



**UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA**

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

**INCIDENZA E FATTORI
ASSOCIATI ALLO SVILUPPO DI
EVENTI AVVERSI IMMUNO-
CORRELATI IN PAZIENTI
ONCOLOGICI IN
TRATTAMENTO CON INIBITORI
DEL PD-1 E PD-L1**

**Relatore: Chiar.mo
Prof. Armando Gabrielli**

**Tesi di Laurea di:
Simone Donzelli**

A.A. 2018/2019

INDICE

1	IMMUNOTERAPIA.....	6
1.1	<i>CENNI GENERALI E STORIA.....</i>	6
1.2	<i>RELAZIONE TRA SISTEMA IMMUNITARIO E CANCRO</i>	8
1.3	<i>TIPOLOGIE DI IMMUNOTERAPIA ONCOLOGICA</i>	9
1.3.1	VACCINO	9
1.3.2	CITOCHINE	10
1.3.3	CELLULE CAR-T.....	11
1.3.4	TERAPIA CON ANTICORPI.....	11
2	CHECKPOINT IMMUNITARIO.....	13
2.1	<i>RUOLO FISILOGICO DEL CHECKPOINT IMMUNITARIO</i>	13
2.1.1	ESPRESSIONE, SIGNALING E RUOLO DEL CTLA-4.....	14
2.1.2	ESPRESSIONE, SIGNALING e RUOLO DI PD-1 E DEI SUOI LIGANDI 15	
2.2	<i>RUOLO DI CTLA-4 e DELL'ASSE PDI/PD-L1 NEL CANCRO</i>	16
2.3	<i>ALTRE MOLECOLE DEL CHECKPOINT IMMUNITARIO</i>	17
3	INIBITORI DEL CHECKPOINT IMMUNITARIO	19
3.1	<i>IPILIMUMAB</i>	19
3.1.1	POSOLOGIA.....	20
3.1.2	FERTILITA', GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO.....	20
3.1.3	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	21

3.2	<i>NIVOLUMAB</i>	22
3.2.1	POSOLOGIA.....	24
3.2.2	GRAVIDANZA, FERTILITA' ED ALLATTAMENTO	24
3.2.3	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	24
3.3	<i>PEMBROLIZUMAB</i>	25
3.3.1	POSOLOGIA.....	27
3.3.2	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	27
3.4	<i>DURVALUMAB</i>	28
3.4.1	INDICAZIONI TERAPEUTICHE.....	28
3.4.2	POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE.....	28
3.4.3	GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO E FERTILITA'	29
3.4.4	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	29
3.5	<i>ATEZOLIZUMAB</i>	30
3.5.1	POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE.....	31
3.5.2	GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO E FERTILITA'	31
3.5.3	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	31
3.6	<i>AVELUMAB</i>	32
3.6.1	POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE.....	32
3.6.2	PROPRIETA' FARMACOCINETICHE	33
4	EVENTI AVVERSI IMMUNO-RELATI (IRaes).....	34
4.1	<i>irAE APPARATO RESPIRATORIO</i>	37
4.1.1	SINTOMI ED IMAGING.....	37
4.1.2	TRATTAMENTO	39

4.2	<i>irAEs CUTANEI</i>	40
4.2.1	TRATTAMENTO	41
4.3	<i>irAEs SISTEMA ENDOCRINO</i>	41
4.3.1	IPOFISITE	41
4.3.2	TIROIDITE.....	43
4.3.3	INSUFFICIENZA SURRENALICA PRIMARIA (PAI).....	44
4.3.4	DIABETE INSULINO-PRIVO (IDD)	45
4.4	<i>irAEs GASTROENTERICI</i>	46
4.4.1	COLITE	46
4.4.2	EPATITE	47
4.4.3	ALTRI EFFETTI COLLATERALI.....	48
4.5	<i>irAEs REUMATOLOGICI</i>	49
4.5.1	TRATTAMENTO	50
4.6	<i>irAEs CARDIACI</i>	52
4.6.1	MIOCARDITE	52
4.6.2	ALTRE MANIFESTAZIONI.....	54
4.7	<i>irAEs NEUROLOGICI</i>	54
4.7.1	MANIFESTAZIONI.....	55
4.8	<i>irAEs GENITOURINARI</i>	56
4.9	<i>irAEs EMATOLOGICI ed OCULARI</i>	57
5	OBIETTIVO DELLO STUDIO.....	58
6	PAZIENTI E METODI	59
6.1	<i>PAZIENTI</i>	59
6.2	<i>PROCEDURE DELLO STUDIO</i>	60

6.2.1	PRIMA VISITA.....	60
6.2.2	VISITE DI FOLLOW UP.....	61
6.3	<i>OUTCOME</i>	61
6.4	<i>ANALISI STATISTICA</i>	62
7	RISULTATI.....	63
7.1	<i>CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI</i>	63
7.2	<i>INCIDENZA E TASSO DI INCIDENZA DEGLI irAEs</i>	65
7.3	<i>CARATTERISTICHE CLINICO-LABORATORISTICHE DEI PRINCIPALI irAEs</i>	66
7.4	<i>ANALISI DELLA SOPRAVVIVENZA</i>	73
8	DISCUSSIONE.....	76
9	CONCLUSIONI	79
10	BIBLIOGRAFIA.....	80

INTRODUZIONE

1 IMMUNOTERAPIA

1.1 CENNI GENERALI E STORIA

Il cancro è una patologia molto frequente e rappresenta una delle maggiori cause di mortalità, basti pensare che il solo cancro del polmone rappresenta la 5° causa di morte al mondo, dopo gli accidenti cardiovascolari, le patologie croniche ostruttive polmonari, le infezioni respiratorie e le patologie neurodegenerative¹. Nel 2018 si sono avuti 18,1 milioni di nuovi casi e 9,6 milioni di morti per cancro e più di 30 milioni di persone sta affrontando la patologia².

Le tradizionali terapie contro il cancro quali Radioterapia, Chemioterapia e Terapie mirate (Targeted Therapy) hanno la caratteristica di agire direttamente sul tumore andando ad inibirne la crescita e guidandone la distruzione, tuttavia il tumore sviluppa spesso dei meccanismi di resistenza contro questi agenti ed inoltre la loro importante tossicità frequentemente ne limita la somministrazione a livelli efficaci.

Le Immunoterapie sono invece progettate per sfruttare il sistema immunitario del paziente, andando ad agire direttamente su di esso al fine di combattere il cancro e potrebbero quindi superare alcuni dei meccanismi di resistenza che si verificano con le terapie tradizionali³.

Il sistema immunitario gioca un ruolo di primo piano nello sviluppo e nel controllo delle neoplasie, è infatti accertato che pazienti immunodepressi presentano un rischio più elevato di sviluppare il cancro rispetto a pazienti immunocompetenti⁴, ma solo negli ultimi anni ci si è concentrati sulla comprensione dei meccanismi grazie al quale ciò avviene, in conseguenza dei recenti successi dell'Immuno-oncologia⁵.

Andando indietro nel tempo però ci rendiamo conto di come l'utilizzo di trattamenti immunoterapici sia molto datato, risalendo infatti a più di un secolo fa, quando a partire dal 1891 il chirurgo americano William B.Coley, considerato "il padre dell'Immunoterapia

Oncologica”, iniziò ad inoculare la Tossina di Coley nei suoi pazienti, descrivendo in oltre 150 documenti la sua notevole efficacia su pazienti affetti da Sarcoma osseo o dei tessuti molli ⁶. I suoi principi trovarono conferma solo nel 1976 quando si dimostrò l’efficacia del Bacillo di Calmette-Guèrin (BCG) nel trattamento dei tumori vescicali ⁷.

Fu però Paul Ehrlich, nel 1909, il primo che predisse la centralità del sistema immunitario nel controllo dei tumori e 50 anni dopo, grazie agli studi di F.M. Burnet e L. Thomas prese corpo la “Teoria dell’Immunosorveglianza”, la quale venne riconosciuta nel 1964, quando L.J. Old e E.A. Boyse dimostrarono la presenza di antigeni tumore-specifici nel topo ⁸.

Il primo vero inizio dell’Immunoterapia oncologica si ha negli anni ’90, quando per la prima volta vennero somministrati in vivo degli anticorpi anti-CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Antigen 4), un inibitore del checkpoint immunitario, dimostrando la loro efficacia nel consentire e potenziare risposte immunitarie contro le cellule tumorali ⁹.

In anni più recenti la ricerca si è concentrata in maniera sempre più importante sullo studio e sulla comprensione dei meccanismi mediante cui il sistema immunitario risponde al tumore, nonché sullo sviluppo di farmaci che andassero ad agire proprio su di essi. Così nel 2010 la Food and Drug Administration (FDA) ha approvato il primo farmaco immunoterapico, il Sipuleucel-T, per il trattamento del cancro prostatico ormono-refrattario metastatico asintomatico o blandamente sintomatico ¹⁰, a seguire nel 2011 ha approvato, per il trattamento del melanoma di stadio IV, il primo inibitore del checkpoint immunitario (ICI), un anti-CTLA-4, l’Ipilimumab e nel 2016 ha approvato altri due ICIs, un anti-PD-1, il Pembrolizumab e un anti-PD-L1, l’Atezolizumab, per il trattamento rispettivamente del melanoma e del carcinoma vescicale ⁸.

1.2 RELAZIONE TRA SISTEMA IMMUNITARIO E CANCRO

Le molteplici ricerche che si sono susseguite nell'ultimo secolo hanno rilevato che il cancro è una malattia genetica che nasce da un processo evolutivo in cui le cellule somatiche acquisiscono molteplici mutazioni che sopraffanno le barriere che normalmente frenano la loro espansione incontrollata. Fortunatamente questo è un evento raro grazie al fatto che esistono numerosi meccanismi intrinseci ed estrinseci di soppressione tumorale. Tra i primi citiamo i meccanismi che guidano la riparazione delle mutazioni del DNA, la senescenza cellulare e l'apoptosi, mentre tra i secondi troviamo proprio il sistema immunitario, che è in grado di identificare ed eliminare le cellule tumorali che esprimono gli antigeni specifici tumorali (TSAs) in un processo noto come "Cancro Immunosorveglianza". Esso entra in gioco nel momento in cui viene identificata una cellula che ha eluso tutti i meccanismi intrinseci di soppressione e fa sì che venga eliminata prima che diventi maligna ¹¹.

