad un T1, mentre le restanti 18 (75.0%) con dimensioni > 2 cm, corrispondente ad un T2-4. 3 pazienti (12.5%) presentavano linfonodi indenni da metastasi (N0), mentre 21 (87.5%) presentavano metastasi linfonodali (N+) già alla diagnosi. 1 paziente (4.2%) presentava una neoplasia in stadio I, 5 pazienti (20.9%) una neoplasia in stadio II, 12 pazienti (50.0%) una neoplasia in stadio III e 6 pazienti (25.0%) una neoplasia già in stadio IV all'esordio. 1 paziente (4.2%) presentava un tumore di grado 1, 11 (45.8%) un tumore di grado 2 e 12 (50.0%) un tumore di grado 3. Riguardo allo stato dei recettori ormonali, 4 pazienti (16.7%) presentavano livelli di espressione di ER < 10% e 20 (83.3%) livelli di ER ≥ 10%, 8 pazienti (33.3%) livelli di espressione di PgR < 10% e 16 (66.7%) livelli di PgR ≥ 10%. Infine, riguardo allo stato di HER2, 11 pazienti (45.8%) avevano una neoplasia HER2 1+ e 13 (54.2%) una neoplasia HER2 2+ con FISH non amplificata.

6 pazienti (25.0%) hanno eseguito una chemioterapia neoadiuvante, mentre 18 (75.0%) non ne hanno beneficiato o in quanto metastatiche all'esordio (6 pazienti, 25.0%) o per assenza di indicazione (12 pazienti, 50.0%). Quasi la totalità (21 pazienti, 87.5%) è stata sottoposta ad intervento chirurgico. Infine, riguardo alla terapia adiuvante sono stati considerati in particolare i dati riferiti a chemioterapia e ormonoterapia. 12 pazienti (50.0%) sono state sottoposte a chemioterapia adiuvante, contro le 12 (50.0%) che o erano metastatiche

all'esordio (6 pazienti, 25.0%) o non presentavano indicazione (6 pazienti, 25.0%). 15 pazienti (62.5%) hanno assunto terapia ormonale, a differenza delle restanti (9 pazienti, 37.5%) che o erano metastatiche all'esordio (6 pazienti, 25.0%) o non presentavano indicazione (3 pazienti, 12.5%).

Le caratteristiche generali delle pazienti in studio e della relativa neoplasia sono riassunte nella Tabella 11.

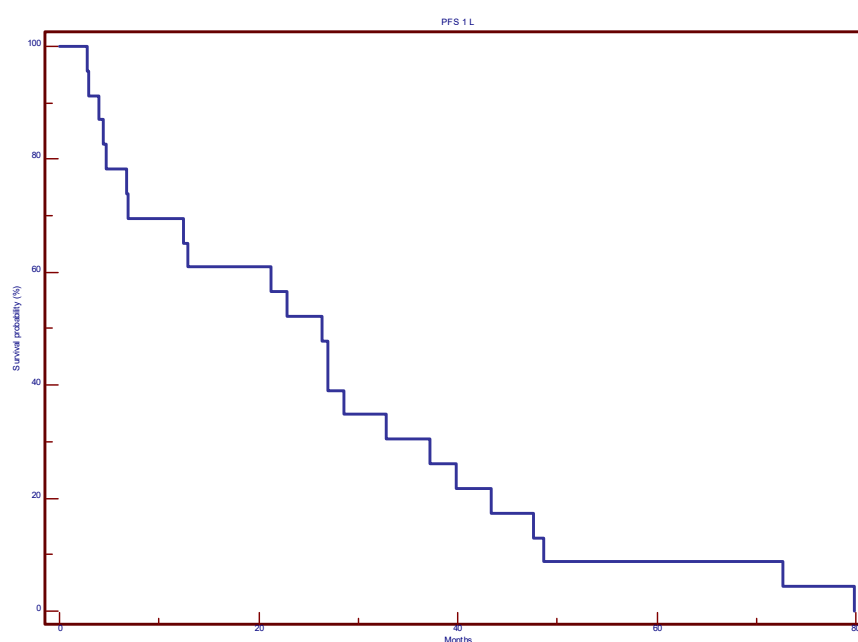
Tabella 11 – Caratteristiche generali delle pazienti e della neoplasia (gruppo HER2-low)

Età	< 65 anni	23 (95.8%)
	≥ 65 anni	1 (4.2%)
Stato post-menopausale	Sì	22 (91.7%)
	No	2 (8.3%)
Decesso	Sì	15 (62.5%)
	No	9 (37.5%)
T	≤ 2 cm	6 (25.0%)
	> 2 cm	18 (75.0%)
N	N0	3 (12.5%)
	N+	21 (87.5%)
Stadio	I	1 (4.2%)
	II	5 (20.9%)
	III	12 (50.0%)
	IV	6 (25.0%)
Grading	G1	1 (4.2%)
	G2	11 (45.8%)
	G3	12 (50.0%)
ER	< 10%	4 (16.7%)
	≥ 10%	20 (83.3%)
PgR	< 10%	8 (33.3%)
	≥ 10%	16 (66.7%)
HER2	1+	11 (45.8%)
	2+ FISH non amplificata	13 (54.2%)

CHT neoadiuvante	Sì	6 (25.0%)
	No (assenza indicazione)	12 (50.0%)
	No (M1)	6 (25.0%)
Chirurgia	Sì	21 (87.5%)
	No	3 (12.5%)
CHT adiuvante	Sì	12 (50.0%)
	No (assenza indicazione)	6 (25.0%)
	No (M1)	6 (25.0%)
OT adiuvante	Sì	15 (62.5%)
	No (assenza indicazione)	3 (12.5%)
	No (M1)	6 (25.0%)

Delle 24 pazienti HER2-*low* 1 (4.2%) ha ricevuto Trastuzumab Deruxtecan come I linea. La PFS mediana riferita alla I linea si attesta a 26.36 mesi (*range* 2.72 – 79.87 mesi), come mostrato in Figura 19. Andando poi a stratificare in base alla terapia eseguita, 2 pazienti (8.3%) sono state sottoposte a chemioterapia, 2 (8.3%) a chemioterapia + immunoterapia, 3 (12.5%) a ormonoterapia, 15 (62.5%) a ormonoterapia + inibitori delle CDK4/6, 1 (4.2%) a Sacituzumab Govitecan.

Figura 19 – PFS riferita alla I linea di trattamento per malattia metastatica nelle pazienti HER2-low



In merito a Trastuzumab Deruxtecan, dall'analisi è risultato che 1 paziente (4.2%) ha assunto il farmaco come terapia di I linea, 1 (4.2%) come terapia di II linea, 9 (37.5%) come terapia di III linea e 13 (54.2%) come terapia oltre la III linea.

EFFICACIA

Riguardo alla BR, 10 pazienti (41.7%) hanno ottenuto una risposta parziale, 3 (12.5%) hanno mostrato stabilità di malattia e 11 (45.8%) una progressione. In merito al ciclo di terapia in cui è stata registrata la BR, per 1 paziente (4.2%) corrisponde al I ciclo, per 2 (8.3%) al II ciclo, per 6 (25.0%) al III ciclo, per 5 (20.8%) al IV ciclo, per 3 (12.5%) al V ciclo, per 6 (25.0%) oltre al V ciclo.

Durante il trattamento con T-DXd, 20 pazienti (83.3%) sono andate in contro a progressione, 4 (16.7%) sono ancora in vita e continuano la terapia con T-DXd. La PFS mediana con T-DXd è risultata pari a 3.93 mesi (*range* 0.16 – 22.36 mesi), come mostrato in Figura 20. Di queste 20, 1 (5.0%) ha assunto il farmaco come terapia di I linea, 1 (5.0%) come terapia di II linea, 7 (35.0%) come terapia di III linea e 11 (55.0%) come terapia oltre la III linea. Nel primo caso si è riscontrata una PFS di 3.93 mesi, nel secondo caso di 1.54 mesi, nel terzo caso una PFS mediana di 6.05 mesi e nel quarto caso di 3.48 mesi ($p = 0.0352$), come mostrato in Figura 21. In questo contesto è importante precisare le motivazioni per cui due pazienti HER2-*low* abbiano potuto beneficiare di Trastuzumab Deruxtecan come I o II linea. In particolare, colei che ha ricevuto il farmaco come I linea trova giustificazione nel fatto che ha sviluppato una recidiva a distanza durante chemioterapia adiuvante, mentre colei che lo ha ricevuto come II linea nel fatto che aveva già ricevuto in precedenza una chemioterapia per malattia metastatica. Stratificando secondo lo stato dei recettori ormonali, delle 20 pazienti, 16 (80.0%) presentavano livelli di espressione di ER $\geq 10\%$, mentre 4 (20.0%) livelli di ER $< 10\%$. Nel primo caso la PFS mediana è stata pari a 5.21 mesi, nel secondo caso a 2.74 mesi (HR = 2.30, 95% CI = 0.74 – 15.40, $p = 0.1170$). Per questo sottogruppo di pazienti può risultare interessante stratificare anche secondo le proprietà di endocrino-sensibilità della neoplasia, tale per cui è emerso che 6 (30.0%) di queste 20 pazienti presentassero una malattia classificata come endocrino-sensibile, 10 (50.0%) come endocrino-resistente secondaria e 4 (20%) fossero triplo negative.

Nel primo caso la PFS mediana si attesta a 2.98 mesi, nel secondo caso a 6.89 mesi e nel terzo caso a 2.74 mesi ($p = 0.0910$). Stratificando poi secondo lo stato di HER2 all'immunoistochimica, 10 pazienti (50.0%) avevano una neoplasia HER2 1+, contro le altre 10 (50.0%) con un HER2 2+ con FISH non amplificata. Nel primo caso la PFS mediana è pari a 2.79 mesi (*range* 0.00 – 9.02 mesi), nel secondo caso a 5.31 mesi (*range* 1.70 – 22.36 mesi) ($HR = 2.02$, 95% CI 0.85 – 6.60, $p = 0.1001$), come mostrato in Figura 22. Infine, è stata operata un'ulteriore stratificazione in base alla BR; in caso di risposta parziale la PFS mediana corrisponde a 6.66 mesi (*range* 2.30 – 11.93 mesi), in caso di stabilità di malattia 9.97 mesi (*range* 2.98 – 22.36 mesi), in caso di progressione 3.48 mesi (*range* 0.00 – 6.89 mesi) ($p = 0.0305$), come mostrato in Figura 23.

Figura 20 – PFS delle pazienti HER2-low che hanno ricevuto T-DXd

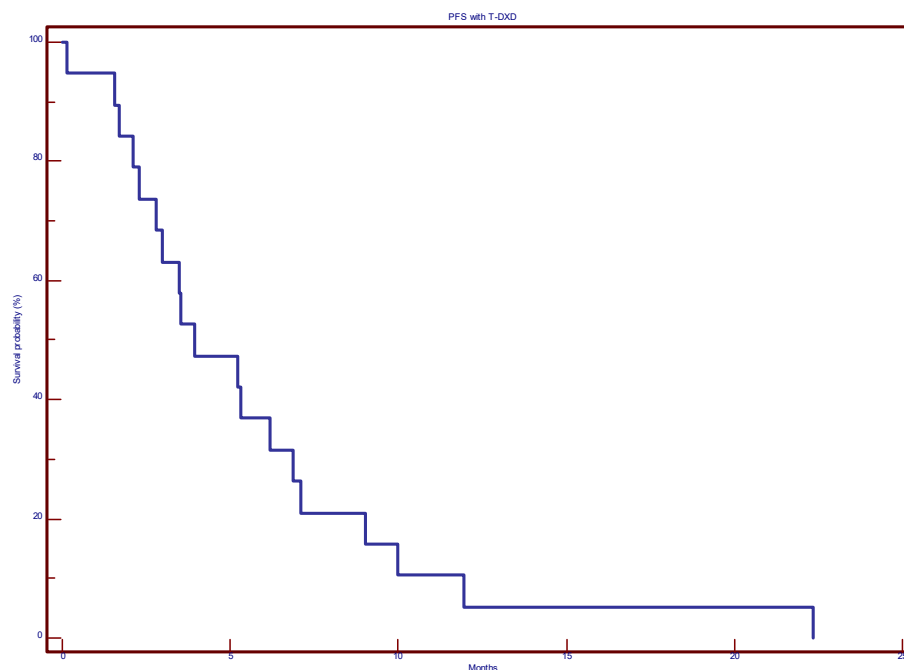


Figura 21 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2-low durante trattamento con T-DXd, suddivise per linea terapeutica: I linea (blu), II linea (rosso), III linea (giallo), $\geq$ III linea (verde)

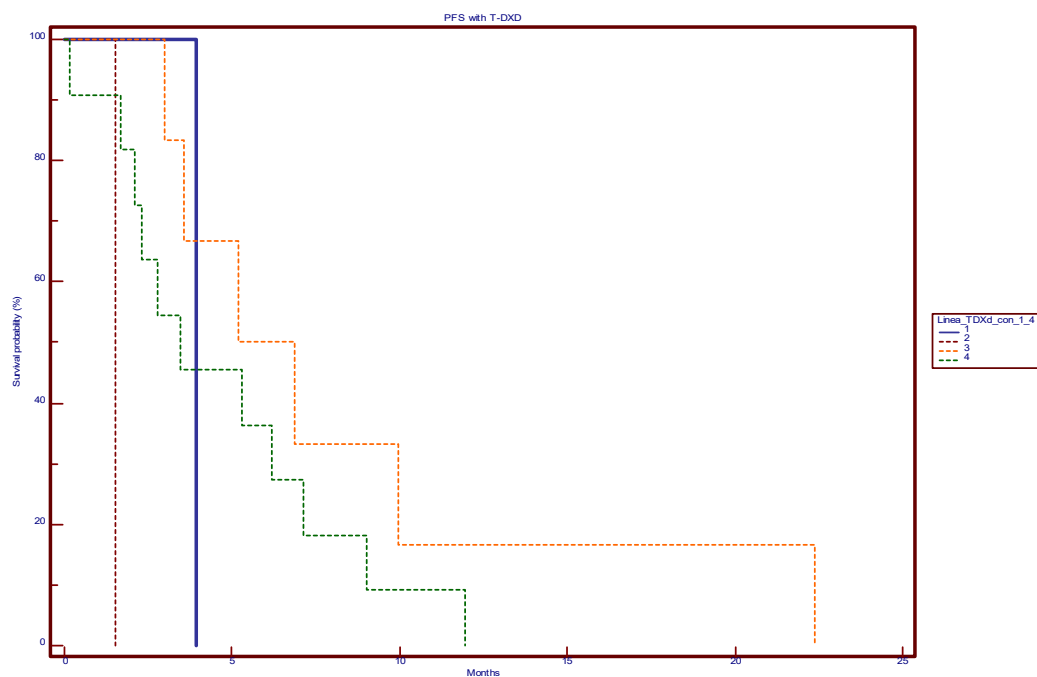


Figura 22 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2-low durante trattamento con T-DXd, suddivise in HER2 1+ (blu) e HER2 2+ con FISH non amplificata (rosso)