Studi più recenti hanno però dimostrato che il ruolo del sistema immunitario non si limita solamente a proteggere l'ospite dalla crescita del tumore, ma esistono interazioni molto più complesse che possono andare a modellare le cellule neoplastiche rendendole paradossalmente più resistenti; entra così in gioco il termine Cancro Immunoediting.

Questo processo comprende tre fasi distinte e progressive: eliminazione, equilibrio ed elusione.

La fase di eliminazione prevede, come descritto precedentemente, l'ingresso in gioco dei meccanismi intrinseci ed estrinseci di soppressione tumorale.

La fase di equilibrio è lo step successivo e si verifica quando grazie alla pressione selettiva esercitata dal sistema immunitario, compaiono cloni di cellule neoplastiche che in seguito a mutazioni genetiche ed epigenetiche successive acquisiscono l'immunogenicità, creando così un equilibrio dinamico in cui la massa tumorale rimane stabile.

La fase di elusione è l'ultimo step in cui le cellule neoplastiche selezionate nella fase di equilibrio riescono a replicare in maniera incontrollata grazie allo sviluppo di meccanismi in grado di rendere inefficace l'azione del sistema immunitario ¹².

Alcuni di questi sono la perdita o la down-regolazione delle molecole HLA di classe I, la down-regolazione degli antigeni tumorali, la riduzione dei recettori che portano ad apoptosi le cellule neoplastiche, come FasL o TRAIL, l'assenza di molecole co-stimolatorie (B7-1 e

B7-2), la produzione di citochine immunosoppressive come VEGF o le Prostaglandine E2 (PGE2) e l'up-regolazione di recettori in grado di sopprimere la risposta T-cellulare come CTLA-4 e PD-1 ¹³.

La conoscenza sempre più approfondita dei meccanismi utilizzati dalle cellule della massa neoplastica (comprendenti cellule neoplastiche e cellule del microambiente tumorale) per eludere l'azione del sistema immunitario, ha portato la ricerca a concentrarsi su questi step per creare terapie sempre più efficaci.

1.3 TIPOLOGIE DI IMMUNOTERAPIA ONCOLOGICA

1.3.1 VACCINO

I Vaccini Anticancro possono avere una funzione profilattica o terapeutica. Nel primo caso parliamo di prevenzione primaria, ovvero somministriamo il vaccino a persone sane con lo scopo di prevenire l'eventuale patologia futura e questo lo facciamo per quegli agenti eziologici in cui è stato dimostrato un legame diretto con lo sviluppo di una neoplasia, ovvero l'HPV (Human PapillomaVirus) e l'HBV (Hepatitis B Virus), correlati rispettivamente con alcuni Carcinomi Squamocellulari, in particolare della cervice e del pene, e con l'Epatocarcinoma. Nel secondo caso invece somministriamo il vaccino con lo scopo di trattare una neoplasia maligna in corso. Quest'ultimi possono essere diretti contro gli Antigeni tumore-specifici (TSAs), che sono espressi esclusivamente dalle cellule tumorali, oppure contro gli Antigeni associati al tumore (TAAs), che possono essere espressi anche da altre popolazioni cellulari dell'organismo. Ad oggi abbiamo 3 tipologie di vaccini anticancro approvati dalla FDA: il TheraCys, il Sipuleucel-T ed il T-VEC ¹⁴.

Il *TheraCys* (BCG intravesicale) è stato approvato nel 1990 per il trattamento del carcinoma uroteliale vescicale in situ e come profilassi del carcinoma uroteliale di stadio Ta

e/o T1 dopo resezione transuretrale in quanto ha dimostrato un'efficacia considerevolmente superiore rispetto alla Doxorubicina (antibiotico ad azione antitumorale facente parte della famiglia delle Antracicline), con una sopravvivenza libera da malattia a 5 anni del 45% contro il 18% ¹⁵.

Il *Sipuleucel-T* (nome commerciale PROVENGE) è stato approvato nel 2010 per il trattamento del cancro prostatico ormono-refrattario metastatico asintomatico o blandamente sintomatico ¹⁰.

Il *T-VEC* (nome commerciale IMLYGIC) è stato approvato nel 2015 per il trattamento del melanoma avanzato e rappresenta una novità nell'ambito dei vaccini anticancro, in quanto esso è un Virus Oncolitico, nella fattispecie è un Herpes Simplex Virus di tipo 1 attenuato progettato per esprimere il fattore stimolante le colonie di granulociti-macrofagi umani (GM-CSF), che ha la capacità di determinare la regressione tumorale mediante un duplice meccanismo d'azione, in primo luogo infetta direttamente le cellule tumorali locali e le lisa ed in secondo luogo attiva la risposta immunitaria adattativa contro il tumore ¹⁶.

1.3.2 CITOCHINE

L'insieme di citochine che vengono prodotte all'interno del microambiente tumorale sembrerebbero giocare un ruolo di primo piano nella patogenesi del cancro. Esse sono molecole rilasciate in risposta ad un'infezione o ad un processo infiammatorio e potrebbero avere la funzione sia di inibire la crescita e la progressione tumorale, sia di promuoverla, andando anche a facilitare i processi di invasione e di metastatizzazione ¹⁷.

Esempi di citochine che hanno dimostrato una certa attività antitumorale sono gli Interferoni di Tipo 1 (IFN-I) e l'Interleuchina 2 (IL-2).

Gli IFN-I giocano un ruolo importante nella differenziazione e nell'attivazione delle Cellule Dendritiche (CDs) ¹⁸, che sono delle cellule presentanti l'antigene, le quali poi vanno ad attivare una risposta antitumorale mediata dai Linfociti B e dai Linfociti T ¹⁹.

L'IL-2 rappresenta invece un'opzione terapeutica nel trattamento del carcinoma a cellule renali di alto stadio e nel melanoma maligno, con una probabilità di risposta completa e duratura nel tempo che si aggira attorno al 7% dei casi. Essa è definita una citochina "bimodale", in grado di stimolare diverse popolazioni di cellule T nell'uomo per indurre

risposte T effettrici o T regolatorie, andando così, a seconda delle situazioni, ad attivare o ad inibire il sistema immunitario, motivo per cui risulta molto efficace in alcuni pazienti e per nulla in altri ²⁰.

1.3.3 CELLULE CAR-T

La terapia con cellule CAR-T (Chimeric Antigen Receptor) rappresenta un nuovo e promettente approccio nel campo dell'immunoterapia oncologica. Essa è una strategia terapeutica in cui le cellule T prelevate dal sangue del paziente (autologhe) o da un donatore sano (allogeniche), vengono riprogrammate geneticamente al fine di esprimere un recettore artificiale (CAR) che le re-indirizza contro dei bersagli espressi sulle cellule neoplastiche in cui svolgeranno la loro azione di cellule T effettrici ²¹.

La FDA ha approvato la terapia con cellule CAR-T per il trattamento di due neoplasie ematologiche: Leucemia Acuta Linfoblastica (ALL) a cellule B recidivante/refrattaria in bambini e giovani adulti e Linfoma B-diffuso a grandi cellule (DLBCL) recidivante/refrattario ²².

1.3.4 TERAPIA CON ANTICORPI

Un anticorpo è una proteina che si lega ad un'altra proteina specifica, chiamata antigene e indirizza altre cellule del sistema immunitario ad attaccare le cellule contenenti quell'antigene.

A partire dalla loro azione fisiologica, i ricercatori hanno progettato degli anticorpi che sono diretti verso uno specifico antigene, che si trova ad esempio su di una cellula neoplastica o che entrano in gioco nel processo di cancerogenesi, che sono definiti Anticorpi Monoclonali (mAbs).

Questi mAbs possono essere di 4 tipologie:

- **Murini** se provengono da proteine di topo
- **Chimerici** se sono combinazioni di proteine di topo e umane
- **Umanizzati** se hanno piccole porzioni di proteine di topo legate a proteine umane
- **Umani** se invece sono interamente proteine umane.

Abbiamo poi gli Anticorpi Monoclonali Coniugati, legati con un farmaco chemioterapico o con una particella radioattiva. Una volta che questo anticorpo si lega al proprio antigene va a liberare la sostanza citotossica cui è coniugata ²³.

Questi mAbs agiscono in vari modi, possono uccidere direttamente la cellula tumorale, oppure possono farlo indirettamente, andando quindi a facilitare o a potenziare l'azione del sistema immunitario contro la cellula neoplastica mediante citotossicità cellulare anticorpo mediata, oppure attivazione del complemento o ancora attivando le cellule T. Infine possono agire andando a bloccare la neoangiogenesi (anti VEGF), oppure inibendo le cellule stromali ²⁴.

2 CHECKPOINT IMMUNITARIO

2.1 *RUOLO FISIOLÓGICO DEL CHECKPOINT IMMUNITARIO*

Il sistema immunitario è in grado di combattere un numero incredibile di patogeni e cellule maligne, prevenendo allo stesso tempo un'inappropriata e sregolata attivazione che porterebbe a gravi effetti collaterali per l'ospite. La prima linea di difesa contro la distruzione del self è rappresentata dalla tolleranza centrale, che si verifica a livello del timo, in cui le cellule dirette contro antigeni self vengono riconosciute ed eliminate. Questo tuttavia non è sufficiente ad eliminare tutte le cellule autoreattive, quindi entra in gioco la tolleranza periferica al fine di bloccare l'eccessiva risposta immunitaria e mantenere la *self tolerance*²⁵.