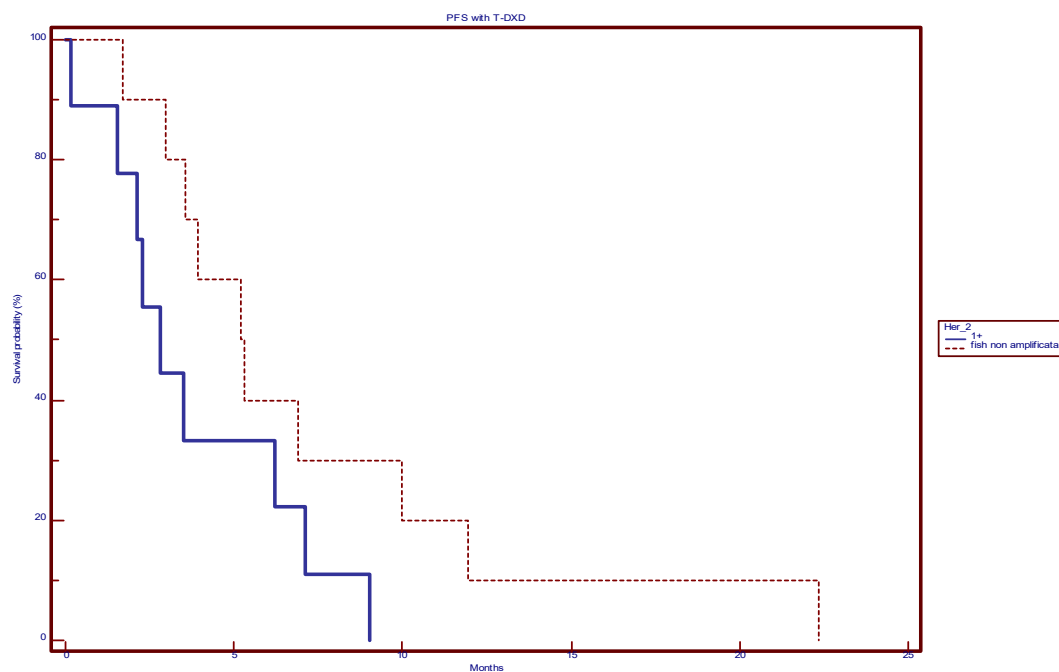
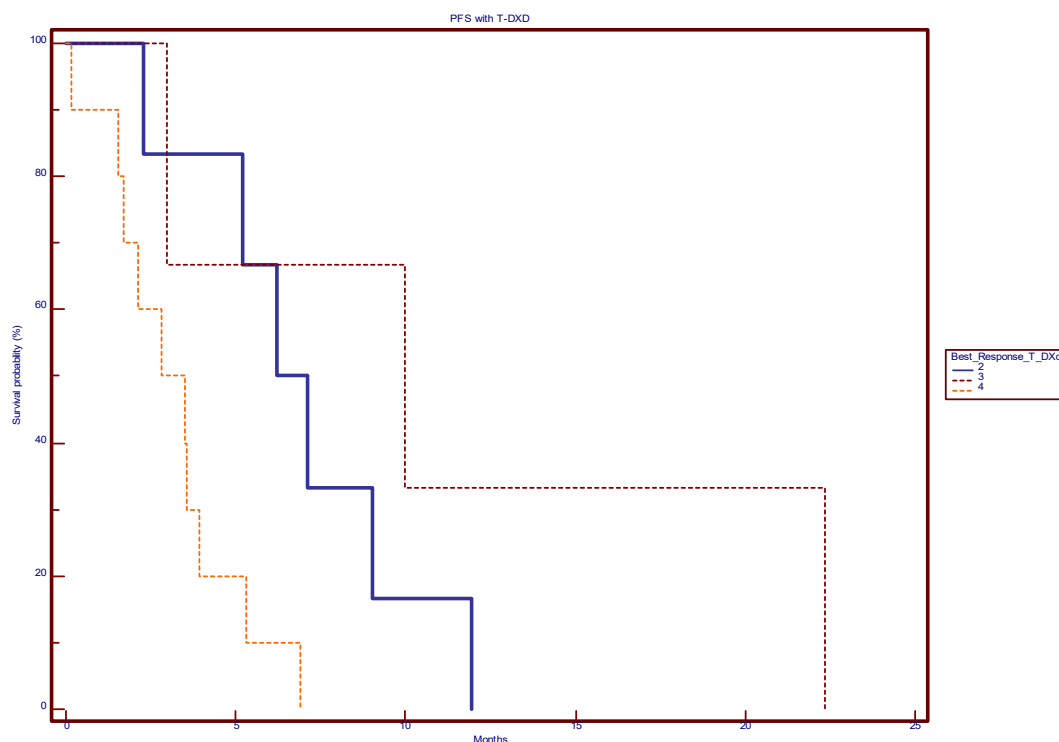


Figura 23 – Andamento della PFS nelle pazienti HER2-low durante trattamento con T-DXd, suddivise in base alla BR: risposta parziale (blu), stabilità di malattia (rosso) progressione di malattia (giallo)



L'OS mediana dalla diagnosi iniziale è pari a 135.41 mesi (*range* 12.69 – 334.33 mesi), come mostrato in Figura 24, mentre l'OS mediana dalla diagnosi di malattia metastatica è pari a 89.87 mesi (*range* 6.20 – 151.93 mesi), come mostrato in Figura 25. I dati relativi l'efficacia di T-DXd sono riassunti nella Tabella 12.

Figura 24 – OS dalla diagnosi iniziale nelle 24 pazienti HER2-low

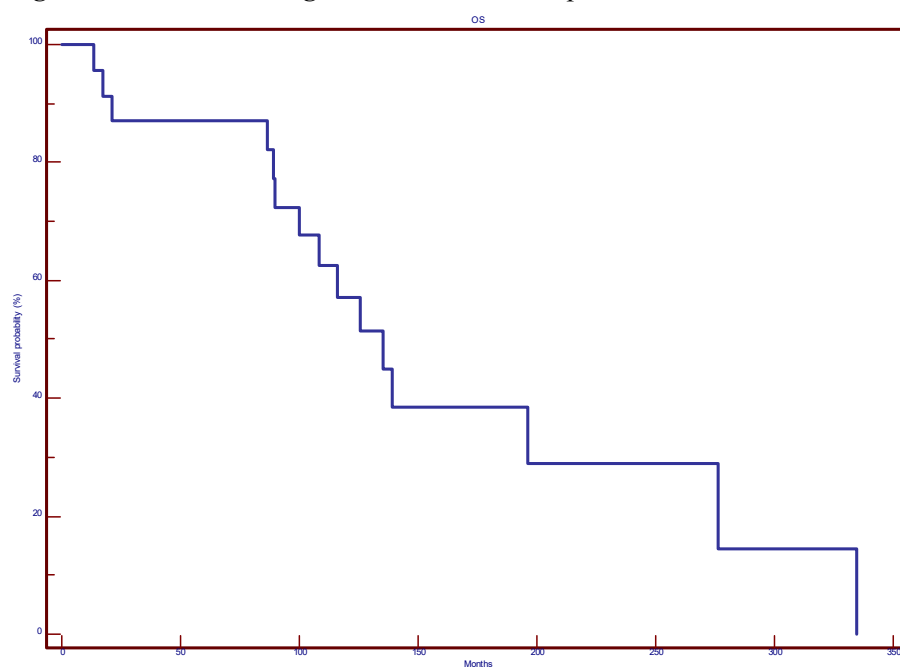


Figura 25 – OS dalla diagnosi di malattia metastatica nelle 24 pazienti HER2-low

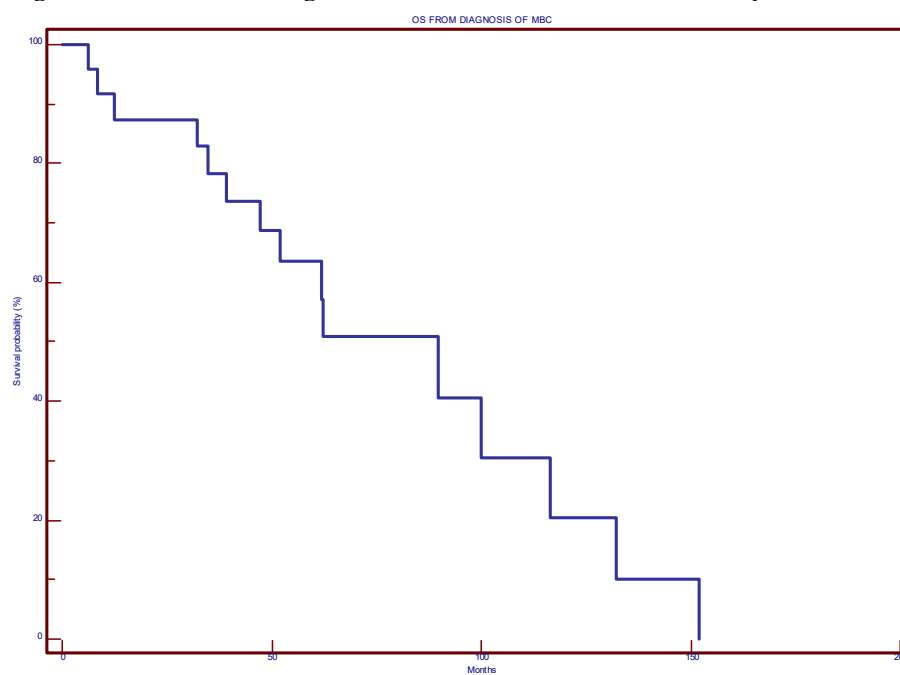


Tabella 12 – Dati relativi l'efficacia di Trastuzumab Deruxtecan (gruppo HER2-low)

Linea T-DXd	I linea	1 (4.2%)
	II linea	1 (4.2%)
	III linea	9 (37.5%)
	≥ III linea	13 (54.2%)
Best Response T-DXd	Risposta Completa	0
	Risposta Parziale	10 (41.7%)
	Stabilità di Malattia	3 (12.5%)
	Progressione di Malattia	11 (45.8%)
Ciclo Best Response	1	1 (4.2%)
	2	2 (8.3%)
	3	6 (25.0%)
	4	5 (20.8%)
	5	3 (12.5%)
	≥ 6	6 (25.0%)
	NV	1 (4.2%)
Progressione a T-DXd	Sì	19 (79.2%)
	No	5 (20.8%)
	NV	0

Per ultimo, attraverso l'analisi χ^2 è stata studiata anche per questo sottogruppo la relazione che intercorre tra BR riferita a Trastuzumab Deruxtecan e alcuni parametri riferiti alla paziente, alla malattia o al trattamento. Dall'analisi non è emerso alcun risultato statisticamente significativo.

5.4 Confronto di PFS e OS tra pazienti HER2+ e HER2-low

Nelle pazienti HER2+ (21 pazienti, 46.7%) la PFS mediana è pari a 10.1 mesi, mentre in quelle HER2-low (24 pazienti, 53.3%) è pari a 3.93 mesi (HR = 2.56, 95% CI = 1.43 – 6.60, $p = 0.0041$). Emerge dunque una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi, come mostrato in Figura 26.

L'OS mediana dalla diagnosi iniziale è di 166.36 mesi nel primo campione, mentre nel secondo è di 135.41 mesi (HR = 1.03, 95% CI = 0.47 – 2.25, $p = 0.9408$), come mostrato in Figura 27. Infine, riguardo all'OS mediana dalla diagnosi di malattia metastatica, nel primo campione si attesta a 100.79 mesi, contro gli 89.87 mesi del secondo (HR = 1.60, 95% CI = 0.75 – 3.67, $p = 0.2164$), come mostrato in Figura 28.

Figura 26 – Andamento della PFS nelle 45 pazienti in studio durante trattamento con T-DXd, suddivise in HER2+ (rosso) e HER2-low (blu)

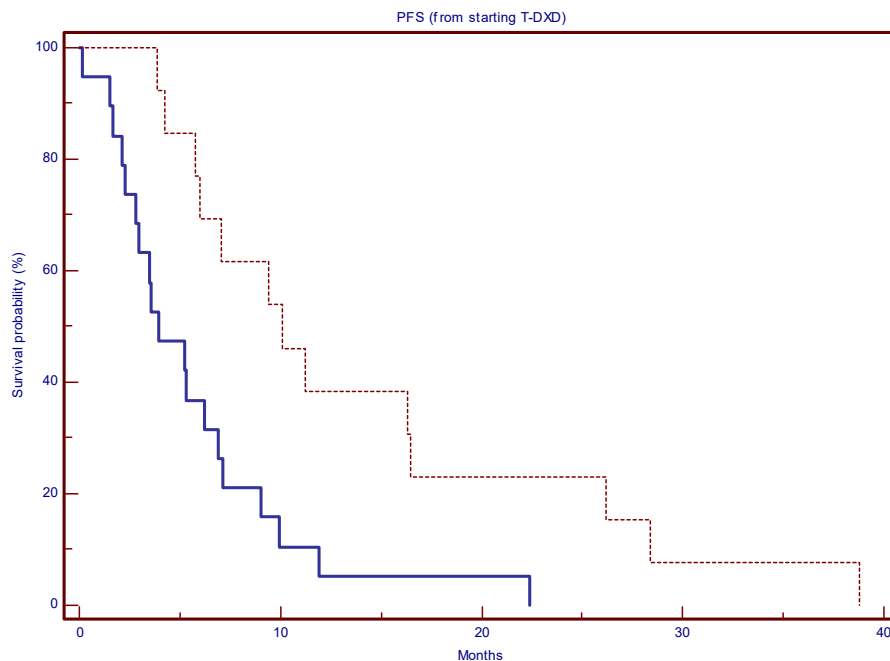


Figura 27 – Andamento dell'OS dalla diagnosi iniziale nelle 45 pazienti in studio, suddivise in HER2+ (rosso) e HER2-low (blu)

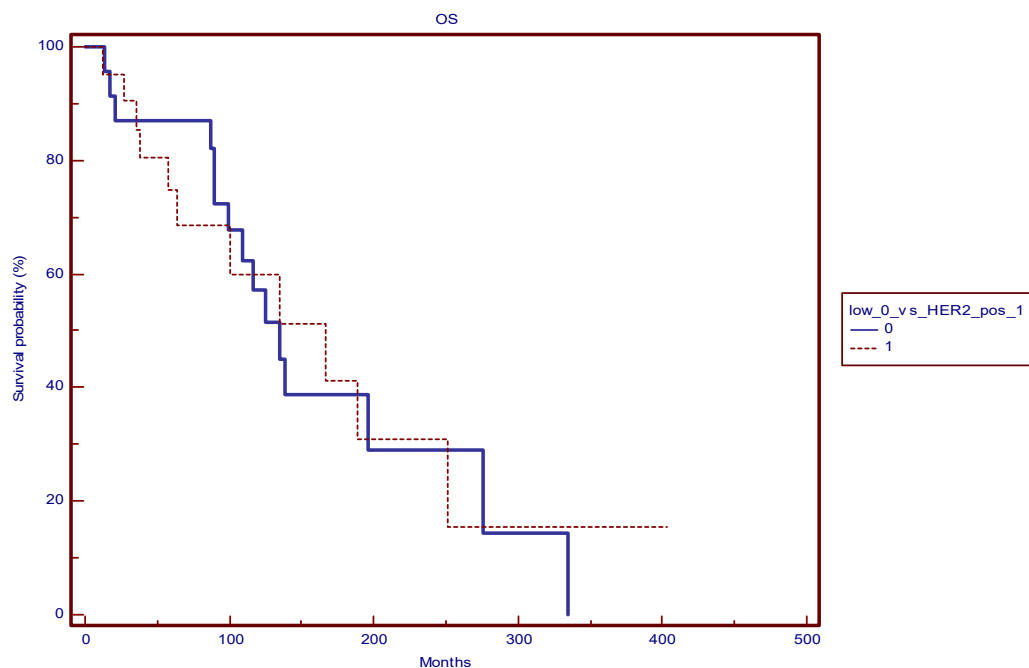
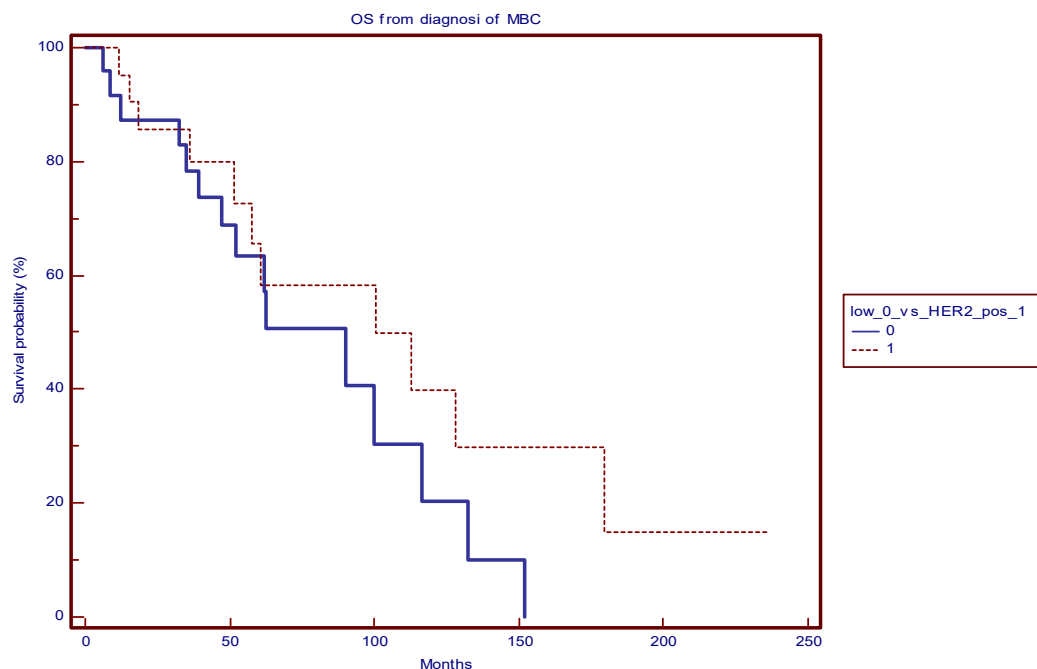


Figura 28 – Andamento dell'OS dalla diagnosi di malattia metastatica nelle 45 pazienti in studio, suddivise in HER2+ (rosso) e HER2-low (blu)



6. DISCUSSIONE

Ad oggi l'utilizzo di T-DXd nel carcinoma mammario in stadio avanzato è ormai consolidato, grazie agli *outcome* riportati dagli studi DESTINY-Breast02 [225], DESTINY-Breast03 [226], DESTINY-Breast04 [106] e DESTINY-Breast06 [230], che hanno riportato un aumento della PFS e dell'OS nei pazienti trattati con T-DXd rispetto ai trattamenti *standard*. Altri studi stanno valutando un ampliamento delle indicazioni per il suddetto farmaco sia nel *setting* avanzato che nel precoce, come accade per DESTINY-Breast05 [229], DESTINY-Breast06 [230] e DESTINY-Breast15 [232]. Un aspetto che non è stato però ancora valutato dagli studi sopracitati è l'influenza di alcune variabili relative al paziente, alla malattia o agli altri trattamenti eseguiti sull'efficacia di T-DXd, oggetto della presente analisi.

Considerando l'intero campione (45 pazienti), tra i dati che hanno mostrato significatività statistica va innanzitutto menzionata la differenza tra la PFS mediana con T-DXd nel sottogruppo HER2+ (10.10 mesi) e quella nel sottogruppo HER2-*low* (3.93 mesi) (HR = 2.56, 95% CI 1.43 – 6.60, $p = 0.0041$). Ciò significa che le pazienti HER2+ hanno un rischio di progressione del 156% inferiore rispetto alle pazienti HER2-*low*, dimostrato dalla differenza tra le due PFS mediane. Queste mediane risultano di fatto inferiori rispetto a quelle evidenziate dagli studi DESTINY-Breast, dove per la malattia HER2+ è stata riportata una PFS mediana di 19.4 mesi (95% CI 14.1 – 25.0 mesi) da DESTINY-Breast01, 17.8 mesi (95% CI 14.3 – 20.8 mesi) da DESTINY-Breast02 e 25.1 mesi da DESTINY-Breast03, mentre per la malattia HER2-*low* è di 9.9 mesi (95% CI 9.0 – 11.3 mesi) per DESTINY-Breast04 e 13.2 mesi per DESTINY-Breast06. Questa differenza potrebbe essere associata al maggior controllo esercitato sulla selezione dei pazienti negli studi DESTINY-Breast rispetto al presente studio, dove la casistica era molto più eterogenea in termini di linea terapeutica in cui è stato somministrato T-DXd. Da ciò si evince comunque che la PFS nelle pazienti HER2+ è significativamente maggiore rispetto a quella nelle pazienti HER2-*low*, dato in linea col presente studio. Altro risultato interessante, per quanto non statisticamente significativo, riguarda l'OS stratificata per stato di HER2: sia l'OS dalla diagnosi iniziale che l'OS dalla diagnosi di malattia metastatica sono superiori nel sottogruppo HER2+ (166.36 mesi e 100.79 mesi rispettivamente) rispetto al sottogruppo HER2-*low*

(135.41 mesi e 89.87 mesi rispettivamente). Presumibilmente, tale *outcome* è comunque associato alla differenza di efficacia di T-DXd in relazione al profilo di espressione di HER2. Anche questo risultato è linea con gli studi DESTINY-Breast, in particolare da DESTINY-Breast01 è emersa una OS di 29.1 mesi (95% CI 24.6 – 36.1 mesi) nelle pazienti HER2+, contro i 24.4 mesi (95% CI 20.0 – 24.8 mesi) riportati da DESTINY-Breast04 per le pazienti HER2-*low*.

Considerando ora il sottogruppo HER2+ (21 pazienti), risultati che nel presente studio si sono rivelati statisticamente significativi riguardano lo stato di HER2 e la BR a T-DXd. In particolare, per HER2 è stato dimostrato che le pazienti con malattia HER2 3+ presentano una PFS mediana di molto superiore rispetto a quelle con malattia HER2 2+ con FISH amplificata (21.31 mesi vs 7.08 mesi) (HR = 0.35, 95% CI 0.06 – 0.83, p = 0.0262). Ciò significa che i pazienti HER2 3+ avranno un rischio di progressione del 65% inferiore rispetto ai pazienti HER2 2+ con FISH amplificata. Per la BR, invece, si è visto che alla CR (*Complete Response*) a T-DXd corrisponde una PFS mediana significativamente superiore rispetto alla PR (*Partial Response*) (28.36 mesi vs 9.44 mesi) (HR = 0.25, 95% CI 0.04 – 0.58, p = 0.0059). Ciò significa che i pazienti che mostrano una CR al trattamento avranno un rischio di progressione del 75% inferiore rispetto a chi mostra una PR. Questo risultato dimostra che lo stato di HER2 e la BR a Trastuzumab Deruxtecan sono due parametri fondamentali nella valutazione della prognosi del paziente. Il rapporto tra stato di HER2 e PFS già è stato studiato da alcuni studi DESTINY-Breast, come DESTINY-Breast03 – che ha rilevato un’alta percentuale di risposta al farmaco per quei pazienti con forte sovraespressione di HER2 – o anche DESTINY-Breast04 e 06 – i due studi registrativi che hanno introdotto le nuove classi biomolecolari HER2-*low* e HER2-*ultralow*. Inoltre, lo studio DESTINY-Breast15 sta valutando la possibile efficacia di T-DXd anche in neoplasie HER2 0. La capacità di esplicitare la propria attività antineoplastica indipendentemente dall’espressione del relativo *target* – pur con differenze in termini di PFS e OS – di fatto è condivisa anche da altri ADC. Ad esempio, i *trial* registrativi riferiti a Sacituzumab Govitecan (es. ASCENT [256]) hanno messo in luce che il farmaco effettivamente mostra efficacia sia per bassi, che intermedi, che alti livelli di espressione di TROP2. L’associazione di BR e PFS per T-DXd, invece, è stata

studiata di recente da una *pooled analysis* [255] condotta sui DESTINY-Breast01, DESTINY-Breast02 e DESTINY-Breast03, analisi che ha effettivamente evidenziato che ad una miglior BR corrispondono una maggior PFS e OS, in linea con quanto riportato dal presente studio.

Nel sottogruppo HER2-*low* (24 pazienti) è stata invece riscontrata una differenza statisticamente significativa tra le linee in cui il farmaco è stato somministrato, sebbene sia emerso un *bias* presumibilmente legato alla numerosità campionaria: dall'analisi risulta che la PFS mediana maggiore (6.05 mesi) corrisponda alla III linea, seguita dalla I linea (3.93), $\geq$ III linea (3.48 mesi) e II linea (1.54 mesi) ($p = 0.0352$). Questa correlazione non era stata ancora mai analizzata da altri studi, per cui non sono presenti dati disponibili per un confronto con la letteratura. In merito alla relazione tra PFS e stato di ER o di HER2, non è emersa alcuna correlazione statisticamente significativa, sebbene anche in questo caso ad una maggior espressione di HER2 sembra essere associata una maggior risposta a T-DXd – 5.31 mesi per HER2 2+ con FISH non amplificata vs 2.79 mesi per HER2 1+ ($p = 0.1001$). Il fatto che anche per bassi livelli di espressione di HER2 ci sia una relazione tra stato di HER2 ed efficacia di T-DXd sarebbe effettivamente in linea con quanto mostrato da DESTINY-Breast06, dove la PFS nelle pazienti HER2-*low* si è rivelata superiore rispetto a quella nelle pazienti HER2-*ultralow*. Infine, anche in questo sottogruppo di pazienti è chiaro che la BR riferita a T-DXd risulti fondamentale nella determinazione della PFS ($p = 0.0305$), per quanto dall'analisi si evidenzi che la PFS mediana maggiore (9.97 mesi) corrisponda alla SD (*Stable Disease*), seguita dalla PR (6.66 mesi) e infine, come è ovvio, dalla PD (*Progressive Disease*) (3.48 mesi). Dati gli *outcome* della *pooled analysis* sopra menzionata [255], si attenderebbe una PFS maggiore per la PR, seguita da SD e PD.

In merito agli effetti indesiderati, i dati riportati dal presente studio sono essenzialmente concordi con quanto mostrato dai maggiori studi DESTINY-Breast, sia per quanto concerne il tipo di evento in sé che la relativa frequenza. Sono state comunque osservate alcune differenze riguardo soprattutto all'alopecia e all'ILD: se nei DESTINY-Breast l'alopecia si presenta intorno al 35-40% dei pazienti, nel presente studio la frequenza è del 13.3% – peraltro di grado 1 o 2 – mentre per la ILD l'incidenza è del 10-15% vs 6.7% – con un solo caso di grado 3.

Infine, riguardo al *grading* delle tossicità, nel presente studio la percentuale di pazienti mostranti almeno un evento di grado 3 o superiore risulta sensibilmente inferiore rispetto a quanto emerso dagli studi DESTINY-Breast (33.3% vs circa 53%).

Sebbene nel presente studio siano stati inclusi solo pazienti affette da carcinoma mammario, l'efficacia terapeutica di T-DXd va ben oltre i tumori mammari, tanto da essere considerato ormai come un "farmaco agnostico" a tutti gli effetti. Da un *trial* [257] è emerso che di fatto T-DXd non mostra attività solo verso alcuni specifici istotipi maligni, bensì potenzialmente verso ogni neoplasia che iperesprima HER2. Il suddetto studio ha infatti analizzato gli effetti di T-DXd in diversi tipi tumorali, tra cui carcinoma pancreatico, carcinoma ovarico e carcinoma della vescica, riscontrando una risposta positiva al farmaco in ogni coorte inclusa e una ORR globale del 37.1%. Nonostante al momento attuale T-DXd sia stato approvato in Europa solo per carcinoma mammario, carcinoma gastrico e carcinoma polmonare non a piccole cellule, visti i risultati del *trial* sopra menzionato si sta lavorando per un'estensione vera e propria di questo farmaco ad ogni neoplasia HER2-mutata.