Per comprendere meglio questo meccanismo, prendiamo in esame le cellule T, tutto parte dal momento in cui l'antigene viene presentato al T-cell receptor (TCR), situato sulla membrana cellulare dei linfociti T, dalle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), situate sulla membrana cellulare delle cellule dendritiche o su altre cellule presentanti l'antigene, il quale dà vita ad una cascata intracellulare che porterà a tutta una serie di effetti, come trascrizione, traduzione e produzione di varie citochine, chemochine e molecole effettrici, oltre a determinare l'espansione clonale della cellula T, al fine di rispondere prontamente all'antigene, bloccando sul nascere l'eventuale infezione o trasformazione neoplastica²⁶.

Parallelamente avremo l'intervento di altre molecole, con funzione di stimolazione (costimolatorie) ed inibizione (coinibitorie), sono di fatto dei secondi segnali che vanno a modulare il primo segnale determinato dall'interazione tra antigene, legato al complesso MHC, con il TCR, ma vanno anche a controllare la funzione delle cellule T della memoria e regolatorie (Treg). Queste pathways sono quindi dei regolatori chiave dell'attivazione T-cellulare, della tolleranza e dell'esaurimento della risposta T cellulare. Un esempio è dato dal recettore costimolatore CD-28 e dal recettore coinibitore CTLA-4 che condividono gli

stessi ligandi, ovvero B7-1 e B7-2, oppure dal recettore Programmed death-1 (PD-1 o CD279) e i suoi ligandi, PD-L1 (o CD274) e PD-L2 (o CD273), i quali a loro volta si legano rispettivamente anche a B7-1 e a RGMb (repulsive guidance molecule b)²⁷. Queste molecole coinibitorie che regolano l'attività e le funzioni dei linfociti T vengono definiti *checkpoint immunitari*.

2.1.1 ESPRESSIONE, SIGNALING E RUOLO DEL CTLA-4

Come abbiamo precedentemente detto, sulla superficie della cellula T naive si trovano molecole costimolatorie e coinibitorie. CD28 è una glicoproteina con funzione costimolatoria, che lega B7-1 e B7-2 che sono espresse sulla superficie delle APCs, come Cellule dendritiche, linfociti B e macrofagi e fa partire una cascata intracellulare che promuove l'attivazione del linfocita T andando ad indurne la proliferazione, l'up-regolazione di molecole anti-apoptotiche come Bcl-XL e l'aumento della produzione di IL-2. Fa parte invece delle molecole coinibitorie CTLA-4, una proteina transmembrana espressa transitoriamente sulla superficie dei linfociti T entro 24-48 dalla loro attivazione ma espressa costitutivamente sulla superficie dei Tregs. Esso forma un omodimero e compete con CD28 legando, con una maggiore affinità, B7-1 e B7-2 e questo legame attiva un ITIM (immunoreceptor tyrosine inhibitory motif) presente sulla coda citoplasmatica della molecola, la quale a sua volta recluta e attiva le fosfatasi Src Homology region 2 domain-containing phosphatases-1 (SHP-1) and 2 (SHP-2) che andranno a ridurre l'attivazione dei linfociti T aumentandone la soglia d'attivazione e riducendo la produzione di IL-2²⁸.

Uno studio ha rilevato l'importanza di CTLA-4 nel mantenimento della tolleranza periferica, difatti topi knock-out diventavano malati già dopo 2 settimane dalla nascita e morivano dopo 3-4 settimane a causa di disordini linfoproliferativi, in quanto sviluppavano un'importante linfadenomegalia, con un'infiltrazione linfocitaria che riguardava anche cuore, polmoni, midollo osseo, fegato e pancreas²⁹. Altri studi hanno rilevato che polimorfismi del gene CTLA-4 che ne riducono l'attività, sono associati a malattie autoimmuni nell'uomo³⁰.

2.1.2 ESPRESSIONE, SIGNALING E RUOLO DI PD-1 E DEI SUOI LIGANDI

PD-1 è una proteina transmembrana composta da 288 aminoacidi che presenta nella porzione intracitoplasmatica un ITIM ed un ITSM (immunoreceptor tyrosine based switch motif). Viene espresso dalle cellule B naive e attivate, dalle cellule T CD4⁺CD8⁻ timocitarie, dalle cellule T attivate, dai monociti e dalle DCs mieloidi e sebbene non sia espresso nelle cellule T naive, la sua presenza è rilevabile entro 24 h dalla loro attivazione ed addirittura i suoi effetti funzionali sono osservabili già entro poche ore da essa.

I due ligandi di PD-1 vengono invece espressi in popolazioni cellulari differenti. PD-L1 è costitutivamente espresso sui linfociti T e B, sulle DCs, sui macrofagi, sulle cellule staminali mesenchimali e sui mastociti, oltre che da un'ampia varietà di cellule non ematopoietiche, come l'endotelio vascolare, gli epatociti, le cellule delle isole pancreatiche e i cheratinociti. L'espressione di PD-L2 è invece inducibile nelle DCs, nei macrofagi e nei mastociti, quindi risulta molto meno presente ³¹.

Quando avviene il legame tra PD-1 e i suoi ligandi, avviene la fosforilazione di ITIM e ITSM, così facendo esse reclutano e attivano delle proteine tirosin-fosfatasi (PTPs), come la già citata SHP-2, le quali vanno a defosforilare delle protein-chinasi, andando ad antagonizzare i segnali positivi generati dal legame tra TCR e CD28. Le pathways che vengono interessate ed inibite comprendono la via di RAS/MEK/ERK, la fosfolipasi C-gamma o PLC-gamma, la via di PI3K-AKT. Il significato funzionale di questi effetti è la diminuzione dell'attivazione, della proliferazione, della sopravvivenza e della produzione citochinica dei linfociti T e in un'alterazione del metabolismo, mentre non è ancora del tutto chiaro come agisca PD-1 nelle altre sottopopolazioni di Linfociti T come le Tregs, le T anergiche e le T della memoria, ma sembra che vada a promuovere la loro presenza e attivazione. In aggiunta PD-L1 e PD-L2 hanno anche altri ligandi (rispettivamente CD-80 e RGMb), dalla cui interazione sembrano partire delle cascate intracellulari a significato inibitorio ³².

2.2 Ruolo di CTLA-4 e dell'asse PD1/PD-L1 nel cancro

PD-1, PD-L1 e PD-L2 sono espressi sia sulle cellule neoplastiche sia sulle cellule immunitarie presenti nel microambiente tumorale in molti tipi di cancro, rendendo queste molecole particolarmente importanti dal punto di vista prognostico e terapeutico, ad esempio l'espressione di PD-1 nei linfociti infiltranti il tumore (TILs) correla con una maggiore aggressività e determina un outcome peggiore nei pazienti. PD-L1 protegge le cellule neoplastiche dall'azione dei linfociti T CD8⁺ citotossici in quanto legandosi con PD-1 presente sulla superficie di quest'ultimi ne determina anergia e ne promuove l'apoptosi, inoltre promuove lo sviluppo dei Tregs, i quali a loro volta spengono le cellule T effettrici³³. Sembra anche fungere da fattore antiapoptotico conferendo alle cellule neoplastiche capacità di resistenza contro la lisi mediata dai linfociti T CD8⁺³⁴. È interessante notare come PD-L1 venga indotto da numerose citochine pro-infiammatorie, come IFN-Gamma, TNF-alfa (tumor necrosis factor-alfa), VEGF (vascular endothelial growth factor), GM-CSF e IL-10, prodotte sia dai TILs, che dalle cellule neoplastiche³⁵. La sua overespressione è rilevabile in molte neoplasie solide quali melanoma, glioblastoma, tumori del polmone, carcinoma renale, epatocellulare, gastrico, del colon, del pancreas, tumore della mammella e dell'ovaio e in neoplasie ematologiche come mieloma multiplo, linfoma e varie tipologie di leucemia. PD-L2, il cui ruolo non è ancora stato del tutto chiarito, sembra essere espresso maggiormente nelle neoplasie ematologiche come il linfoma a cellule B³⁶. Si è anche cercato di comprendere quale sia il valore prognostico dell'espressione di PD-L1 nelle varie neoplasie e i risultati che si sono ottenuti sono stati assai controversi, infatti mentre in alcune neoplasie, come il carcinoma gastrico, esofageo, pancreatico, renale ed epatocellulare la sua espressione è fortemente correlata con una prognosi infausta, in altre neoplasie come nel tumore della mammella e nel carcinoma a cellule di Merkel si correla con una prognosi migliore e in altre ancora, come nel tumore polmonare non a piccole cellule (NSCLC), nel carcinoma del colon e nel melanoma, i risultati sono stati contrastanti e non chiarificatori³⁷.

Per PD-1 il discorso è più complesso in quanto, sebbene il suo ruolo nelle cellule immunitarie sia stato ben compreso, la sua espressione nelle cellule neoplastiche è stata poco caratterizzata e quindi le sue funzioni sono tuttora poco chiare. Alcuni studi hanno rilevato

che l'espressione PD-1 giochi un ruolo importante nella crescita tumorale dei melanomi e degli epatocarcinomi ³⁸, mentre risultati opposti sono derivati da studi su alcuni NSCLC, in cui si è visto che bloccando PD-1 sulle cellule neoplastiche si otteneva una progressione tumorale ³⁹. Si è visto infatti che questo blocco potrebbe determinare un aumento del TGF-Beta/Smad3 pathway, che andrebbe a promuovere la transizione epitelio-mesenchimale (EMT), rendendo il tumore molto più resistente all'azione del sistema immunitario ⁴⁰. Sono quindi necessari ulteriori studi per comprendere bene quale sia il suo ruolo nella crescita tumorale e per trovare alcuni biomarkers predittivi di risposta o di resistenza.

La molecola coinibitoria CTLA-4 si è visto essere costitutivamente espressa in molte linee cellulari neoplastiche che includono il carcinoma della mammella, dell'ovaio, dell'utero, del polmone, del colon, della vescica, del rene, l'osteosarcoma, il rhabdomyosarcoma, il neuroblastoma ed il melanoma e sembra determinare l'apoptosi cellulare caspasi-dipendente nelle cellule linfocitarie che presentano i suoi ligandi (B7-1 e B7-2) ⁴¹, sebbene in alcuni studi più recenti è stata sottolineata anche la sua attività di inibitore della crescita tumorale ⁴². Saranno anche in questo caso necessarie ulteriori ricerche per stabilire con esattezza il ruolo di CTLA-4 nella crescita tumorale.

2.3 Altre molecole del checkpoint immunitario

LAG-3 (Lymphocyte activation gene-3) è una proteina transmembrana espressa nei Linfociti T CD4⁺ e CD8⁺ attivati, nei Tregs, nelle cellule NK, nei linfociti B e nelle cellule dendritiche plasmacitoidi e sembra giocare un ruolo chiave nell'inibire l'attivazione, la proliferazione e la produzione citochinica dei linfociti T helper 1 (Th1) e questa azione può essere usata dalle cellule neoplastiche per evadere dall'immunosorveglianza.

TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3) è una proteina transmembrana espressa dai linfociti T attivati, dai linfociti B, dalle cellule NK, dalle cellule

dendritiche, dai monociti e dai macrofagi, ma anche dalle cellule staminali leucemiche e dalle cellule endoteliali associate al tumore. La sua funzione sembra essere quella di indurre la morte cellulare dei linfociti Th1 ⁴³.

TIGIT (T cell immunoglobulin and ITIM domain) è una glicoproteina transmembrana espressa dalle cellule NK, dai linfociti CD4⁺, CD8⁺, Tregs, linfociti T della memoria, mentre non si ritrova nei linfociti B. La sua funzione sembra essere quella di inibire la proliferazione dei Linfociti T con un meccanismo dipendente dall'IL-10.

Altri recettori studiati ed implicati nel checkpoint immunitario sono VISTA (V-domain Ig suppressor of T-cell activation), B7-H3, BTLA (CD272) e Siglec-15 (sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15) ⁴⁴.

In futuro lo sviluppo di molecole che agiscono su questi recettori potrebbe ampliare il range di neoplasie su cui poter utilizzare con successo gli ICI, oltre a rendere queste terapie molto più efficaci.

3 INIBITORI DEL CHECKPOINT IMMUNITARIO

Risulta ormai chiaro che il tumore utilizza alcune pathways del checkpoint immunitario come meccanismo di immuno resistenza, in particolare per eludere l'azione delle cellule T specifiche per gli antigeni tumorali e dato che molte di queste pathways iniziano a partire da un legame ligando-recettore, esse possono essere bloccate mediante anticorpi, oppure modulate mediante forme ricombinanti dei ligandi o dei recettori ⁴⁵, al fine di stimolare il sistema immunitario a reagire in modo più consistente contro le cellule neoplastiche.

Questi anticorpi prendono il nome di “Inibitori del checkpoint immunitario” e quelli ad oggi approvati dalla FDA sono 6: Ipilimumab (anti CTLA-4), Nivolumab e Pembrolizumab (anti PD-1), Durvalumab, Avelumab ed Atezolizumab (anti PD-L1).

3.1 IPILIMUMAB

Approvato dalla U.S. FDA nel 2011 con il nome commerciale di Yervoy®, è un anticorpo monoclonale IgG1 anti CTLA-4 interamente umano, utilizzato come terapia adiuvante per pazienti con melanoma cutaneo trattato con resezione completa e con linfadenectomia totale dei linfonodi regionali coinvolti dal tumore ⁴⁶, si è visto avere risultati nettamente migliori rispetto ai precedenti trattamenti chemioterapici, difatti da uno studio condotto da Schadendorf et al. in cui sono stati valutati 1861 pazienti trattati con Ipilimumab è emerso che la sopravvivenza mediana (median OS) è di 11,4 mesi a fronte di 8-10 mesi con i trattamenti chemioterapici convenzionali e che la sopravvivenza a 3 anni si attesta attorno al 22%, contro il 12,2% dei trattamenti chemioterapici convenzionali ⁴⁷.

L'associazione Ipilimumab + Nivolumab ha mostrato risultati ancora più favorevoli nei pazienti con melanoma avanzato, con una sopravvivenza a 5 anni pari al 52%, contro il 44% nei pazienti trattati in monoterapia con Nivolumab e circa il 20% nei pazienti trattati in

monoterapia con Ipilimumab ⁴⁸. Questa associazione si è dimostrata efficace anche per il carcinoma a cellule renali ⁴⁹.

3.1.1 POSOLOGIA

Il regime di induzione raccomandato è 3 mg/Kg per via endovenosa in un periodo di 90 minuti ogni 3 settimane, per un totale di 4 dosi e solo alla fine di questo periodo si debbono condurre le valutazioni della risposta tumorale. Non deve essere somministrato per via endovenosa rapida o con iniezione in bolo.

Se dato in associazione al Nivolumab la dose raccomandata è 3 mg/Kg associata ad 1 mg/Kg di Nivolumab ogni 3 settimane per 4 dosi, cui seguirà poi una seconda fase nella quale il nivolumab sarà dato in monoterapia.

Per il carcinoma a cellule renali (RCC) la dose raccomandata è 1 mg/Kg di Ipilimumab associata a 3 mg/Kg di nivolumab ogni 3 settimane per un totale di 4 dosi, cui seguirà una seconda fase nella quale si somministrerà nivolumab in monoterapia.

Vanno valutati al basale e prima di ogni dose i test di funzionalità epatica ed i test di funzionalità tiroidea. Il trattamento deve essere sospeso permanentemente in caso di reazioni avverse severe o che mettono in pericolo la vita del paziente, mentre in caso di reazioni avverse lievi o moderate è possibile sospendere una dose e poi riprendere il trattamento.

La sicurezza e l'efficacia dell'Ipilimumab nei bambini di età inferiore a 12 anni non sono state stabilite, quindi non deve essere usato in questa popolazione.

3.1.2 FERTILITA', GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO

I dati relativi all'uso di Ipilimumab in donne in gravidanza non esistono, anche se studi su animali hanno mostrato tossicità riproduttiva, in quanto l'IgG1 umana attraversa la barriera placentare. È pertanto non raccomandato il suo utilizzo durante la gravidanza o in donne in età fertile che non usano misure contraccettive efficaci.

Non è noto se il farmaco sia escreto nel latte materno ma solitamente la secrezione dell'IgG1 umana nel latte materno è limitata. Non sono attese esposizioni sistemiche significative del

neonato, tuttavia a causa del rischio potenziale di reazioni avverse nei lattanti, la decisione va presa dal clinico.

Non sono stati condotti studi per valutare l'effetto di ipilimumab sulla fertilità, pertanto non è noto il suo effetto sulla fertilità maschile o femminile.

3.1.3 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

È stata studiata in 785 pazienti con melanoma avanzato. È stato evidenziato un accumulo sistemico minimo, con indice di accumulo di 1,5 volte o inferiore. Lo steady state è stato raggiunto a partire dalla terza dose. La sua emivita è di 15,4 giorni, la CL sistemica di 16,8 ml/h e non è modificata da età, sesso, performance status, compromissione epatica lieve, compromissione renale, immunogenicità e precedente terapia antitumorale. La clearance di ipilimumab incrementa con l'aumento del peso corporeo e con l'aumento della LDH al basale, anche se non è stato necessario nessun aggiustamento della dose. Quando somministrato in associazione con nivolumab non ci sono stati effetti sulla CL di ipilimumab

50.

3.2 NIVOLUMAB

Approvato dalla FDA nel 2014 con il nome commerciale di Opdivo, è un anticorpo monoclonale IgG4 completamente umanizzato diretto contro PD-1.

È stato approvato per il trattamento delle seguenti neoplasie:

- **Melanoma** → indicato per il trattamento adiuvante di adulti con melanoma con coinvolgimento linfonodale o con malattia metastatica che sono stati sottoposti a resezione completa, oppure approvato in monoterapia o in associazione con ipilimumab per il trattamento del melanoma avanzato (non resecabile o metastatico) negli adulti. Alcuni studi hanno rilevato la miglior efficacia del nivolumab rispetto ai chemioterapici tradizionali sia in termini di sopravvivenza globale media (OS), sia in termini di sopravvivenza libera da malattia (PFS), sia in termini di qualità della vita ⁵¹.

Particolarmente efficace è l'associazione tra ipilimumab e nivolumab, che ha dimostrato, in uno studio condotto su 1296 pazienti suddivisi in tre gruppi in cui un gruppo assumeva nivolumab + ipilimumab, un gruppo solo nivolumab ed un gruppo solo ipilimumab, una PFS media di 11,5 mesi nella terapia combinata contro i 6,9 mesi nei pazienti che ricevevano solo nivolumab e i 2,9 mesi in quelli che ricevevano solo ipilimumab. Analoghi risultati si sono ottenuti nella PFS a 3 anni (39% contro 32% nel gruppo nivolumab e 10% nel gruppo ipilimumab) e nella sopravvivenza globale a 3 anni (58% nella terapia combinata, 52% nel gruppo nivolumab e 34% nel gruppo ipilimumab) ⁵².

- **NSCLC** → Approvato in monoterapia per il trattamento del carcinoma polmonare non a piccole cellule localmente avanzato o metastatico dopo una precedente chemioterapia negli adulti. Uno studio condotto da Hossein Borghaei et al., su pazienti affetti da NSCLC non-squamoso, ha dimostrato la maggior efficacia di nivolumab rispetto a docetaxel in termini di sopravvivenza globale (12,2 mesi contro 9,4 mesi) e di PFS ad 1 anno (19% contro 8%) ⁵³(53). L'efficacia di nivolumab è stata dimostrata anche nei pazienti affetti da NSCLC squamoso ⁵⁴.

- **Carcinoma a cellule renali**→ Indicato in monoterapia per il trattamento del carcinoma a cellule renali avanzato dopo precedente terapia negli adulti. Uno studio ha messo a confronto nivolumab ed everolimus come seconda linea di trattamento ed ha mostrato una sopravvivenza globale media di 25 mesi con nivolumab contro 19,6 mesi con everolimus, anche se la PFS appare simile con i due trattamenti ⁵⁵. È anche indicato in associazione ad ipilimumab per il trattamento in prima linea di pazienti adulti con carcinoma a cellule renali avanzato a rischio intermedio/sfavorevole.