Come si evince dai dati sopra riportati, molte correlazioni studiate tra i diversi parametri risultano non statisticamente significative, sia per quanto riguarda l'analisi generale nelle 45 pazienti che per le due sottoanalisi nelle 21 pazienti HER2+ e nelle 24 pazienti HER2-low. Ciò si deve ai vari limiti presenti nello studio, a partire innanzitutto dalla numerosità campionaria (45 pazienti), che risulta essere evidentemente molto ristretta. Nei prossimi anni è atteso un inevitabile ampliamento della casistica, con possibile estensione dello studio anche ad altri centri, così da potenziare l'indagine statistica. In secondo luogo, è da considerare il *design* di tipo retrospettivo dello studio, che necessariamente corrisponde ad un limite a causa dei *bias* che potrebbero essersi verificati durante la raccolta dati. Ciò è da riferirsi anche all'eterogeneità di malattia che è stata osservata in diverse pazienti, che nel corso degli anni hanno mostrato profili di espressione dei recettori ormonali e/o di HER2 mutevoli. Soprattutto per quanto riguarda HER2, si è visto che 2 pazienti (4.4%) avevano una malattia HER2 2+ con FISH non amplificata all'atto della diagnosi iniziale, poi risultata 2+ con FISH amplificata per una e 3+

per l'altra ad una successiva biopsia su lesione metastatica. Al contrario, 1 paziente (2.2%) aveva una malattia HER2 3+ alla diagnosi iniziale, poi mutata in HER2 1+. Il mutamento dello stato di HER2 non è però da ritenersi solo un fattore confondente bensì, in alcuni casi, un'opportunità per alcune pazienti. In questo contesto, si è rivelata cruciale l'effettuazione di una biopsia sulle lesioni metastatiche per 8 pazienti (17.8%), che all'atto della diagnosi erano state valutate all'immunoistochimica come HER2 0 e dunque non avrebbero potuto beneficiare del trattamento con Trastuzumab Deruxtecan. Questa analisi, effettuata ad anni di distanza dalla diagnosi iniziale, ha effettivamente mostrato profili di espressione di HER2 1+ o 2+, motivo per cui è stato possibile includere le suddette pazienti nello studio – aumentandone dunque la sopravvivenza.

7. CONCLUSIONI

Nonostante i limiti sopra riportati, il presente studio ha messo in luce alcuni aspetti fondamentali relativi all'impiego di Trastuzumab Deruxtecan nel carcinoma mammario HER2+ o HER2-*low* in stadio avanzato. In particolare, dall'analisi è evidente come lo stato di HER2 sia cruciale nella determinazione della PFS riferita al farmaco, tanto che a maggiori livelli di espressione di HER2 è associata una maggior PFS. Ciò potrebbe spiegare anche l'OS più elevata osservata per il sottogruppo di pazienti HER2+ rispetto alle HER2-*low*, per cui però non sono presenti ancora delle vere e proprie certezze. Nella determinazione della PFS – e dunque dell'efficacia – riferita a Trastuzumab Deruxtecan è risultata determinante anche la BR registrata, sia nelle pazienti HER2+ che nelle HER2-*low*. Sebbene sia presente un *bias* per il sottogruppo HER2-*low*, sembra chiaro come a una miglior BR sia associata una maggior PFS. Più complessa invece appare la relazione che intercorre tra la PFS e la linea di terapia corrispondente a Trastuzumab Deruxtecan, per cui potrebbe essere necessario aumentare la numerosità campionaria al fine di trarre conclusioni. Infine, riguardo alla *safety*, i dati appaiono pressoché concordi con quanto mostrato dagli studi DESTINY-Breast, sia per quanto riguarda le tossicità più frequenti che le più rare. Uniche eccezioni sono state l'alopecia e la ILD, la cui incidenza nello studio è risultata inferiore a quella riportata negli studi DESTINY-Breast. Con un futuro ampliamento della casistica lo studio acquisirà sicuramente una significatività statistica maggiore e permetterà di estendere le conoscenze relative a Trastuzumab Deruxtecan. Allo stato attuale, esso rappresenta un'importante analisi preliminare per quanto riguarda l'utilizzo di Trastuzumab Deruxtecan nella *real-life*.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] Anastasi G, Cannas M, Cavaletti G, *et al.*, ‘Trattato di anatomia umana sistematica e funzionale’, *Edi-Ermes*, vol. 1, 5th edition, pp. 69-81, 2020.
- [2] Young B, O’Dowd G, Woodford P, ‘Wheater’s Functional Histology: A Text and Colour Atlas’, *Elsevier*, 6th edition, pp. 378-382, 2014.
- [3] Mattioli Belmonte M, Nistri S, Altobelli GG, *et al.*, ‘Istologia umana’, *Idelson-Gnocchi*, 3rd edition, pp. 211-217, 2020.
- [4] Associazione Italiana Oncologia Medica, ‘Carcinoma mammario in stadio precoce’, pp. 23-132. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2023-carcinoma-mammario-in-stadio-precoce>.
- [5] Citron ML, Berry DA, Cirincione C, *et al.*, ‘Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 21, no. 8, p. 1, Apr. 2003, doi: 10.1200/JCO.2003.09.081.
- [6] Gori S, Miglietta F, ‘I numeri del cancro in Italia 2025’, pp. 162-165. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.salute.gov.it/new/it/pubblicazione/i-numeri-del-cancro-italia-2025>.
- [7] Regione Marche, ‘Registro Tumori’, pp. 6-13. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.regione.marche.it/ars/home/registro-tumori>.
- [8] National Cancer Institute, ‘Male Breast Cancer’, pp. 1-5. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.cancer.gov/types/breast/male-breast-cancer>.
- [9] Obeagu EI, Obeagu GU, ‘Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis’. *Medicine*, pp. 2-3, Jan. 2024, doi: 10.1097/MD.00000000000036905.

- [10] Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, *et al.*, ‘Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers’. *JAMA Oncology*, vol. 317, no. 23, pp. 4-12, June 2017, doi:10.1001/jama.2017.7112.
- [11] Breast Cancer Association Consortium, ‘Breast Cancer Risk Genes — Association Analysis in More than 113,000 Women’. *The New England Journal of Medicine*, vol. 384, no. 5, pp. 2-9, Feb. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa1913948.
- [12] World Health Organization, ‘Screening programmes: a short guide. Increase effectiveness, maximize benefits and minimize harm’, p. 3. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.who.int/publications/i/item/9789289054782>.
- [13] European Commission, ‘European guidelines on breast cancer screening and diagnosis’, pp. 1-9. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://healthcarequality.jrc.ec.europa.eu/en/ecibc/european-breast-cancer-guidelines>.
- [14] Schünemann HJ, Lerda D, Quinn C, *et al.*, ‘Breast cancer screening and diagnosis: a synopsis of the European breast guidelines’. *Annals of Internal Medicine*, vol. 172, no. 1, Nov. 2019, doi: 10.7326/M19-2125.
- [15] Regione Marche, ‘Screening Oncologici’, p. 1. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.regione.marche.it/Regione-Utile/Salute/Screening-oncologici>.
- [16] Sharma N, Theis S, Vogelmann T, *et al.*, ‘Vacuum-assisted breast biopsy vs core needle biopsy: a systematic review and meta-analysis’. *European Radiology*, pp. 2-3, Jan. 2026, doi: 10.1007/s00330-025-12299-1.
- [17] Berry DA, Cronin KA, Plevritis SK, *et al.*, ‘Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer’. *The New England Journal of Medicine*, vol. 353, no. 17, pp. 5-9, Oct. 2005, doi:10.1056/NEJMoa050518.
- [18] Puliti D, Duffy SW, Miccinesi G, *et al.*, ‘Overdiagnosis in mammographic screening for breast cancer in Europe: a literature review’. *Journal of Medical*

Screening, vol. 19, no. 1, pp. 42-56, 2012, doi: 10.1258/jms.2012.012082. PMID: 22972810.

[19] Saslow, D., Boetes, C., Burke, *et al.*, ‘American Cancer Society Guidelines for Breast Screening with MRI as an Adjunct to Mammography’. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 57, no. 2, pp. 3-5, Mar./Apr. 2007, doi:10.3322/canjclin.57.2.75.

[20] Gail MH, Brinton LA, Byar DP, *et al.*, ‘Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually’. *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 81, no. 24, Dec. 1989, doi:10.1093/jnci/81.24.1879 2.

[21] Tyrer J, Duffy SW, Cuzick J, ‘A breast cancer prediction model incorporating familial and personal risk factors’, *Statistics in Medicine Journal*, vol. 23, no. 7, Apr. 2004, doi:10.1002/sim.1668.

[22] Sardanelli F, Podo F, Santoro F, *et al.*, ‘Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (the High Breast Cancer Risk Italian 1 Study): final results’, *Investigative Radiology*, vol. 46, no. 2, pp. 94-105, Feb. 2011, doi:10.1097/RLI.0b013e3181f3fcdf.

[23] Kuhl C, Weigel S, Schrading S, *et al.*, ‘Prospective multicenter cohort study to refine management recommendations for women at elevated familial risk of breast cancer: The EVA Trial’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 28, no. 9, pp. 1450-1457, Mar. 2010, doi:10.1200/JCO.2009.23.0839.

[24] Associazione Italiana Oncologia Medica, ‘Carcinoma mammario in stadio avanzato’, pp. 16-47. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.aiom.it/linee-guida-aiom-2023-carcinoma-mammario-avanzato>.

[25] Ravaioli A, Pasini G, Polselli A, *et al.*, ‘Staging of breast cancer: new recommended standard procedure’, *Breast Cancer Research and Treatment*, vol. 72, no. 1, pp. 53-60, Mar. 2002, doi: 10.1023/a:1014900600815.

- [26] Brennan ME, Houssami N, 'Evaluation of the evidence on staging imaging for detection of asymptomatic distant metastases in newly diagnosed breast cancer', *The Breast*, vol. 21, no. 2, pp. 112-113, doi: 10.1016/j.breast.2011.10.005.
- [27] Puglisi F, Follador A, Minisini AM, *et al.*, 'Baseline staging tests after a new diagnosis of breast cancer: further evidence of their limited indications', *Annals of Oncology*, vol. 16, no. 2, pp. 263-266, Feb. 2005, doi: 10.1093/annonc/mdi063.
- [28] Ibragimova MK, Tsyganov MM, Kravtsova EA, *et al.*, 'Organ-Specificity of Breast Cancer Metastasis', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 21, pp. 1-3, Oct. 2023, doi: 10.3390/ijms242115625.
- [29] Komorowski AS, Warner E, MacKay HJ, *et al.*, 'Incidence of brain metastases in nonmetastatic and metastatic breast cancer: is there a role for screening?', *Clinical Breast Cancer*, vol. 20, no. 1, pp. 54-64, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.clbc.2019.06.007.
- [30] Eubank WB, Mankoff D, Bhattacharya M, *et al.*, 'Impact of FDG PET on defining the extent of disease and on the treatment of patients with recurrent or metastatic breast cancer', *American Journal of Roentgenology*, vol. 183, no. 2, pp. 479-486, Aug. 2004, doi: 10.2214/ajr.183.2.1830479.
- [31] Groheux D, 'Breast cancer systemic staging (comparison of computed tomography, bone scan, and 18F Fluorodeoxyglucose PET/computed tomography)', *PET Clinics*, vol. 18, no. 4, pp. 503-515, doi: 10.1016/j.cpet.2023.04.006.
- [32] Penas-Prado M, Loghin ME, 'Spinal cord compression in cancer patients: review of diagnosis and treatment', *Current Oncology Reports*, vol. 10, no. 1, pp. 78-85, Jan. 2008, doi: 10.1007/s11912-008-0012-0.
- [33] Spratt DE, Beeler WH, de Moraes FY, *et al.*, 'An integrated multidisciplinary algorithm for the management of spinal metastases: an International Spine Oncology Consortium report', *The Lancet Oncology*, vol. 18, no. 12, pp. 720-730, Dec. 2017, doi: 10.1016/S1470-2045(17)30612-5.

- [34] World Health Organization, 'WHO Classification of Tumours Online'. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: tumourclassification.iarc.who.int.
- [35] Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, *et al.*, 'Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol 98, no. 19, pp. 10869-108974, Sep. 2001, doi: 10.1073/pnas.191367098.
- [36] Sørli T, Tibshirani R, Parker J, *et al.*, 'Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 100, no. 14, pp. 8418-8423, Jul. 2003, doi: 10.1073/pnas.0932692100.
- [37] Vijver MJ van de, He YD, Veer LJ van't, *et al.*, 'A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer', *The New England Journal of Medicine*, vol. 347, no. 25, pp. 1999-2009, Dec. 2002, doi: 10.1056/NEJMoa021967.
- [38] Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, *et al.*, 'Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013', *Annals of Oncology*, vol. 24, no. 9, pp. 2206-2223, Sep. 2013, doi: 10.1093/annonc/mdt303.
- [39] Balic M, Gnant M, Harbeck N, *et al.*, 'St. Gallen/Vienna 2023: Optimization of treatment for patients with primary breast cancer - a Brief Summary of the Consensus Discussion', *Breast Care*, vol. 18, no. 3, pp. 213-222, Apr. 2023, doi: 10.1159/000530584.
- [40] Cheang MCU, Chia SK, Voduc D, *et al.*, 'Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal b breast cancer', *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 101, no. 10, pp. 736-750, May 2009, doi: 10.1093/jnci/djp082.
- [41] Conti F, *et al.*, 'Fisiologia medica', *Edi-Ermes*, vol. 2, 3rd edition, pp. 569-573, 2020.
- [42] Mainiero F, Misasi R, Pontieri GM, Sorice M, *et al.*, 'Patologia generale & Fisiopatologia generale', *Piccin*, vol. 1, 6th edition, pp. 543-574, 629-646, 2019.

- [43] Allison KH, Hammond MEH, Dowsett M, *et al.*, 'Estrogen and progesterone receptor testing in breast cancer: ASCO/CAP Guideline Update', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 38, no. 12, pp. 1346-1366, Apr. 2020, doi: 10.1200/JCO.19.02309.
- [44] Annunziato L, Di Renzo G, *et al.*, 'Trattato di farmacologia', *Idelson-Gnocchi*, 3rd edition, pp. 1311-1348, 1359-1365, 2021.
- [45] Weinberg RA, 'The biology of cancer', *Garland Science, Taylor and Francis Group*, pp- 138-159, Jun. 2007.
- [46] Chrzanowska NM, Kowalewski J, Lewandowska MA, 'Use of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) in Diagnosis and Tailored Therapies in Solid Tumors', *Molecules*, vol. 25, no. 8, pp. 1-11, Apr. 2020, doi: 10.3390/molecules25081864.
- [47] Wolff AC, Hammond MEH, Allison KH, *et al.*, 'Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Focused Update', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 36, no. 20, pp. 2105-2122, Jul. 2018, doi: 10.1200/JCO.2018.77.8738.
- [48] Denkert C, Seither F, Schneeweiss A, *et al.*, 'Clinical and molecular characteristics of HER2-low-positive breast cancer: pooled analysis of individual patient data from four prospective, neoadjuvant cl inical trials', *The Lancet Oncology*, vol. 22, no. 8, pp. 1151-1161, Aug. 2021, doi: 10.1016/S1470-2045(21)00301-6.
- [49] Schettini F, Chic N, Braso-Maristany F, *et al.*, 'Clinical, pathological, and PAM50 gene expression features of HER2 low breast cancer', *NPJ Breast Cancer*, vol. 7, no. 1, Jan. 2021, doi: 10.1038/s41523-020-00208-2.
- [50] Modi S, Jacot W, Yamashita T, *et al.*, 'Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-low advanced breast cancer', *The New England Journal of Medicine*, vol. 387, no. 1, pp. 9-20, Jul. 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2203690.
- [51] Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, *et al.*, 'International Ki-67 in Breast Cancer Working Group. Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the

International Ki67 in Breast Cancer working group', *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 103, no. 22, pp. 1656-1664, Nov. 2011, doi: 10.1093/jnci/djr393. Epub 2011 Sep 29.

[52] Amin MB, Greene FL, Edge SB, *et al.*, 'The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol. 67, no. 2, pp. 93-99, Mar. 2017, doi: 10.3322/caac.21388.

[53] Weiss A, Chavez-MacGregor M, Lichtensztajn DY, *et al.*, 'Validation study of the American Joint Committee on Cancer eighth edition prognostic stage compared with the anatomic stage in breast cancer', *JAMA Oncology*, vol. 4, no. 2, pp. 203-209, Feb. 2018, doi: 10.1001/jamaoncol.2017.4298.

[54] Giuliano AE, Hawes D, Ballman KV, *et al.*, 'Association of occult metastases in sentinel lymph nodes and bone marrow with survival among women with early-stage invasive breast cancer', *JAMA*, vol. 396, no. 4, pp. 185-393, Jul. 2011, doi: 10.1001/jama.2011.1034.

[55] Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, *et al.*, 'Prognostic factors in breast cancer', *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, vol. 124, no. 7, pp. 966-978, Aug. 2000, doi:10.1043/0003-9985(2000)124<0966:PFIBC>2.0.CO;2.

[56] Rody A, Holtrich U, Pusztai L, *et al.*, 'T-cell metagene predicts a favorable prognosis in estrogen receptor negative and HER2-positive breast cancers', *Breast Cancer Research*, vol. 1, no.2, Mar. 2009, doi: 10.1186/bcr2234.

[57] Hammond MEH, Hayes DF, Dowsett M, *et al.*, 'American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 28, no. 16, pp. 2784-2795, Apr. 2010, doi: 10.1200/JCO.2009.25.6529.

[58] Lynch SP, Lei X, Chavez-MacGregor M, *et al.*, 'Multifocality and multicentricity in breast cancer and survival outcomes', *Annals of Oncology*, vol. 23, no. 12, pp. 3063-3069, Dec. 2012, doi: 10.1093/annonc/mds136.

- [59] Stanton SE, Adams S, Disis ML, ‘Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes’, *JAMA Oncology*, vol. 2, no. 10, pp. 1354-1360, Oct. 2016, doi: 10.1001/jamaoncol.2016.1061.
- [60] Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S, ‘Cellular and Molecular Immunology’, *Elsevier*, pp. 333-358, 9th edition, 2018.
- [61] Boman C, Zerdes I, Martensson K, *et al.*, ‘Discordance of PD-L1 status between primary and metastatic breast cancer: A systematic review and meta-analysis’, *Cancer Treatment Reviews*, vol. 99, no. 102257, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.ctrv.2021.102257.
- [62] Cortes J, Cescon DW, Rugo HS, *et al.*, ‘Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial’, *The Lancet*, vol. 396, no. 10265, pp. 1817-1828, Dec. 2020, doi:10.1016/S0140-6736(20)32531-9.
- [63] Emens LA, Molinero L, Loi S, *et al.*, ‘Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer: biomarker evaluation of the IMpassion130 Study’, *Journal of National Cancer Institute*, vol. 113, no. 8, pp. 1005-1116, Aug. 2021, doi: 10.1093/jnci/djab004.
- [64] Associazione Italiana Oncologia Medica, ‘Raccomandazioni 2019 per l’implementazione del test BRCA nelle pazienti con carcinoma mammario e nei familiari a rischio elevato di neoplasia, pp. 11-24. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: https://www.aiom.it/wp-content/uploads/2019/10/2019_Raccomandazione-mammellaBRCA.pdf.
- [65] Robson ME, Tung N, Conte P, *et al.*, ‘OlympiAD final overall survival and tolerability results: olaparib versus chemotherapy treatment of physician's choice in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer’, *Annals of Oncology*, vol. 30, no. 4, pp. 558-566, Apr. 2019, doi: 10.1093/annonc/mdz012.

- [66] Litton JK, Hurvitz SA, Mina LA, *et al.*, ‘Talazoparib versus chemotherapy in patients with germline BRCA1/2 mutated HER2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from the EMBRACA trial’, *Annals of Oncology*, vol. 31, no. 11, pp. 1526-1535, Nov. 2020, doi: 10.1016/j.annonc.2020.08.2098.
- [67] Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, *et al.*, ‘A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT)’, *Annals of Oncology*, vol. 29, no. 9, pp. 1895-1902, Sep. 2018, doi: 10.1093/annonc/mdy263.
- [68] Andre F, Ciruelos EM, Juric D, *et al.*, ‘Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1’, *Annals of Oncology*, vol. 32, no. 2, pp. 208-217, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.011.
- [69] Fusco N, Malapelle U, Fassan M, *et al.*, ‘PIK3CA mutations as a molecular target for hormone receptor-positive, HER2-negative metastatic breast cancer’, *Frontiers in Oncology*, vol. 11, no. 644737., Mar. 2021, doi: 10.3389/fonc.2021.644737.
- [70] Aboud K, Meissner M, Jones R, ‘Capivasertib/Fulvestrant in patients with HR+, HER2-low or HER2-negative locally advanced or metastatic breast cancer’, *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, vol. 17, no. 17588359251358947, Jul. 2025, doi: 10.1177/17588359251358947.
- [71] Fishel R, ‘Mismatch repair’, *Journal Biological of Chemistry*, vol. 290, no. 44, pp. 26395-26403, Oct. 2015, doi: 10.1074/jbc.R115.660142.
- [72] Yang G, Zheng RY, Jin ZS, ‘Correlations between microsatellite instability and the biological behaviour of tumours’, *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, vol. 145, no. 12, pp. 2891-2899, Dec. 2019 doi: 10.1007/s00432-019-03053-4.
- [73] Bartley AN, Mills AM, Konnick E, *et al.*, ‘Mismatch Repair and Microsatellite Instability Testing for Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: Guideline From the College of American Pathologists in Collaboration With the Association for

Molecular Pathology and Fight Colorectal Cancer’, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, vol. 146, no. 10, pp. 1194-1210, Oct. 2022, doi: 10.5858/arpa.2021-0632-CP.

[74] Kwak Y, Bae JM, Lee HS, ‘Diagnostic Challenges and Clinical Implications of Microsatellite Instability/Mismatch Repair Deficiency in Solid Tumors’, *Cancer Research and Treatment*, vol. 58, no. 1, pp. 1-14, Jan. 2026, doi: 10.4143/crt.2025.1161.

[75] Federman N, McDermott R, ‘Larotrectinib, a highly selective tropomyosin receptor kinase (TRK) inhibitor for the treatment of TRK fusion cancer’, *Expert Review of Clinical Pharmacology*, vol. 12, no. 10, pp. 931-939, Oct. 2019, doi: 10.1080/17512433.2019.1661775.

[76] Hoy SM, ‘Elacestrant: First Approval’, *Drugs*, vol, 83, no. 6, pp. 555-561, Apr. 2023, doi: 10.1007/s40265-023-01861-0.

[77] Raei M, Heydari K, Tabarestani M, *et al.*, ‘Diagnostic accuracy of ESR1 mutation detection by cell-free DNA in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy’, in *BMC Cancer*, vol. 24, no. 1, Jul. 2024, doi: 10.1186/s12885-024-12674-z.

[78] Litière S, Werutsky G, Fentiman IS *et al.*, ‘Breast conserving therapy versus mastectomy for stage I–II breast cancer: 20 year follow-up of the EORTC 10801 phase 3 randomised trial’, *Lancet Oncology*, vol. 13, no. 2, pp. 421-419, Apr. 2012, doi: 10.1016/S1470-2045(12)70042-6.

[79] Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, *et al.*, ‘Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 347, no. 16, pp. 1227-1232, Oct. 2002, doi: 10.1056/NEJMoa020989.

[80] Fisher B, Anderson S, Bryant J, *et al.*, ‘Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 347, no. , pp. 1233-1241, Oct. 2002, doi: 10.1056/NEJMoa022152.

- [81] Veronesi U, Paganelli G, Viale G, *et al.*, ‘A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 349, no. 6, pp. 546-553, Aug. 2003, doi: 10.1056/NEJMoa012782.
- [82] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG); Peto R, Davies C, Godwin J, *et al.*, ‘Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials’, *Lancet*, vol. 379, no. 9814, pp. 432-444, Feb. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(11)61625-5.
- [83] Moja L, Tagliabue L, Balduzzi S, *et al.*, ‘Trastuzumab containing regimens for early breast cancer’, *Cochrane Database Systematic Reviews*, Apr. 2012, doi:10.1002/14651858.CD006243.pub2.
- [84] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG); Davies C, Godwin J, Gray R, *et al.*, ‘Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient level meta-analysis of randomised trials’, *Lancet*, vol. 378, no. 9793, pp.771-784, Aug 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60993-8.
- [85] Ministero della Salute, ‘Modalita' di riparto e requisiti di utilizzo del fondo per i test genomici ormonoresponsivo per il carcinoma mammario in stadio precoce’. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2021/07/07/21A04069/SG>.
- [86] Siow ZR, De Boer RH, Lindeman GJ, *et al.*, ‘Spotlight on the utility of the Oncotype DX[®] breast cancer assay’, *International Journal of Womens' Health*, vol. 21, no. 10, pp. 89-100, Feb. 2018, doi: 10.2147/IJWH.S124520.
- [87] Shannon C, Ashley S, Smith IE, ‘Does timing of adjuvant chemotherapy for early breast cancer influence survival?’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 21, no. 20, pp. 3792-3797, Oct. 2003, doi: 10.1200/JCO.2003.01.073.
- [88] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), ‘Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-

year survival: an overview of the randomised trials’, *Lancet*, vol. 365, no. 9472, pp. 1687-1717, May 2005, doi: 10.1016/S0140-6736(05)66544-0.

[89] Liu X, Fang Y, Li Y, *et al.*, ‘Pertuzumab combined with trastuzumab compared to trastuzumab in the treatment of HER2-positive breast cancer: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials’, *Frontiers in Oncology*, vol. 12, Sep. 2022, doi: 10.3389/fonc.2022.894861.

[90] Prior JC, ‘Ovarian aging and the perimenopausal transition’, *Endocrine*, vol. 26, pp. 297–300, Apr. 2005, doi.org/10.1385/ENDO:26:3:297.

[91] Jongen VH, Hollema H, Van Der Zee AG, *et al.*, ‘Aromatase in the context of breast and endometrial cancer. A review’, *Minerva Endocrinology*, vol. 31, no. 1, pp. 47-60, Mar 2006, PMID: 16498363.

[92] Andrade MO, Bonadio RRDCC, Diz MDPE, *et al.*, ‘Visceral crisis in metastatic breast cancer: an old concept with new perspectives’, *Clinics (Sao Paulo)*, vol. 79, no. 100362, pp. 1-6, May 2024, doi: 10.1016/j.clinsp.2024.100362.

[93] Finn RS, Martin M, Rugo HS, *et al.*, ‘Palbociclib and letrozole in advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 375, no. 20, pp. 1925-1936, Nov. 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1607303.

[94] Turner NC, Slamon DJ, Ro J, *et al.*, ‘Overall survival with palbociclib and fulvestrant in advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 379, no. 20, pp. 1926-1936, Nov 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1810527.

[95] Slamon DJ, Neven P, Chia S, *et al.*, ‘Ribociclib plus fulvestrant for postmenopausal women with hormone receptor positive, human epidermal growth factor receptor 2-negative advanced breast cancer in the phase III randomized MONALEESA-3 trial: updated overall survival’, *Annals of Oncology*, vol. 32, no. 8, pp. 1015-1024, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.annonc.2021.05.353.

[96] Hortobagyi GN, Stemmer SM, Burris HA, *et al.*, ‘Overall survival with ribociclib plus letrozole in advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 386, no. 10, pp. 942-950, Mar. 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2114663.

- [97] Goetz MP, Toi M, Campone M, *et al.*, ‘MONARCH 3: Abemaciclib as initial therapy for advanced breast cancer’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 35, no. 32, pp. 3638-3646, Nov. 2017, doi: 10.1200/JCO.2017.75.6155.
- [98] Sledge GW, Jr., Toi M, Neven P, *et al.*, ‘The effect of abemaciclib plus fulvestrant on overall survival in hormone receptor-positive, ERBB2-negative breast cancer that progressed on endocrine therapy-MONARCH 2: a randomized clinical trial’, *JAMA Oncology*, vol. 6, no. 1, pp. 116-124, Jan. 2020, doi: 10.1001/jamaoncol.2019.4782.
- [99] Llombart-Cussac A, Perez-Garcia JM, Bellet M, *et al.*, ‘Fulvestrant-palbociclib vs letrozole-palbociclib as initial therapy for endocrine-sensitive, hormone receptor-positive, ERBB2-negative advanced breast cancer: a randomized clinical trial’, *JAMA Oncology*, vol. 7, no. 12, pp. 1791-1799, Dec. 2021, doi: 10.1001/jamaoncol.2021.4301.
- [100] Cardoso F, Paluch-Shimon S, Senkus E, *et al.*, ‘5th ESO-ESMO international consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 5)’, *Annals of Oncology*, vol. 31, no. 12, pp. 1623-1649, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.annonc.2020.09.010.
- [101] Baselga J, Campone M, Piccart M, *et al.*, ‘Everolimus in postmenopausal hormone-receptor-positive advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 366, no. 6, pp 520-529, Feb. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1109653.
- [102] Andre F, Ciruelos E, Rubovszky G, *et al.*, ‘Alpelisib for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 380, no. 20, pp. 1929-1940, May 2019, doi: 10.1056/NEJMoa1813904.
- [103] Litton JK, Rugo HS, Ettl J, *et al.*, ‘Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 379, no. 8, pp. 753-763, Aug. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1802905.
- [104] Aboud K, Meissner M, Jones R, ‘Capivasertib/Fulvestrant in patients with HR+, HER2-low or HER2-negative locally advanced or metastatic breast cancer’, *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, vol. 17, Jul. 2025, doi: 10.1177/17588359251358947.