- **Linfoma di Hodgkin**→ indicato in monoterapia per il trattamento di pazienti adulti affetti da linfoma di Hodgkin classico recidivante o refrattario dopo trapianto autologo di cellule staminali e trattamento con brentuximab vedotin ⁵⁶.

- **Carcinoma squamoso della testa e del collo (SCCHN)**→ indicato in monoterapia per il trattamento del SCCHN ricorrente o metastatico negli adulti in progressione durante o dopo terapia a base di platino. Si è visto che pazienti con questo tipo di tumore hanno una OS media di 7,7 mesi con nivolumab contro 5,1 con trattamenti convenzionali, per cui è stato approvato nel 2016 negli USA e nel 2017 in Europa ⁵⁷.

- **Carcinoma uroteliale**→ È stato approvato nel 2017 in monoterapia per il trattamento del carcinoma uroteliale localmente avanzato non resecabile o metastatico negli adulti dopo fallimento di precedente terapia a base di platino. Da studi di fase II condotti su 270 pazienti è emerso che il nivolumab garantisce una PFS media di 2,0 mesi ed una OS media di 8,7 mesi ⁵⁸.

3.2.1 POSOLOGIA

In monoterapia la dose raccomandata è di 240 mg in un periodo di 30 minuti ogni 2 settimane o di 480 mg in un periodo di 60 minuti ogni 4 settimane (solo per pazienti affetti da melanoma o da carcinoma a cellule renali). Non va somministrato per via endovenosa rapida o con iniezione in bolo.

3.2.2 GRAVIDANZA, FERTILITA' ED ALLATTAMENTO

Non ci sono dati relativi all'uso di nivolumab in gravidanza, anche se è noto che l'IgG4 umana attraversa la barriera placentare, quindi il nivolumab può essere trasmesso da madre a feto, è pertanto non raccomandato l'uso di nivolumab durante la gravidanza o in donne in età fertile che non usano misure contraccettive efficaci, che devono essere usate per almeno 5 mesi dopo l'ultima dose di nivolumab.

Non è noto l'effetto di nivolumab sulla fertilità maschile e femminile, così come non è noto se nivolumab sia escreto nel latte materno.

3.2.3 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

La farmacocinetica di nivolumab è lineare nell'intervallo di dose tra 0,1 e 10 mg/Kg e la media della clearance (CL), l'emivita terminale e l'esposizione media allo stadio stazionario sono risultate rispettivamente di 7,9 mL/h, 25,0 giorni e di 86 microgrammi/mL.

La via metabolica non è stata caratterizzata, ma ci si attende che sia degradato in piccoli peptidi ed aminoacidi attraverso le vie cataboliche allo stesso modo della IgG endogena.

Non sono state riscontrate differenze clinicamente importanti nella clearance di nivolumab tra pazienti con compromissione renale lieve ($\text{GFR} < 90$ e > 59 mL/min/1,73 m²) o moderata ($\text{GFR} < 60$ e < 29 mL/min/1,73 m²) e pazienti con funzionalità renale normale.

Anche una lieve disfunzione epatica non sembra influire sulla clearance del farmaco ⁵⁹.

3.3 PEMBROLIZUMAB

Anticorpo monoclonale IgG4 completamente umanizzato anti PD-1, il cui nome commerciale è KEYTRUDA.

È indicato per il trattamento delle seguenti neoplasie:

- **Melanoma**→ Indicato nel trattamento del melanoma avanzato nei pazienti adulti e nel trattamento adiuvante di pazienti adulti con melanoma al III stadio e con coinvolgimento dei linfonodi che sono stati sottoposti a resezione completa. Secondo lo studio di fase Ib KEYNOTE-001 condotto su 655 pazienti con melanoma, si è avuta un'OS a 5 anni del 34%, un'OS media di 23,8 mesi, una PFS media di 8,3 mesi ed una PFS a 5 anni del 21%, che hanno confermato l'efficacia superiore del Pembrolizumab rispetto ai chemioterapici tradizionali e rispetto all'immunoterapico anti-CTLA-4 ipilimumab ⁶⁰.
- **NSCLC**→ in monoterapia è indicato nel trattamento di prima linea del NSCLC metastatico negli adulti il cui tumore esprime PD-L1 con tumor proportion score (TPS) $\geq 50\%$ in assenza di tumore positivo per mutazione e nel trattamento del NSCLC localmente avanzato o metastatico negli adulti il cui tumore esprime PD-L1 con TPS $\geq 1\%$ che hanno ricevuto almeno un precedente trattamento chemioterapico e, se positivo per mutazione EGFR o ALK, anche una terapia mirata. In associazione con pemetrexed e chemioterapia contenente platino è indicato nel trattamento di prima linea del NSCLC metastatico non squamoso negli adulti il cui tumore non è positivo per mutazioni di EGFR o per ALK, inoltre in associazione a carboplatino e paclitaxel o nab-paclitaxel, è indicato nel trattamento di prima linea del NSCLC metastatico squamoso degli adulti. Numerosi studi hanno certificato la miglior efficacia del Pembrolizumab comparato ai chemioterapici tradizionali, come il KEYNOTE-O24, che ha messo a confronto pembrolizumab e chemioterapia nel trattamento in prima linea del NSCLC con espressione di PD-L1 maggiore o uguale 50 % ed ha evidenziato una PFS di 10,3 mesi ed un OS di 30 mesi con pembrolizumab, contro una PFS di 6 mesi ed un'OS di 14,2 mesi con chemioterapia.

Sono stati fatti anche alcuni studi che hanno rilevato una miglior PFS ed una miglior OS nei pazienti che ricevevano una terapia combinata con pembrolizumab associato a farmaci chemioterapici ⁶¹.

- **LINFOMA DI HODGKIN**→ in monoterapia è indicato per il trattamento di pazienti adulti affetti da linfoma di Hodgkin classico recidivante o refrattario che abbiamo fallito il trattamento con trapianto autologo di cellule staminali o brentuximab vedotin (BV) o che non siano eleggibili al trapianto e abbiamo fallito il trattamento con BV. Lo studio KEYNOTE 087 ha infatti rilevato che il 71,9% dei pazienti affetti da Linfoma di Hodgkin refrattario o recidivo trattati con pembrolizumab continuano a presentare, dopo 2 anni di follow up, un'attività antitumorale ⁶².

- **CARCINOMA UROTELIALE**→ in monoterapia è indicato nel trattamento del carcinoma uroteliale localmente avanzato o metastatico negli adulti che hanno ricevuto una precedente chemioterapia contenente platino. Pembrolizumab si è dimostrato superiore in questa tipologia di cancro rispetto ai chemioterapici tradizionali, garantendo un'OS media di 14,1 mesi contro 7,4 mesi e una PFS a 12 mesi del 16,8% contro il 6,2% ⁶³.

- **HNSCC**→ in monoterapia o in associazione a chemioterapia contenente platino e 5-FU, è indicato nel trattamento di prima linea del HNSCC, metastatico o ricorrente non resecabile, negli adulti il cui tumore esprime PD-L1 con un combined positive score (CPS) ≥ 1 . In monoterapia è indicato per gli adulti il cui tumore esprime PD-L1 con un TPS $\geq 50\%$ e in progressione durante o dopo la chemioterapia contenente platino.

- **CARCINOMA A CELLULE RENALI**→ in associazione ad axitinib (inibitore della tirosin-chinasi), è indicato nel trattamento di prima linea del carcinoma a cellule renali avanzato negli adulti. Uno studio ha confrontato, in pazienti con questa tipologia di cancro, i risultati del trattamento combinato pembrolizumab + axitinib confrontandoli con i risultati del Sunitinib e ha dimostrato la maggior efficacia della terapia combinata in termini di OS media, di PFS e di tasso di risposta ⁶⁴.

3.3.1 POSOLOGIA

La dose raccomandata in monoterapia è di 200 mg ogni 3 settimane o 400 mg ogni 6 settimane, somministrata mediante infusione endovenosa nell'arco di 30 minuti. Il trattamento, in caso di evidenza iniziale di progressione di malattia, va proseguito fino alla conferma della progressione in quanto sono state osservate risposte atipiche.

3.3.2 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

Non si lega in modo specifico alle proteine plasmatiche ed è catabolizzato attraverso vie non specifiche. La CL di pembrolizumab risulta essere il 23% più bassa dopo il raggiungimento della modifica massimale allo stato stazionario rispetto alla prima dose; tale riduzione non è considerata clinicamente significativa. L'emivita terminale allo stato stazionario è di 22 giorni. Non sono state individuate differenze clinicamente significative nella CL di pembrolizumab in pazienti affetti da compromissione renale lieve o moderata e in pazienti affetti da compromissione epatica lieve ⁶⁵.

3.4 DURVALUMAB

Anticorpo monoclonale IgG1 completamente umanizzato anti PD-L1 prodotto in cellule di mammiferi mediante la tecnologia del DNA ricombinante. Il suo nome commerciale è IMFINZI ⁶⁶.

3.4.1 INDICAZIONI TERAPEUTICHE

- **NSCLC** → Approvato dall'EMA nel Settembre 2018 in monoterapia per il trattamento del NSCLC localmente avanzato, non resecabile, negli adulti il cui tumore presenta un'espressione di PD-L1 maggiore o uguale all'1% sulle cellule tumorali e la cui malattia non è progredita a seguito di chemioradioterapia a base di platino. Uno studio condotto da Antonia et al. ha mostrato un aumento della PFS media, della PFS a 12 mesi e a 18 mesi, del tasso di risposta e dell'OS media dei pazienti che ricevevano durvalumab rispetto ai pazienti che ricevevano placebo ⁶⁷.