- [105] Gennari A, Bruzzi P, Orlandini C, *et al.*, ‘Activity of first-line epirubicin and paclitaxel in metastatic breast cancer is independent of type of adjuvant therapy’, *British Journal of Cancer*, vol. 90, no. 5, pp. 962-967, Mar. 2004, doi: 10.1038/sj.bjc.6601634.
- [106] Modi S, Jacot W, Yamashita T, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-low advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 387, no. 1, pp. 9-20, Jul. 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2203690.
- [107] Baselga J, Cortes J, Kim SB, *et al.*, ‘Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 366, no. 2, pp. 109-119, Jan. 2012, doi: 10.1056/NEJMoa1113216.
- [108] Miles D, Ciruelos E, Schneeweiss A, *et al.*, ‘Final results from the PERUSE study of first-line pertuzumab plus trastuzumab plus a taxane for HER2-positive locally recurrent or metastatic breast cancer, with a multivariable approach to guide prognostication’, *Annals of Oncology*, vol. 32, no. 10, pp. 1245-1255, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.annonc.2021.06.024.
- [109] Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR, *et al.*, ‘Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 27, no. 33, pp. 5529-5537, Nov. 2009, doi: 10.1200/JCO.2008.20.6847.
- [110] Huober J, Fasching PA, Barsoum M, *et al.*, ‘Higher efficacy of letrozole in combination with trastuzumab compared to letrozole monotherapy as first-line treatment in patients with HER2-positive, hormone-receptor-positive metastatic breast cancer - results of the eLEcTRA trial’, *Breast*, vol. 21, no. 1, pp. 27-33, Feb. 2012, doi: 10.1016/j.breast.2011.07.006.
- [111] Johnston S, Pippin J Jr., Pivot X, *et al.*, ‘Lapatinib combined with letrozole versus letrozole and placebo as first-line therapy for postmenopausal hormone receptor-positive metastatic breast cancer’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 27, no. 33, pp. 5538-5546, Nov. 2009, doi: 10.1200/JCO.2009.23.3734.

- [112] Murthy RK, Loi S, Okines A, *et al.*, ‘Tucatinib, trastuzumab, and capecitabine for HER2-positive Metastatic breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 7, pp. 597-609, Feb. 2020, doi: 10.1056/NEJMoa1914609.
- [113] Geyer CE, Forster J, Lindquist D, *et al.*, ‘Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 355, no. 26, pp. 2733-2743, Dec. 2006, doi: 10.1056/NEJMoa064320.
- [114] Krop IE, Kim SB, Gonzalez-Martin A, *et al.*, ‘Trastuzumab emtansine versus treatment of physician's choice for pretreated HER2-positive advanced breast cancer (TH3RESA): a randomised, open-label, phase 3 trial’, *Lancet Oncology*, vol. 15, no. 7, pp. 689-699, Jun. 2014, doi: 10.1016/S1470-2045(14)70178-0.
- [115] Modi S, Saura C, Yamashita T, *et al.*, ‘Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Breast Cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 382, no. 7, pp. 610-621, Feb. 2020, doi: 10.1056/NEJMoa1914510.
- [116] Bardia A, Hu X, Dent R, *et al.*, ‘DESTINY-Breast06 Trial Investigators. Trastuzumab Deruxtecan after Endocrine Therapy in Metastatic Breast Cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 391, no. 22, pp. 2110-2122, Dec 2024 doi: 10.1056/NEJMoa2407086.
- [117] Schmid P, Adams S, Rugo HS, *et al.*, ‘Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 379, no. 22, pp. 2108-2121, Nov. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1809615.
- [118] Cortes J, Rugo HS, Cescon DW, *et al.*, ‘Pembrolizumab plus chemotherapy in advanced triple-negative breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 387, no. 3, pp. 217-226, Jul. 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2202809.
- [119] Robson M, Im SA, Senkus E, *et al.*, ‘Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 377, no. 6, pp. 523-533, Aug. 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1706450.
- [120] Ettl J, Quek RGW, Lee KH, *et al.*, ‘Quality of life with talazoparib versus physician’s choice of chemotherapy in patients with advanced breast cancer and germline BRCA1/2 mutation: patient-reported outcomes from the EMBRACA

phase III trial', *Annals of Oncology*, vol. 29, no. 9, pp. 1939-1947, Sep. 2018, doi: 10.1093/annonc/mdy257.

[121] Miglietta F, Fabi A, Generali D, *et al.*, 'Optimizing choices and sequences in the diagnostic-therapeutic landscape of advanced triple-negative breast cancer: an Italian consensus paper and critical review', *Cancer Treatment Reviews*, vol. 114, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.ctrv.2023.102511.

[122] Miles DW, Dieras V, Cortes J, *et al.*, 'First-line bevacizumab in combination with chemotherapy for HER2-negative metastatic breast cancer: pooled and subgroup analyses of data from 2447 patients', *Annals of Oncology*, vol. 24, no. 11, pp. 2773-2780, Nov. 2013, doi: 10.1093/annonc/mdt276.

[123] Piccart-Gebhart MJ, Burzykowski T, Buyse M, *et al.*, 'Taxanes alone or in combination with anthracyclines as first line therapy of patients with metastatic breast cancer', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, no. 12, pp. 1980-1986, Apr. 2008, doi: 10.1200/JCO.2007.10.8399.

[124] Carrick S, Parker S, Thornton CE, *et al.*, 'Single agent versus combination chemotherapy for metastatic breast cancer', *Cochrane Database Systematic Reviews*, vol. 2009, no. 2, Apr. 2009, doi: 10.1002/14651858.CD003372.pub3.

[125] Cortes J, O'Shaughnessy J, Loesch D, *et al.*, 'Eribulin monotherapy versus treatment of physician's choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study', *Lancet*, vol. 377, no. 9769, pp. 914-923, Mar. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)60070-6.

[126] Bardia A, Hurvitz SA, Tolaney SM, *et al.*, 'Sacituzumab govitecan in metastatic triple-negative breast cancer', *The New England Journal of Medicine*, vol. 384, no. 16, pp. 1529-1541, Apr. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2028485.

[127] Colombo R, Rich JR, 'The therapeutic window of antibody drug conjugates: a dogma in need of revision', *Cancer Cell*, vol. 40, no. 11, pp. 1255-1263, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.ccell.2022.09.016.

- [128] Strebhardt K, Ullrich A, ‘Paul Ehrlich’s magic bullet concept: 100 years of progress’, *Nature Reviews Cancer*, vol. 8, no. 6, pp. 473-480, Jun. 2008, doi: 10.1038/nrc2394.
- [129] Jen EY, Ko CW, Lee JE, *et al.*, ‘FDA approval: gemtuzumab ozogamicin for the treatment of adults with newly diagnosed CD33-positive acute myeloid leukemia’, *Clinical Cancer Research*, vol. 24, no. 14, pp. 3242-3246, Jul. 2018, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3179.
- [130] Hong Y, Nam SM, Moon A, ‘Antibody-drug conjugates and bispecific antibodies targeting cancers: applications of click chemistry’, *Archives of Pharmacal Research*, vol. 46, no. 3, pp. 131-148, Mar. 2023, doi: 10.1007/s12272-023-01433-6.
- [131] Bardia A, Krop IE, Kogawa T, *et al.*, ‘Datopotamab deruxtecan in advanced or metastatic HR+/HER2– and triple- negative breast cancer: results from the phase I TROPION-PanTumor01 study’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 42, no. 19, pp. 2281-2294, Jul. 2024, doi: 10.1200/JCO.23.01909.
- [132] Peters C, Brown S, ‘Antibody-drug conjugates as novel anti-cancer chemotherapeutics’, *Bioscience Reports*, vol. 35, no. 4, Jun. 2015, doi: 10.1042/BSR20150089.
- [133] Tsumura R, Manabe S, Takashima H, *et al.*, ‘Influence of the dissociation rate constant on the intra-tumor distribution of antibody-drug conjugate against tissue factor’, *Journal of Controlled Release*, vol. 284, pp. 49-56, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.jconrel.2018.06.016.
- [134] Datta-Mannan A, Choi H, Jin ZY, *et al.*, ‘Reducing target binding affinity improves the therapeutic index of anti-MET antibody-drug conjugate in tumor bearing animals’, *PLoS One*, vol. 19, no. 4, Apr. 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0293703.
- [135] Asmani AZA, Zainuddin AFF, Azmi Murad NA, *et al.*, ‘Immunogenicity of monoclonal antibody: causes, consequences, and control strategies’, *Pathology – Research and Practice*, vol. 263, no. 155627, Nov. 2024, doi: 10.1016/j.prp.2024.155627.

- [136] Qian LH, Lin XF, Gao X, *et al.*, ‘The dawn of a New Era: targeting the “Undruggables” with antibody-based therapeutics’, *Chemical Reviews*, vol. 123, no. 12, pp. 7782-7853, Jun. 2023, doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00915.
- [137] Jefferis R, Lund J, Pound JD, ‘IgG-Fc-mediated effector functions: molecular definition of interaction sites for effector ligands and the role of glycosylation’, *Immunological Reviews*, vol. 163, pp. 59-76, Jun. 1998, doi: 10.1111/j.1600-065x.1998.tb01188.x.
- [138] Hafeez U, Parakh S, Gan HK, *et al.*, ‘Antibody-drug conjugates for cancer therapy’, *Molecules*, vol. 25, no. 20, p. 4764, Oct. 2020, doi: 10.3390/molecules25204764.
- [139] Yang C, He B, Zhang H, *et al.*, ‘IgG Fc affinity ligands and their applications in antibody-involved drug delivery: a brief review’, *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 1, p. 187, Jan. 2023, doi: 10.3390/pharmaceutics15010187.
- [140] Fu Z, Li S, Han S, *et al.*, ‘Antibody drug conjugate: the “biological missile” for targeted cancer therapy’, *Signal Transduction and Targeted Therapy*, vol. 7, no. 1, p. 93, Mar. 2022, doi: 10.1038/s41392-022-00947-7.
- [141] Jiang XR, Song A, Bergelson S, *et al.*, ‘Advances in the assessment and control of the effector functions of therapeutic antibodies’, *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 10, no. 2, pp-101-110, Feb. 2011, doi: 10.1038/nrd3365.
- [142] Klein C, Brinkmann U, Reichert JM, *et al.*, ‘The present and future of bispecific antibodies for cancer therapy’, *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 23, no. 4, pp. 301-319, Apr. 2024, doi: 10.1038/s41573-024-00896-6.
- [143] Saltalamacchia G, Torrisi R, De Sanctis R, *et al.*, ‘Charting the course in sequencing antibody-drug conjugates in breast cancer’, *Biomedicines*, vol. 12, no. 3, p. 500, Feb. 2024, doi: 10.3390/biomedicines12030500.
- [144] Tsuchikama K, An Z, ‘Antibody-drug conjugates: recent advances in conjugation and linker chemistries’, *Protein & Cell*, vol. 9, no. 1, pp. 33-46, Jan. 2018, doi: 10.1007/s13238-016-0323-0.

- [145] Sheyi R, de la Torre BG, Albericio F, ‘Linkers: an assurance for controlled delivery of antibody-drug conjugate’, *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 2, p. 396, Feb. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14020396.
- [146] Anand U, Dey A, Chandel AKS, *et al.*, ‘Cancer chemotherapy and beyond: current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics’, *Genes & Disease*, vol. 11, no. 4, p. 101211, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.gendis.2024.101211.
- [147] Chuprakov S, Ogunkoya AO, Barfield RM, *et al.*, ‘Tandem-cleavage linkers improve the in vivo stability and tolerability of antibody-drug conjugates’, *Bioconjugate Chemistry*, vol. 32, no. 4, pp. 746-754, Apr. 2021, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.1c00029.
- [148] Bargh JD, Isidro-Llobet A, Parker JS, *et al.*, ‘Cleavable linkers in antibody-drug conjugates’, *Chemical Society Reviews*, vol. 48, no. 16, pp. 4361-4374, Aug. 2019, doi: 10.1039/c8cs00676h.
- [149] Nolting B, ‘Linker technologies for antibody-drug conjugates’, *Methods in Molecular Biology*, vol. 1045, pp. 71-100, 2013, doi: 10.1007/978-1-62703-541-5_5.
- [150] Pillow TH, Sadowsky JD, Zhang D, *et al.*, ‘Decoupling stability and release in disulfide bonds with antibody-small molecule conjugates’, *Chemical Science*, vol. 8, no. 1 pp. 366-370, Jan. 2017, doi: 10.1039/c6sc01831a.
- [151] Ma W, Wang X, Zhang D, *et al.*, ‘Research progress of disulfide bond based tumor microenvironment targeted drug delivery system’, *International Journal of Nanomedicine*, vol. 19, pp. 7547-7566, Jul. 2024, doi: 10.2147/IJN.S471734.
- [152] Li B, Zhao W, Zhang X, *et al.*, ‘Design, synthesis and evaluation of anti-CD123 antibody drug conjugates’, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 24, no. 22, pp. 5855-5860, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.bmc.2016.09.043.
- [153] National Center for Biotechnology Information, ‘PubChem Compound Summary for CID 57544445, MC-Val-Cit-PABA’. Accessed: May 23, 2026

[Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/MC-Val-Cit-PABA>.

[154] Balamkundu S, Liu CF, ‘Lysosomal-cleavable peptide linkers in antibody drug conjugates’ *Biomedicines*, vol. 11, no. 11, p. 3080, Nov. 2023, doi: 10.3390/biomedicines11113080.

[155] Li M, Zhao X, Yu C, Wang L, ‘Antibody-drug conjugate overview: a state-of-the-art manufacturing process and control strategy’, *Pharmaceutical Research*, vol. 41, no. 3, pp. 419-440, Mar. 2024, doi: 10.1007/s11095-023-03649-z.

[156] Jeffrey SC, Andreyka JB, Bernhardt SX, *et al.*, ‘Development and properties of beta-glucuronide linkers for monoclonal antibody-drug conjugates’, *Bioconjugate Chemistry*, vol. 17, no. 3, pp. 831-840, May 2006, doi: 10.1021/bc0600214.

[157] Oflazoglu E, Stone IJ, Gordon K, *et al.*, ‘Potent anticarcinoma activity of the humanized anti-CD70 antibody h1F6 conjugated to the tubulin inhibitor auristatin via a non-cleavable linker’, *Clinical Cancer Research*, vol. 14, no. 19, pp. 6171-6180, Oct. 2008, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0916.

[158] Su DA, Zhang DL, ‘Linker design impacts antibody-drug conjugate pharmacokinetics and efficacy modulating the stability and payload release efficiency’, *Frontiers in Pharmacology*, vol. 12, Jun. 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.687926.

[159] Kostova V, Desos P, Starck JB, *et al.*, ‘The chemistry behind ADCs’, *Pharmaceuticals (Basel)*, vol. 14, no. 5, p. 442, May 2021, doi: 10.3390/ph14050442.

[160] Wang R, Hu B, Pan Z, *et al.*, ‘Antibody-Drug Conjugates (ADCs): current and future biopharmaceuticals’, *Journal of Hematology & Oncology*, vol. 18, no. 1, pp. 1-36, Apr. 2025, doi: 10.1186/s13045-025-01704-3.

[161] Beck A, Goetsch L, Dumontet C, *et al.*, ‘Strategies and challenges for the next generation of antibody-drug conjugates’, *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 16, no. 5, pp. 315-337, May 2017, doi: 10.1038/nrd.2016.268.