3.4.2 POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE

La dose raccomandata è 10 mg/Kg somministrata tramite infusione endovenosa per 60 minuti ogni 2 settimane, fino alla progressione della malattia o alla comparsa di tossicità inaccettabile o per un massimo di 12 mesi. È raccomandato continuare l'infusione nei pazienti clinicamente stabili con iniziale evidenza di progressione di malattia fino a che la progressione di malattia venga confermata. Non è raccomandato l'aumento o la riduzione della dose.

Non è raccomandato l'utilizzo di corticosteroidi sistemici o immunosoppressori prima di iniziare durvalumab, eccetto la dose fisiologica di corticosteroidi sistemici (inferiore o uguale a 10 mg/die di prednisone o equivalente), a causa della loro potenziale interferenza con l'attività farmacodinamica e l'efficacia di durvalumab. Questi farmaci possono essere utilizzati dopo aver iniziato durvalumab per il trattamento delle reazioni avverse immuno-correlate.

3.4.3 GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO E FERTILITA'

Non esistono dati relativi all'uso di durvalumab in donne in gravidanza. È noto che l'IgG1 umana attraversa la barriera placentare e il trasferimento di durvalumab nella placenta è stato confermato in studi condotti su animali. Durvalumab quando somministrato durante la gravidanza può causare danno fetale, pertanto non è raccomandato durante la gravidanza e in donne in età fertile che non usano misure contraccettive efficaci durante il trattamento e per almeno 3 mesi dopo l'ultima dose di durvalumab.

Non è noto se durvalumab sia escreto nel latte materno. Nell'uomo, gli anticorpi possono essere escreti nel latte materno, ma il potenziale assorbimento e danno nel neonato non sono noti, quindi deve essere presa una decisione tenendo in considerazione il beneficio dell'allattamento per il bambino e il beneficio della terapia per la donna. Non sono disponibili dati sui potenziali effetti di durvalumab sulla fertilità nell'uomo.

3.4.4 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

La farmacocinetica (PK) di durvalumab è stata studiata in 1902 pazienti con tumori solidi con dosi comprese tra 0,1 e 20 mg/kg somministrate per via endovenosa una volta ogni due, tre o quattro settimane. L'esposizione farmacocinetica è aumentata più che proporzionalmente alla dose (PK non lineare) a dosi < 3 mg/kg e proporzionalmente alla dose (PK lineare) a dosi \geq 3 mg/kg. Lo stato stazionario è stato raggiunto approssimativamente a 16 settimane. La CL allo stato stazionario è di 8,16 ml/ora. L'emivita terminale è approssimativamente di 18 giorni. Le vie primarie di eliminazione sono il catabolismo proteico attraverso il sistema reticoloendoteliale o la disponibilità target-mediata.

La compromissione renale lieve o moderata non influisce sulla CL del farmaco, così come la compromissione epatica lieve ⁶⁶.

3.5 ATEZOLIZUMAB

È un anticorpo monoclonale IgG1 completamente umanizzato diretto contro PD-L1, prodotto in cellule ovariche di criceto cinese tramite tecnologia del DNA ricombinante. Il suo nome commerciale è Tecentriq.

È indicato per il trattamento delle seguenti neoplasie:

- **Carcinoma Uroteliale**→ In monoterapia nel trattamento di pazienti adulti con carcinoma uroteliale localmente avanzato o metastatico dopo una precedente chemioterapia contenente platino o che sono considerati non eleggibili al cisplatino ed il cui tumore presenta un'espressione di PD-L1 uguale o superiore al 5%

- **NSCLC**→ in monoterapia nel trattamento di pazienti adulti affetti da NSCLC localmente avanzato o metastatico precedentemente sottoposti a chemioterapia e, se il tumore presenta mutazioni di EGFR o è ALK-positivo, anche a terapie a bersaglio molecolare.
In combinazione con bevacizumab, paclitaxel e carboplatino è indicato come trattamento di I linea nei pazienti adulti con NSCLC non squamoso metastatico senza mutazioni di EGFR o positività di ALK.

- **Carcinoma mammario**→ in combinazione con nab-paclitaxel nel trattamento di pazienti adulti affetti da carcinoma mammario triplo negativo non resecabile localmente avanzato o nei tumori metastatici che presentano un'espressione di PD-L1 uguale o superiore all'1% che non sono stati sottoposti precedentemente a chemioterapia per malattia metastatica.

3.5.1 POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE

La dose raccomandata è di 840 mg ogni 2 settimane, 1200 mg ogni 3 settimane o 1680 mg ogni 4 settimane, somministrati per via endovenosa. La durata dell'infusione deve essere di 60 minuti durante la prima somministrazione, se essa è ben tollerata, le infusioni successive possono essere somministrate nell'arco di 30 minuti.

Il trattamento va continuato fino alla perdita di beneficio clinico o all'insorgenza di tossicità inaccettabile.

3.5.2 GRAVIDANZA, ALLATTAMENTO E FERTILITA'

Non ci sono dati relativi all'uso di atezolizumab nelle donne in gravidanza, tuttavia sussiste un certo rischio potenziale, per cui non deve essere utilizzato in gravidanza.

Non è noto se atezolizumab sia escreto nel latte materno ed il rischio per neonati/lattanti non può essere escluso.

Non ci sono dati clinici disponibili sui possibili effetti di atezolizumab sulla fertilità.

3.5.3 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

L'esposizione ad atezolizumab è aumentata in maniera proporzionale alla dose nel range posologico da 1 mg/kg a 20 mg/kg, compresa la dose fissa da 1.200 mg somministrata ogni 3 settimane. Un'analisi di popolazione che ha incluso 472 pazienti ha descritto la farmacocinetica di atezolizumab per il range posologico da 1 mg/kg a 20 mg/kg attraverso un modello lineare bicompartimentale con eliminazione di I ordine. Un'analisi farmacocinetica di popolazione suggerisce che lo stato stazionario è raggiunto dopo 6-9 settimane (2-3 cicli) di somministrazioni ripetute. L'accumulo sistemico nell'area sottesa alla curva, la concentrazione massima e la concentrazione di valle si sono attestate rispettivamente a 1,91, 1,46 e 2,75 volte. Un'analisi farmacocinetica di popolazione indica che la clearance di atezolizumab equivale a 0,200 L/die, mentre la tipica emivita di eliminazione terminale è pari a 27 giorni.

Pazienti con compromissione renale lieve o moderata non ha evidenziato differenze clinicamente significative, così come la compromissione epatica lieve⁶⁸.

3.6 AVELUMAB

Anticorpo monoclonale IgG1 completamente umanizzato diretto contro PD-L1, prodotto in cellule ovariche di criceto cinese tramite la tecnologia del DNA ricombinante. Il suo nome commerciale è Bavencio.

È indicato per il trattamento delle seguenti neoplasie:

- **CARCINOMA A CELLULE DI MERKEL**→ indicato in monoterapia per il trattamento di pazienti adulti affetti da carcinoma a cellule di Merkel metastatico.
- **CARCINOMA A CELLULE RENALI**→ in associazione ad Axitinib è indicato per il trattamento di I linea di pazienti adulti affetti da RCC avanzato.

3.6.1 POSOLOGIA E MODO DI SOMMINISTRAZIONE

La dose raccomandata di avelumab in monoterapia è di 800 mg per via endovenosa nell'arco di 60 minuti ogni 2 settimane. La sua somministrazione va proseguita in base allo schema raccomandato fino alla progressione di malattia o a tossicità inaccettabile.

Prima delle prime 4 infusioni i pazienti devono ricevere una premedicazione con un antistaminico e paracetamolo. Se la quarta infusione è stata completata senza reazioni

correlate all'infusione, la premedicazione per le successive somministrazioni può non essere effettuata.

3.6.2 PROPRIETA' FARMACOCINETICHE

Si ritiene che avelumab si distribuisca nella circolazione sistemica e in misura minore nello spazio extracellulare. Il volume di distribuzione allo stato stazionario è stato di 4,72 L. In linea con una distribuzione extravascolare limitata, il volume di distribuzione di avelumab allo stato stazionario è basso. Come previsto per un anticorpo, avelumab non si lega in modo specifico alle proteine plasmatiche.

In base a un'analisi farmacocinetica di popolazione condotta su 1.629 pazienti, il valore della clearance sistemica totale (CL) è di 0,59 L/die. Nell'analisi supplementare, la CL di avelumab diminuiva nel tempo. Le concentrazioni di avelumab allo stato stazionario sono state raggiunte dopo circa 4-6 settimane (da 2 a 3 cicli) di somministrazioni ripetute di 10 mg/kg ogni 2 settimane e l'accumulo sistemico è stato di circa 1,25 volte. L'emivita terminale ($t_{1/2}$) alla dose raccomandata è di 6,1 giorni in base all'analisi farmacocinetica di popolazione ⁶⁹.

4 EVENTI AVVERSI IMMUNO-RELATI (IRAES)

Come abbiamo visto gli inibitori del checkpoint immunitario hanno rivoluzionato la terapia del cancro e nei prossimi anni il loro utilizzo subirà un ulteriore incremento, visti gli straordinari risultati finora conseguiti. Tuttavia, gli outcomes clinici favorevoli potrebbero essere oscurati dai potenziali eventi avversi immuno-relati o irAEs, che sono fisiopatologicamente caratteristici di questi farmaci e completamente differenti rispetto alle ben conosciute tossicità dei chemioterapici tradizionali. Per questa ragione la conoscenza di queste tossicità, i meccanismi che sottendono ad esse e la loro gestione da parte degli oncologi e dei clinici in generale, è essenziale al fine di garantire un'ottima cura del paziente ⁷⁰.

La fisiopatologia sottostante questi irAEs è ancora sconosciuta, ma sembra essere correlata al ruolo che questi inibitori del checkpoint immunitario svolgono nel mantenimento dell'omeostasi immunologica e i meccanismi che guidano l'insorgenza degli irAES potrebbero essere dovuti in taluni casi ad un aumento dell'attività T-cellulare nei confronti di antigeni presenti sia nelle cellule neoplastiche sia nelle cellule sane, in altri casi attraverso un aumento dei livelli di anticorpi preesistenti, o ancora attraverso l'aumento dei livelli di citochine pro-infiammatorie mediato dalle cellule T attivate, infine attraverso la presenza dei recettori bersaglio di questi farmaci nelle cellule sane ⁷¹.