- [162] Drago JZ, Modi S, Chandarlapaty S, ‘Unlocking the potential of antibody-drug conjugates for cancer therapy’, *Nature Reviews Clinical Oncology*, vol. 18, no. 6, pp. 327-344, Jun. 2021, doi: 10.1038/s41571-021-00470-8.
- [163] Kaur R, Kaur G, Gill RK, *et al.*, ‘Recent developments in tubulin polymerization inhibitors: an overview’, *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 87, pp. 89-124, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2014.09.051.
- [164] Liu Q, Wang Y, Xia X, *et al.*, ‘Combinatorial biosynthesis of 3-O-Carbamoylmaytansinol by rational engineering of the tailoring steps of ansamitocins’, *ACS Synthetic Biology*, vol. 13, no. 3, pp. 721-727, Mar. 2024, doi: 10.1021/acssynbio.3c00575.
- [165] Cheung-Ong K, Giaever G, Nislow C, ‘DNA-damaging agents in cancer chemotherapy: serendipity and chemical biology’, *ACS Chemical Biology*, vol. 20, no. 5, pp. 648-659, May 2013, doi: 10.1016/j.chembiol.2013.04.007.
- [166] Fu Y, Ho M, ‘DNA damaging agent-based antibody-drug conjugates for cancer therapy’, *Antibody Therapeutics*, vol. 1, no. 2, pp. 33-43, Sep. 2018, doi: 10.1093/abt/tby007.
- [167] Saltalamacchia G, Torrisi R, De Sanctis R, *et al.*, ‘Charting the course in sequencing antibody-drug conjugates in breast cancer’, *Biomedicines*, vol. 12, no. 3, p. 500, Feb. 2024, doi: 10.3390/biomedicines12030500.
- [168] Tiberghien AC, Howard PW, Goundry WRF, *et al.*, ‘An alternative focus for route design for the synthesis of antibody-drug conjugate payloads’, *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 84, no. 8, pp. 4830-4836, Apr. 2019, doi: 10.1021/acs.joc.8b02876.
- [169] Hartley JA, Flynn MJ, Bingham JP, *et al.*, ‘Pre-clinical pharmacology and mechanism of action of SG3199, the pyrrolobenzodiazepine (PBD) dimer warhead component of antibody-drug conjugate (ADC) payload tesirine’, *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, Jul. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-28533-4.
- [170] Elgersma RC, Coumans RG, Huijbregts T, *et al.*, ‘Design, synthesis, and evaluation of linker-duocarmycin payloads: toward selection of HER2-targeting

Antibody-drug conjugate SYD985', *Molecular Pharmaceutics*, vol. 12, no. 6, pp. 1813-1815, Jun. 2015, doi: 10.1021/mp500781a.

[171] Yao HP, Zhao H, Hudson R, *et al.*, 'Duocarmycin-based antibody-drug conjugates as an emerging biotherapeutic entity for targeted cancer therapy: Pharmaceutical strategy and clinical progress', *Drug Discovery Today*, vol. 26, no. 8, pp. 1857-1874, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.drudis.2021.06.012.

[172] Talukdar A, Kundu B, Sarkar D, *et al.*, 'Topoisomerase I inhibitors: challenges, progress and the road ahead', *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 236, Jun. 2022, doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114304.

[173] Tu Z, Xiao R, Xiong J, *et al.*, 'CCR9 in cancer: oncogenic role and therapeutic targeting', *Journal of Hematology & Oncology*, vol. 9, Feb. 2016, doi: 10.1186/s13045-016-0236-7.

[174] Dhillon S, 'Moxetumomab pasudotox: first global approval', *Drugs*, vol. 78, no. 16, pp. 1763-1777, Nov. 2018, doi: 10.1007/s40265-018-1000-9.

[175] Weldon JE, Xiang L, Chertov O, *et al.*, 'A protease-resistant immunotoxin against CD22 with greatly increased activity against CLL and diminished animal toxicity', *Blood*, vol. 113, no. 16, pp. 3792-3800, Apr. 2009, doi: 10.1182/blood-2008-08-173195.

[176] Xie Z, Fan T, An J, *et al.*, 'Emerging combination strategies with phototherapy in cancer nanomedicine', *Chemical Society Reviews*, vol. 49, no. 22,, pp. 8065-8087, Nov. 2020, doi: 10.1039/d0cs00215a.

[177] Larue L, Myrzakhmetov B, Ben-Mihoub A, *et al.*, 'Fighting hypoxia to improve PDT', *Pharmaceutics (Basel)*, vol. 12, no. 4, p. 163, Oct. 2019, doi: 10.3390/ph12040163.

[178] Aebischer D, Serafin I, Batog-Szczech K, *et al.*, 'Photodynamic therapy in the treatment of cancer-the selection of synthetic photosensitizers', *Pharmaceutics (Basel)*, vol. 17, no. 7, p. 932, Jul. 2024, doi: 10.3390/ph17070932.

[179] Kobayashi H, Furusawa A, Rosenberg A, *et al.*, 'Near-infrared photodynamic immunotherapy of cancer: a new approach that kills cancer cells and enhances

anti-cancer host immunity’, *International Immunology*, vol. 33, no. 1, pp. 7-15, Jan. 2021, doi: 10.1093/intimm/dxaa037.

[180] Dumontet C, Reichert JM, Senter PD, *et al.*, ‘Antibody drug conjugates come of age in oncology’, *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 22, no. 8, pp. 641-661, Aug. 2023, doi: 10.1038/s41573-023-00709-2.

[181] Chang HP, Cheung YK, Shah DK, ‘Whole-body pharmacokinetics and physiologically based pharmacokinetic Model for Monomethyl Aurista tin E (MMAE)’, *Journal of Clinical Medicine*, vol. 10, no. 6, p. 1332, Mar. 2021, doi: 10.3390/jcm10061332.

[182] Schumacher D, Hackenberger CP, Leonhardt H, *et al.*, ‘Current status: site-specific antibody drug conjugates’, *Journal of Clinical Immunology*, vol. 36, no. 1, pp. 100-107, May 2016, doi: 10.1007/s10875-016-0265-6.

[183] Esapa B, Jiang JX, Cheung A, *et al.*, ‘Target antigen attributes and their contributions to clinically approved Antibody-Drug Conjugates (ADCs) in haematopoietic and solid cancers’, *Cancers*, vol. 15, no. 6, p. 1845, Mar. 2023, doi: 10.3390/cancers15061845.

[184] Damelin M, Zhong W, Myers J, *et al.*, ‘Evolving strategies for target selection for antibody-drug conjugates’, *Pharmaceutical Research*, vol. 32, no. 11, pp. 3494-3507, Nov. 2015, doi: 10.1007/s11095-015-1624-3.

[185] Chau CH, Steeg PS, Figg WD, ‘Antibody-drug conjugates for cancer’, *Lancet*, vol. 394, no. 10200, pp. 793-804, Aug. 2019, doi: 10.1016/S0140-6736(19)31774-X.

[186] Jiang M, Li Q, Xu B, ‘Spotlight on ideal target antigens and resistance in antibody-drug conjugates: strategies for competitive advancement’, *Drug Resistance Updates*, vol. 75, Jul. 2024, doi: 10.1016/j.drug.2024.101086.

[187] Lenárt S, Lenárt P, Smarda J, *et al.*, ‘Trop2: jack of all trades, master of none’, *Cancers*, vol. 12, no. 11, p. 3328, Nov. 2020, doi: 10.3390/cancers12113328.

- [188] Samanta D, Almo SC, 'Nectin family of cell-adhesion molecules: structural and molecular aspects of function and specificity', *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 72, no. 4, pp. 645-658, Feb. 2015, doi: 10.1007/s00018-014-1763-4.
- [189] Gonzalez T, Muminovic M, Nano O, *et al.*, 'Folate receptor Alpha-A novel approach to cancer therapy', *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 25, no. 2, p. 1046, Jan. 2024, doi: 10.3390/ijms25021046.
- [190] Gilbert L, Oaknin A, Matulonis UA, *et al.*, 'Safety and efficacy of mirvetuximab soravtansine, a folate receptor alpha (FRalpha)-targeting antibody-drug conjugate (ADC), in combination with bevacizumab in patients with platinum resistant ovarian cancer', *Gynecologic Oncology*, vol. 170, pp. 241-247, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.ygyno.2023.01.020.
- [191] Tsuchikama K, Anami Y, Ha SY, *et al.*, 'Exploring the next generation of antibody-drug conjugates', *Nature Reviews Clinical Oncology*, vol. 21, no. 3, pp. 203-223, Mar. 2024, doi: 10.1038/s41571-023-00850-2.
- [192] He J, Zeng X, Wang C, *et al.*, 'Antibody-drug conjugates in cancer therapy: mechanisms and clinical studies', *MedComm (2020)*, vol. 5, no. 8, p. 671, Jul. 2024, doi: 10.1002/mco2.671.
- [193] Liu R, Oldham RJ, Teal E, *et al.*, 'Fc-engineering for modulated effector functions-improving antibodies for cancer treatment', *Antibodies (Basel)*, vol. 9, no. 4, p. 64, Nov. 2020, doi: 10.3390/antib9040064.
- [194] Herter S, Herting F, Muth G, *et al.*, 'GA101 P329GLALA, a variant of obinutuzumab with abolished ADCC, ADCP and CDC function but retained cell death induction, is as efficient as rituximab in B-cell depletion and antitumor activity', *Haematologica*, vol. 103, no. 2, pp. 78-81, Feb. 2018, doi: 10.3324/haematol.2017.178996.
- [195] Graziano RF, Engelhardt JJ, 'Role of FcγRs in antibody-based cancer therapy', *Current Topics in Microbiology and Immunology*, vol. 423, pp. 13-34, 2019, doi: 10.1007/82_2019_150.

- [196] Henriques C, da Ana R, Krambeck K, *et al.*, ‘Monoclonal antibodies for the treatment of ocular diseases’, *Journal of Clinical Medicine*, vol. 13, no. 19, p. 5815, Sep. 2024, doi: 10.3390/jcm13195815.
- [197] Gogesch P, Dudek S, van Zandbergen G, *et al.*, ‘The role of Fc receptors on the effectiveness of therapeutic monoclonal antibodies’, *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, no. 16, p. 8497, Aug. 2021, doi: 10.3390/ijms22168947.
- [198] Birrer MJ, Moore KN, Betella I, *et al.*, ‘Antibody-drug conjugate based therapeutics: state of the science’, *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 111, no. 6, pp. 538-549, Jun. 2019, doi: 10.1093/jnci/djz035.
- [199] Phuna ZX, Kumar PA, Haroun E, *et al.*, ‘Antibody-drug conjugates: principles and opportunities’, *Life Sciences*, vol. 347, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.lfs.2024.122676.
- [200] Giugliano F, Corti C, Tarantino P, *et al.*, ‘Bystander effect of antibody-drug conjugates: fact or fiction?’, *Current Oncology Reports*, vol. 24, no. 7, pp. 809-817, Jul. 2022, doi: 10.1007/s11912-022-01266-4.
- [201] Guo Y, Shen Z, Zhao W, *et al.*, ‘Rational identification of novel antibody-drug conjugate with high bystander killing effect against heterogeneous tumors’, *Advanced Science (Weinh)*, vol. 11, no. 13, Apr. 2024, doi: 10.1002/advs.202306309.
- [202] Ogitani Y, Hagihara K, Oitate M, *et al.*, ‘Bystander killing effect of DS-8201a, a novel anti-human epidermal growth factor receptor 2 antibody-drug conjugate, in tumors with human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneity’, *Cancer Science*, vol. 107, no. 7, pp. 1039-1046, Jul. 2016, doi: 10.1111/cas.12966.
- [203] Harris CT, Cohen S, ‘Reducing immunogenicity by design: approaches to minimize immunogenicity of monoclonal antibodies’, *BioDrugs*, vol. 38, no. 2, pp. 205-226, Mar. 2024, doi: 10.1007/s40259-023-00641-2.

- [204] Williams JP, Handler HL, ‘Antibody-targeted chemotherapy for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia’, *American Journal of Managed Care*, vol. 6, no. 18, pp. 975-985, Oct. 2000, PMID: 11184568.
- [205] O’Hear C, Rubnitz JE, ‘Recent research and future prospects for gemtuzumab ozogamicin: could it make a comeback?’, *Expert Review of Hematology*, vol. 7, no. 4, pp. 427-429, Aug. 2014, doi: 10.1586/17474086.2014.924849.
- [206] Sun X, Ponte JF, Yoder NC, *et al.*, ‘Effects of drug-antibody ratio on pharmacokinetics, biodistribution, efficacy, and tolerability of antibody-maytansinoid conjugates’, *Bioconjugate Chemistry*, vol. 28, no. 5, pp. 1371-1381, May 2017, doi: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00062.
- [207] Farràs M, Miret J, Camps M, *et al.*, ‘Homogeneous antibody-drug conjugates: DAR 2 anti-HER2 obtained by conjugation on isolated light chain followed by mAb assembly’, *Mabs*, vol. 12, no. 1, Dec.-Jan. 2020, doi: 10.1080/19420862.2019.1702262.
- [208] Strop P, Delaria K, Foletti D, *et al.*, ‘Site-specific conjugation improves therapeutic index of antibody drug conjugates with high drug loading’, *Nature Biotechnology*, vol. 33, no. 7, pp. 694-696, Jul. 2015, doi: 10.1038/nbt.3274.
- [209] Cheng YZ, Yuan XX, Tian Q, *et al.*, ‘Preclinical profiles of SKB264, a novel anti-TROP2 antibody conjugated to topoisomerase inhibitor, demonstrated promising antitumor efficacy compared to IMMU-132’, *Frontiers in Oncology*, vol. 13, Dec. 2022, doi: 10.3389/fonc.2022.951589.
- [210] Syed YY, ‘Sacituzumab govitecan: first approval’, *Drugs*, vol. 80, no. 10, pp. 1019-1025, Jul. 2020, doi: 10.1007/s40265-020-01337-5.
- [211] Keam SJ, ‘Trastuzumab deruxtecan: first approval’, *Drugs*, vol. 80, no. 5, pp. 501-508, Apr. 2020, doi: 10.1007/s40265-020-01281-4.
- [212] Martín M, Pandiella A, Vargas-Castrillón E, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan in breast cancer’, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, vol. 198, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.critrevonc.2024.104355.

- [213] European Commission, ‘Enhertu (trastuzumab deruxtecan): riassunto caratteristiche del prodotto, pp. 3, 5, 8, 13. Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210118150509/anx_150509_it.pdf.
- [214] Yin O, Xiong Y, Endo S, *et al.*, ‘Population pharmacokinetics of trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-positive breast cancer and other solid tumors’, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 109, no. 5, pp. 1314–1325, May 2021, doi: 10.1002/cpt.2096.
- [215] Nagai Y, Oitate M, Shiozawa H, *et al.*, ‘Comprehensive preclinical pharmacokinetic evaluations of trastuzumab deruxtecan (DS-8201a), a HER2-targeting antibody-drug conjugate, in cynomolgus monkeys’, *Xenobiotica*, vol. 49, no. 9, pp. 1086–1096, 2019.
- [216] Ogitani Y, Aida T, Hagihara K, *et al.*, ‘DS-8201a, a novel HER2-targeting ADC with a novel DNA topoisomerase I inhibitor, demonstrates a promising antitumor efficacy with differentiation from T-DM1’, *Clinical Cancer Research*, vol. 22, no. 20, pp. 5097–5108, Oct. 2016, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2822.
- [217] Okamoto H, Oitate M, Hagihara K, *et al.*, ‘Pharmacokinetics of trastuzumab deruxtecan (T-DXd), a novel anti-HER2 antibody-drug conjugate, in HER2-positive tumour-bearing mice’, *Xenobiotica*, vol. 50, no. 10, pp. 1242–1250, Oct. 2020, doi: 10.1080/00498254.2020.1755909.
- [218] Perez J, Garrigos L, Gion M, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan in HER2-positive metastatic breast cancer and beyond’, *Expert Opinion on Biological Therapy*, vol. 21, no. 7, pp. 811–824, Jul. 2021, doi: 10.1080/14712598.2021.1890710.
- [219] Nakada T, Sugihara K, Jikoh T, *et al.*, ‘The latest research and development into the antibody-drug conjugate, [fam-] trastuzumab deruxtecan (DS- 8201a), for HER2 cancer therapy’, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 67, no. 3, pp. 173–185, 2019, doi: 10.1248/cpb.c18-00744.
- [220] Perez EA, Hillman DW, Mailliard JA, *et al.*, ‘Randomized phase II study of two irinotecan schedules for patients with metastatic breast cancer refractory to an

anthracycline, a taxane, or both’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 22, no. 14, pp. 2849–2855, Jul. 2004, doi: 10.1200/JCO.2004.10.047.

[221] Ogitani Y, Hagihara K, Oitate M, *et al.*, ‘Bystander killing effect of DS-8201a, a novel anti-human epidermal growth factor receptor 2 antibody- drug conjugate, in tumors with human epidermal growth factor receptor 2 heterogeneity’, *Cancer Science*, vol. 107, no. 7, pp. 1039–1046, Jul. 2016, doi: 10.1111/cas.12966.

[222] Iwata TN, Ishii C, Ishida S, *et al.*, ‘A HER2- targeting antibody-drug conjugate, trastuzumab deruxtecan (DS-8201a), enhances antitumor immunity in a mouse model’, *Mol. Cancer Ther*, vol. 17, no. 7, pp. 1494–1503, Jul. 2018, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0749.

[223] Doi T, Shitara K, Naito Y, *et al.*, ‘Safety, pharmacokinetics, and antitumour activity of trastuzumab deruxtecan (DS-8201), a HER2-targeting antibody-drug conjugate, in patients with advanced breast and gastric or gastro-oesophageal tumours: a phase 1 dose-escalation study’, *Lancet Oncology*, vol. 18, no. 11, pp. 1512-1522, Nov. 2017, doi: 10.1016/S1470-2045(17)30604-6.

[224] Tamura K, Tsurutani J, Takahashi S, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan (DS-8201a) in patients with advanced HER2-positive breast cancer previously treated with trastuzumab emtansine: a dose-expansion, phase 1 study’, *Lancet Oncology*, vol. 20, no. 6, pp. 816-829, Jun. 2019, doi: 10.1016/S1470-2045(19)30097-X.

[225] André F, Hee Park Y, Kim SB, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan versus treatment of physician's choice in patients with HER2-positive metastatic breast cancer (DESTINY-Breast02): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial’, *The Lancet*, vol. 401, no. 10390, pp. 1773-1785, May 2023, doi: 10.1016/S0140-6736(23)00725-0.

[226] Cortés J, Kim SB, Chung WP, *et al.*, ‘Trastuzumab Deruxtecan versus Trastuzumab Emtansine for Breast Cancer’ *The New England Journal of Medicine*, vol. 386, no. 12, pp. 1143-1154, Mar. 2022, doi: 10.1056/NEJMoa2115022.

[227] Hurvitz SA, Hegg R, Chung WP, *et al.*, ‘Trastuzumab deruxtecan versus trastuzumab emtansine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer: updated results from DESTINY-Breast03, a randomised, open-label, phase 3 trial’,

Lancet, vol. 401, no. 10371, pp. 105-117, Jan. 2023, doi: 10.1016/S0140-6736(22)02420-5.

[228] Curigliano G, Dunton K, Rosenlund M, *et al.*, ‘Patient-reported outcomes and hospitalization data in patients with HER2-positive metastatic breast cancer receiving trastuzumab deruxtecan or trastuzumab emtansine in the phase III DESTINY-Breast03 study’, *Annals of Oncology*, vol. 34, no. 7, pp. 569–577, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.annonc.2023.04.516.

[229] Loibl S, Park YH, Shao Z, *et al.*, ‘Trastuzumab Deruxtecan in Residual HER2-Positive Early Breast Cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 394, no. 9, pp. 845-957, Feb. 2026 Feb, doi: 10.1056/NEJMoa2514661.

[230] Bardia A, Hu X, Dent R, *et al.*, ‘Trastuzumab Deruxtecan after Endocrine Therapy in Metastatic Breast Cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 391, no. 22, pp. 2110-2122, Dec. 2024, doi: 10.1056/NEJMoa2407086.

[231] Harbeck N, Modi S, Pusztai L, *et al.*, ‘Neoadjuvant trastuzumab deruxtecan alone or followed by paclitaxel, trastuzumab, and pertuzumab for high-risk HER2-positive early breast cancer: a randomised, open-label, multicentre, phase III trial’, *Annals of Oncology*, vol. 37, no. 2, pp. 166-179, Oct. 2025, doi: 10.1016/j.annonc.2025.10.019.

[232] Associazione Italiana Oncologia Medica, ‘DESTINY-Breast15 - A Phase 3b, Multicenter, Global, Interventional, Open-label Study of Trastuzumab Deruxtecan (T-DXd), an Anti-HER2-Antibody Drug Conjugate (ADC), in Subjects Who Have Unresectable and/or Metastatic HER2-low or HER2 Immunohistochemistry (IHC) 0 Breast Cancer’, Accessed: May 23, 2026. [Online]. Available: <https://studiclinici.aiom.it/studi-clinici/elenco-completo-studi-clinici/destiny-breast15--a-phase-3b-multicenter-global-interventional-open-label-study-of-trastuzumab-deruxtecan-t-dxd--an-anti-her2-antibody-drug-conjugate-/6-510-25280>

[233] Wakasa M, Masaki M, Kajinami K, ‘Trastuzumab Cardiotoxicity: Mechanism and Management’, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 48, no. 9, pp. 1287-1294, 2025, doi: 10.1248/bpb.b25-00235.

- [234] Wekking D, Porcu M, Pellegrino B, *et al.*, ‘Multidisciplinary clinical guidelines in proactive monitoring, early diagnosis, and effective management of trastuzumab deruxtecan (T-DXd)-induced interstitial lung disease (ILD) in breast cancer patients’, *ESMO Open*, vol. 8, no. 6, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.esmoop.2023.102043.
- [235] Wedam S, Fashoyin-Aje L, Gao X, *et al.*, ‘FDA Approval summary: adotrastuzumab emtansine for the adjuvant treatment of HER2-positive early breast cancer’, *Clinical Cancer Research*, vol. 26, no. 16, pp. 4180-4185, Aug. 2020, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3980.
- [236] Panaampon J, Sungwan P, Fujikawa S, *et al.*, ‘Trastuzumab, a monoclonal anti-HER2 antibody modulates cytotoxicity against cholangiocarcinoma via multiple mechanisms’, *International Immunopharmacology*, vol. 138, Sep. 2024, doi: 10.1016/j.intimp.2024.112612.
- [237] Markides DM, Hita AG, Merlin J, *et al.*, ‘Antibody-Drug Conjugates: The Toxicities and Adverse Effects That Emergency Physicians Must Know’, *Annals of Emergency Medicine*, vol. 85, no. 3, pp. 214-229, Mar. 2025, doi: 10.1016/j.annemergmed.2024.10.015.
- [238] Pondé N, Ameye L, Lambertini M, *et al.*, ‘Trastuzumab emtansine (T-DM1)-associated cardiotoxicity: pooled analysis in advanced HER2- positive breast cancer’, *European Journal of Cancer*, vol. 126, pp. 65-73, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.ejca.2019.11.023.
- [239] Papageorgiou GI, Symeonidis DG, Tsakatikas SA, *et al.*, ‘Central neurotoxicity induced by trastuzumab emtansine (T-DM1): a case report’, *Anticancer Drugs*, vol. 32, pp. 1146-1149, Nov. 2021, doi: 10.1097/CAD.0000000000001117.
- [240] Diéras V, Miles D, Verma S, *et al.*, ‘Trastuzumab emtansine versus capecitabine plus lapatinib in patients with previously treated HER2- positive advanced breast cancer (EMILIA): a descriptive analysis of final overall survival results from a randomised, open-label, phase 3 trial’, *Lancet Oncology*, vol. 18, pp. 732-742, Jun. 2017, doi: 10.1016/S1470-2045(17)30312-1.

- [241] Lombardi J, Lory P, Martin N, *et al.*, ‘Trastuzumab-emtansine induced pleural and pericardial effusions’, *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, vol. 27, pp. 2041-2044, dec. 201, doi: 10.1177/10781552211015772.
- [242] Singh A, Singh DK, Bhorla U, ‘Infusion reactions associated with use of biologic medicines in cancer therapy’, *Oncocytology*, vol. 4, pp. 10-18, Jan. 2014.
- [243] Yong WP, Teo FS, Teo LL, *et al.*, ‘Clinical best practices in optimal monitoring, early diagnosis, and effective management of antibody drug conjugate-induced interstitial lung disease or pneumonitis: a multidisciplinary team approach in Singapore’, *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, vol. 18, pp. 805-815, 2022, doi: 10.1080/17425255.2022.2162383.
- [244] Kaboli PJ, Shabani S, Sharma S, *et al.*, ‘Shedding light on triple-negative breast cancer with Trop2-targeted antibody-drug conjugates’, *American Journal of Cancer Research*, vol. 12, no. 4, pp. 1671-1685, Apr. 2022, PMID: 35530278.
- [245] McGregor BA, Sonpavde GP, Kwak L, *et al.*, ‘The Double Antibody Drug Conjugate (DAD) Phase I trial: sacituzumab govitecan plus enfortumab vedotin for metastatic urothelial carcinoma’, *Annals of Oncology*, vol. 35, no. 1, pp. 91-97, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.annonc.2023.09.3114.
- [246] Bardia A, Mayer IA, Vahdat LT, *et al.*, ‘Sacituzumab govitecan-hziy in refractory metastatic triple-negative breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 380, pp. 741-751, Feb. 2019, doi: 10.1056/NEJMoa1814213.
- [247] Bardia A, Hurvitz SA, Tolaney SM, *et al.*, ‘Sacituzumab govitecan in metastatic triple-negative breast cancer’, *The New England Journal of Medicine*, vol. 384, pp. 1529-1541, Apr. 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2028485.
- [248] Heist RS, Sands J, Bardia A, *et al.*, ‘Clinical management, monitoring, and prophylaxis of adverse events of special interest associated with datopotamab deruxtecan’, *Cancer Treatment Reviews*, vol. 125, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.ctrv.2024.102720.
- [249] Shimizu T, Sands J, Yoh K, *et al.*, ‘First-in-Human, Phase I Dose-Escalation and Dose-Expansion Study of Trophoblast Cell-Surface Antigen 2-Directed

Antibody-Drug Conjugate Datopotamab Deruxtecan in Non- Small-Cell Lung Cancer: TROPION-PanTumor01', *Journal of Clinical Oncology*, vol. 41, pp. 4678-4687, Oct. 2023, doi: 10.1200/JCO.23.00059.

[250] Alt M, Stecca C, Tobin S, *et al.*, 'Enfortumab Vedotin in urothelial cancer', *Therapeutic Advances in Urology*, vol. 27, no. 12, Dec. 2020, Dec doi: 10.1177/1756287220980192.

[251] Sternschuss M, Rosenberg JE, 'Enfortumab vedotin and pembrolizumab: redefining the standard of care for previously untreated advanced urothelial cancer', *Future Oncology*, vol. 21, no. 11, pp. 1333-1348, May 2025, doi: 10.1080/14796694.2025.2482363.

[252] Rehim S, Yuan S, Wang H, 'Mirvetuximab Soravtansine in solid tumors: A systematic review and meta-analysis', *PLoS One*, vol. 19, no. 12, Dec. 2024, doi: 10.1371/journal.pone.0310736.

[253] Agostinelli V, Musacchio L, Camarda F, *et al.*, 'Therapeutic Potential of Tisotumab Vedotin in the Treatment of Recurrent or Metastatic Cervical Cancer: A Short Report on the Emerging Data', *Cancer Management and Research*, vol. 15, pp 1063-1072, Sep. 2023, doi: 10.2147/CMAR.S294080.

[254] Zeng S, Li X, Xiao S, *et al.*, 'The efficacy and safety of Tisotumab vedotin in the treatment of recurrent/metastatic cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of single-arm studies', *Frontiers in Pharmacology*, vol. 16, May 2025, doi: 10.3389/fphar.2025.1538980.

[255] Saura C, Cortés J, Modi S, *et al.*, 'Pooled analysis by best confirmed response to trastuzumab deruxtecan and related biomarkers in patients with HER2-positive metastatic breast cancer from DESTINY-Breast01, DESTINY-Breast02, and DESTINY-Breast03', *Annals of Oncology*, vol. 37, no. 3, pp. 353-363, Mar. 2026, doi: 10.1016/j.annonc.2025.11.007.

[256] Bardia A, Tolaney SM, Punie K, *et al.*, 'Biomarker analyses in the phase III ASCENT study of sacituzumab govitecan versus chemotherapy in patients with metastatic triple-negative breast cancer', *Annals of Oncology*, vol. 32, no. 9, pp. 1148-1156, Sep. 2021, doi: 10.1016/j.annonc.2021.06.002.

[257] Meric-Bernstam F, Makker V, Oaknin A, *et al.*, ‘Efficacy and Safety of Trastuzumab Deruxtecan in Patients With HER2-Expressing Solid Tumors: Primary Results From the DESTINY-PanTumor02 Phase II Trial’, *Journal of Clinical Oncology*, vol. 42, no. 1, pp. 47-58, Jan. 2024, doi: 10.1200/JCO.23.02005.