Gli irAEs più comuni riguardano il sistema endocrino (ipotiroidismo ed ipertiroidismo, seguito da disfunzioni ipofisarie e surrenaliche), il sistema gastrointestinale (diarrea, colite, nausea), il sistema polmonare (polmoniti), la cute (rash, prurito e vitiligo) e il sistema muscolo-scheletrico (artralgia e mialgia). Sono piuttosto comuni anche i sintomi costituzionali, come fatica, anoressia e febbre. Sebbene più rari, gli irAEs possono essere anche neurologici, cardiaci, oftalmologici, epatici, pancreatici e renali ⁷². Nella maggior parte dei casi sono di intensità lieve e si risolvono senza bisogno di impostare una terapia specifica, ma in alcune circostanze possono essere di intensità moderata o severa ed essere potenzialmente pericolosi per la vita del paziente se non riconosciuti e trattati prontamente.

La percentuale di pazienti che sviluppa uno o più irAE di ogni grado è significativamente maggiore nei pazienti trattati con anti CTLA-4 (53,8%) rispetto ai pazienti trattati con anti PD-1 (26,5%) e anti PD-L1 (17,1%); pazienti trattati con anti CTLA-4 e anti PD-L1 in combinazione hanno una probabilità maggiore di sviluppare irAE (61,1%). Gli irAE di grado maggiore o uguale a 3 si presentano più comunemente con gli anti CTLA-4 (21,5%) piuttosto che con gli anti PD-1 (7,1%) e anti PD-L1 (6,3%)⁷³, così come la colite di ogni grado, l'ipofisite, l'epatite ed il rash, mentre le polmoniti, l'ipotiroidismo, l'artralgia e la vitiligine sono più comuni con gli anti PD-1.

Si è potuto rilevare anche come pazienti trattati con ICI per melanoma abbiano mostrato una maggior frequenza di irAE gastrointestinali e cutanei e una minor frequenza di polmoniti, se comparati con il NSCLC e una maggior frequenza di artralgia e mialgia se comparati con il RCC, che presenta più frequentemente dispnea e polmoniti, suggerendo quindi che l'istologia della neoplasia, per fattori ancora sconosciuti, vada ad influire sull'insorgenza di certe tossicità rispetto ad altre⁷².

La morte dovuta agli irAEs si verifica in meno dell'1% dei pazienti ed è più frequentemente correlata a tossicità del colon (coliti, diarrea, perforazione intestinale) o ad epatiti. In una review che ha valutato complessivamente circa 11,328 pazienti, si sono verificate 31 morti (0,27%), 21 morti (68%) si sono verificate in pazienti in trattamento con anti CTLA-4, 9 morti (29%) in pazienti trattati con anti-PD-1 e 1 morte in un paziente che riceveva terapia combinata anti PD-1 e CTLA-4. Nessuna morte si è verificata nei pazienti che ricevevano anti PD-L1⁷³.

Una review focalizzata sull'uso di anti-PD-1 condotta su 3803 pazienti ha rilevato che il 5,6% dei pazienti ha sviluppato ipotiroidismo, il 2,2% ha sviluppato polmonite, lo 0,7% colite, lo 0,2% epatite e lo 0,3% ipofisite. Comparando questi dati con quelli derivanti dall'uso di chemioterapici tradizionali, si nota come pazienti trattati con anti PD-1 hanno un rischio più elevato di sviluppare colite, polmonite ed ipotiroidismo. Gli eventi avversi di grado elevato più comunemente rilevati sono le polmoniti (1,4%), mentre colite, ipotiroidismo, epatite ed ipofisite di grado elevato sono occorse rispettivamente nello 0,5%, 0,2%, 0,1% e 0,2% dei pazienti. Per quanto riguarda gli eventi avversi generali si è visto che il 32% dei pazienti ha sviluppato astenia, il 19% diarrea e il 10% rash; comparato con l'uso di chemioterapici tradizionali solo il rash si presenta con una frequenza maggiore. È bene sottolineare come questi dati potrebbero essere sovrastimati o sottostimati, in quanto questi

eventi avversi sono riportati utilizzando il Common Terminology of Clinical Adverse Events (CTCAE), quindi i clinici mantengono un elevato grado di soggettività nel classificare un sintomo come evento avverso e alcuni di essi, come quelli riguardanti il sistema muscoloscheletrico, potrebbero essere sottostimati in maniera importante ⁷⁴.

Gli irAEs comportano inoltre dei costi di gestione non trascurabili, uno studio condotto in Francia su pazienti affetti da NSCLC ha evidenziato come il costo medio della gestione di un evento avverso di grado 3 o 4 sia superiore ai €2,000 per paziente, arrivando a punte di €5,786 per le polmoniti fino a €7,742 per il diabete di tipo I ⁷⁵.

È interessante anche osservare la relazione esistente tra gli irAEs e l'efficacia del trattamento immunoterapico: esso è ben caratterizzato per i pazienti con melanoma ⁷⁶⁻⁷⁷⁻⁷⁸, ma anche per pazienti affetti da NSCLC. Uno studio condotto su 134 pazienti con NSCLC trattati con nivolumab ha infatti rilevato che il tasso di risposta globale (ORR) era considerevolmente superiore nei pazienti con irAEs rispetto ai pazienti senza irAEs (52,3% vs 27,9%) e che lo sviluppo di irAEs era associato ad un incremento della PFS e dell'OS ⁷⁹, così come un altro studio di Ricciuti et al. condotto su 195 pazienti affetti da NSCLC trattati con nivolumab ha rilevato che pazienti con irAEs hanno un'ORR, una PFS media ed un'OS media maggiore rispetto ai pazienti non-irAEs, inoltre questo studio ha dimostrato come pazienti che sviluppavano due o più irAEs avevano degli indici di sopravvivenza migliori rispetto a coloro che ne sviluppavano uno o nessuno ⁸⁰. Questi risultati ci spingono a considerare gli irAEs sotto una luce nuova, come predittori indipendenti di sopravvivenza e come indici di risposta favorevole al trattamento immunoterapico in atto.

4.1 irAE APPARATO RESPIRATORIO

Le polmoniti vengono intese come infiammazione del parenchima polmonare e quelle insorte a causa della terapia con inibitori del checkpoint immunitario vengono definite checkpoint inhibitor pneumonitis o CIP. La loro incidenza risulta essere compresa tra il 3% ed il 5% ed il tempo medio di insorgenza è di 2,5 mesi, anche se abbiamo un ampio range variabile tra i 2 e i 24 mesi ⁸¹. Nei pazienti che sono trattati per NSCLC sono più frequenti rispetto a pazienti trattati con ICIs per altre neoplasie come melanoma, HNSCC e UC (3,1% vs 2,0%), e sono anche più frequentemente di grado elevato (1,4% vs 0,6%). Non è ancora chiara la motivazione, ma una spiegazione potrebbe essere che i pazienti con NSCLC presentino già dei fattori di rischio predisponenti, come un certo grado di fibrosi o di infiammazione, dovuti sia alla neoplasia, sia ad altre cause come fumo di tabacco o esposizione lavorativa. Andando a valutare i vari ICIs si nota come il trattamento con anti PD-1 e anti-PD-L1 sia connesso ad un rischio maggiore di sviluppare CIP. Il trattamento con Nivolumab e Atezolizumab incrementa il rischio di sviluppare polmoniti di ogni grado, ma non determina un incremento significativo del RR di sviluppare polmoniti di alto grado, cosa che invece accade con Pembrolizumab. Sebbene siano complessivamente poco frequenti, devono essere prontamente riconosciute e trattate, in quanto potrebbero potenzialmente essere pericolose per la salute, conducendo a morte (che sopravviene nello 0,1-0,6% dei casi) o ad un'interruzione parziale o permanente della terapia ⁸²⁻⁸³.

4.1.1 SINTOMI ED IMAGING

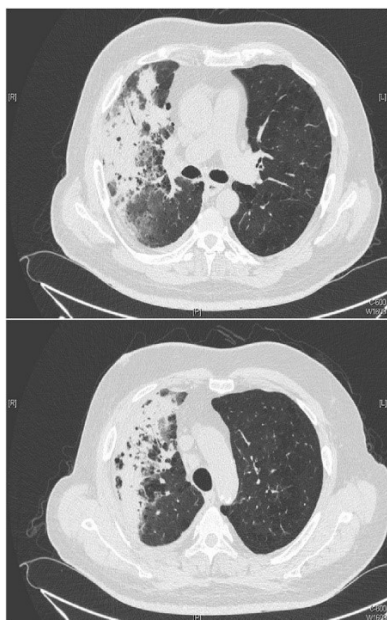
La sintomatologia più comune all'esordio è la presenza di dispnea e tosse non produttiva, così come la presenza di ipossia, mentre febbre e dolore toracico sono meno frequenti. È comunque necessario sottolineare come una quota importante di polmoniti di grado 1 non presenti sintomatologia evidente e quindi può essere misconosciuta ⁸⁴.

Polmoniti insorte a causa di altri farmaci presentano più frequentemente alla TC un quadro di fibrosi polmonare e altre modifiche strutturali come bronchiectasie, mentre le CIP presentano un imaging caratteristico e differente, in parte sovrapponibile a quello che ritroviamo nelle ILD (interstitial lung disease). Abbiamo le opacità a vetro smerigliato

(GGO) simili a quelle rilevabili in corso di polmonite da ipersensibilità, ma differenti rispetto a quelle rilevabili in corso di polmoniti da pneumocystis, oppure le consolidazioni classificabili come polmonite organizzata criptogenetica, differenti rispetto a quelle presenti nelle polmoniti batteriche, in quanto bilaterali (**fig.1**). Alla biopsia ritroviamo ispessimento dei setti alveolari associato ad infiltrazione linfocitica ed eosinofila ⁸⁵⁻⁸⁶(86-87). Alcuni pazienti in trattamento con anti PD-1 hanno sviluppato una reazione sarcoid-like con formazione di granulomi infiammatori non caseosi con istiociti, presumibilmente dovuti all'aumento della secrezione di INF-gamma da parte delle cellule T della memoria in seguito al blocco di PD-1. Sebbene molto raro è un irAE da considerare, in quanto può essere facilmente confuso con delle metastasi e quindi con una progressione di malattia ⁸⁷⁻⁸⁸.

Un'altra tipologia di polmonite da considerare è la RRP (radiation recall pneumonitis), che insorge in un'area del polmone precedentemente trattata con radioterapia. È un effetto collaterale che si verifica anche con altri farmaci antineoplastici, come i taxani e le antracicline, ma nel caso degli immunoterapici il tempo di insorgenza sembra essere maggiore e la sintomatologia clinica è differente ⁸⁹.

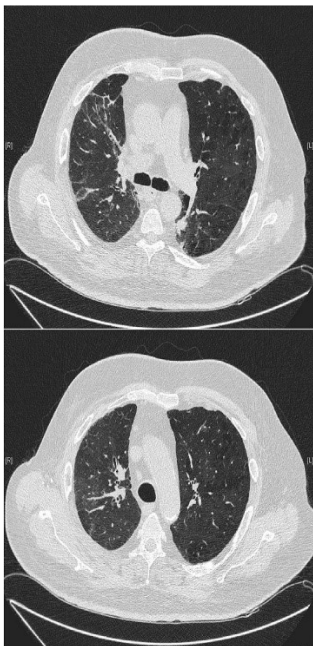
Fig. 1 → TC alla presentazione che mostra un infiltrato alveolare importante nel lobo superiore destro, associato a broncogramma aereo ⁹⁰.



4.1.2 TRATTAMENTO

Il trattamento si basa sulla sospensione dell'immunoterapico e sulla somministrazione di corticosteroidi ad alte dosi (60 mg/die, 1 o 2 mg/Kg/die) per os o per via endovenosa, associato a terapia antibiotica per impossibilità di escludere un'eventuale sovrainfezione batterica (**fig.2**)⁹¹⁻⁹². Nei casi più gravi o in caso di mancato miglioramento, è possibile inserire un altro farmaco immunosoppressivo, come micofenolato, ciclofosfamide ed infliximab. Una volta risolto l'episodio, in caso di polmonite di grado 4 si opta per la sospensione permanente, mentre se di grado 2 o 3 si opta per la risomministrazione e in caso di nuovo episodio, si sospende definitivamente⁹³.

Fig.2: TC che mostra il precedente infiltrato risolto dopo 3 mesi di terapia corticosteroidica ad alte dosi⁹⁰



4.2 IrAEs CUTANEI

Gli eventi avversi in corso di immunoterapia riguardanti la cute sono generalmente i più frequenti, nella maggior parte dei casi abbiamo rash, presente nel 16-36%, prurito nel 3,7-10,7% e vitiligine e si verificano più frequentemente con ICIs rispetto ad altri antineoplastici. Essi insorgono solitamente nei primi 2 mesi e nonostante siano molto frequenti, solo raramente (< 1%) sono di gravità tale da giustificare l'interruzione del trattamento. Gli irAEs cutanei non hanno soltanto una presentazione clinica variabile (maculo-papule, prurito, alopecia e vitiligine), ma anche quadri istologici variabili che includono spongiosi epidermica, infiltrati di cellule T CD4⁺ perivascolari ed alcuni eosinofili nelle aree di eruzione cutanea ⁷²⁻⁹⁴⁻⁹⁵.

La vitiligine è una condizione caratterizzata dalla perdita di pigmentazione della cute, dovuta a riduzione o perdita della funzionalità dei melanociti presenti nell'epidermide, con infiltrazione di linfociti T. Questa condizione si verifica per fenomeni di mimetismo molecolare, difatti si è visto che nelle aree di vitiligine e nei siti di melanoma si avevano gli stessi cloni di cellule T CD8 e che in circolo si avevano anticorpi contro antigeni associati al melanoma condivisi appunto da melanociti e cellule neoplastiche. È un tipico effetto avverso dei pazienti affetti da melanoma, si verifica in circa il 20% dei soggetti in trattamento con ICIs, con un tempo d'insorgenza medio di 5,2 mesi e nel 90% dei casi è di grado 1, ovvero interessa meno del 10% della superficie corporea. Sembra essere un fattore predittivo di risposta all'immunoterapico, come descritto precedentemente ⁷⁸.

Un'altra tossicità dermatologica che si può verificare in corso di terapia con ICIs è il pemfigoide bolloso, che insorge generalmente dopo 1 mese. Sebbene questa condizione sia confinata ad un numero molto esiguo di pazienti ha dei risvolti clinici importanti, in quanto richiede spesso ospedalizzazione e sospensione dell'immunoterapico con necessità di instaurare una terapia topica e sistemica con alte dosi di corticosteroidi ⁹⁶.

4.2.1 TRATTAMENTO

Rash e prurito di grado 1-2 correlati ad ICIs sono gestiti con trattamenti topici a base di corticosteroidi o creme contenenti urea e non richiedono interruzione o sospensione del trattamento. Per irAEs cutanei di grado 3 è necessario interrompere il trattamento e iniziare una terapia a base di corticosteroidi sistemico (prednisone 1 mg/Kg/die), mentre per tossicità cutanee di grado 4, comprese le rarissime sindrome di Sweet e sindrome di Stevens-Johnson, descritte occasionalmente, è necessaria la sospensione definitiva dell'immunoterapico con un trattamento corticosteroidico immediato e ad alte dosi ⁹⁴⁻⁹⁷⁻⁹⁸.

4.3 irAEs SISTEMA ENDOCRINO

Essi sono tra i più frequenti eventi avversi che si verificano in corso di terapia con ICIs, è stato infatti stimato che il rischio relativo di ipofisite, ipotiroidismo, ipertiroidismo ed insufficienza surrenalica sia rispettivamente di 22.03, 8.26, 5.48 e 3.87 ⁹⁹.

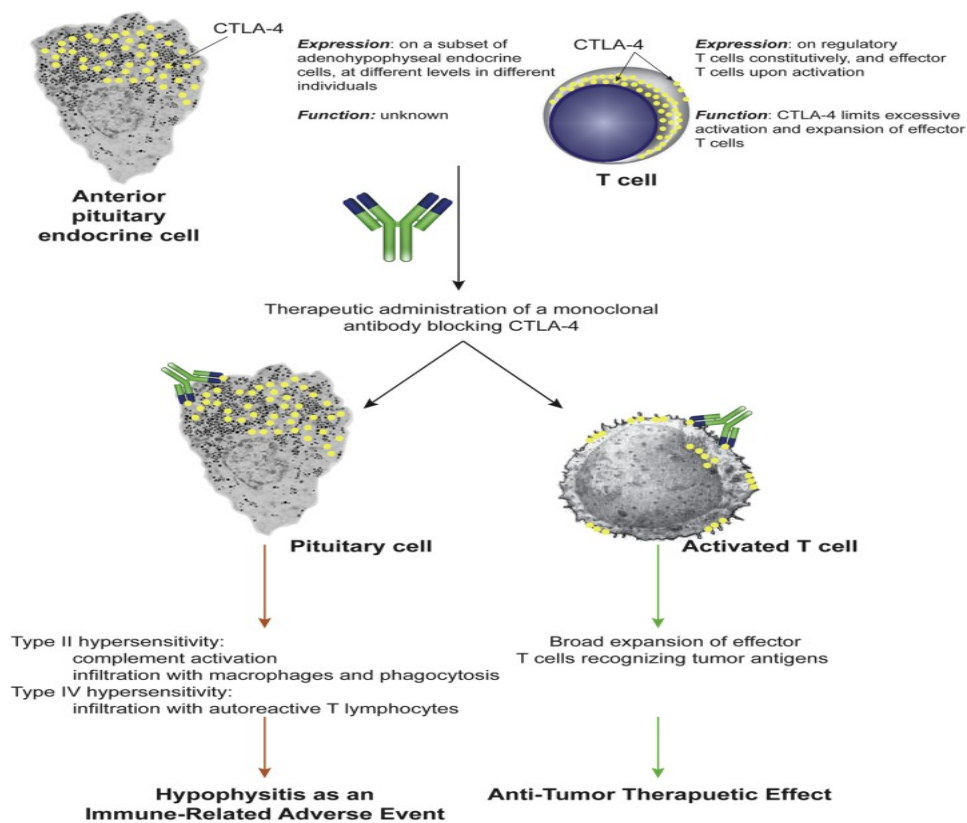
4.3.1 IPOFISITE

È l'infiammazione cronica dell'ipofisi ed è uno dei più comuni irAEs endocrini, si verifica approssimativamente nel 10% dei casi in pazienti trattati con anti CTLA-4, ma in meno dell'1% dei casi in pazienti trattati con anti PD-1 e prevalentemente nei soggetti di sesso maschile. La sintomatologia può essere piuttosto vaga, con fatica, mal di testa, astenia, nausea e inappetenza, mentre sono rari disturbi del visus e diabete insipido. Dal punto di vista ormonale abbiamo più frequentemente ipotiroidismo, insufficienza surrenalica ed ipogonadismo ipogonadotropo. La diagnosi viene fatta mediante MRI. La patogenesi è da riferire alla presenza di CTLA-4 nelle cellule pituitarie, che legate dall'anticorpo, danno vita ad una reazione d'ipersensibilità di tipo II, seguita successivamente da una reazione d'ipersensibilità di tipo IV mediata dai linfociti T (**fig.3**). Solitamente i soggetti colpiti hanno

una concentrazione di CTLA-4 nelle cellule pituarie superiore rispetto a pazienti che non sviluppano ipofisite ¹⁰⁰.

Il tempo medio di insorgenza è 2-4 mesi con Ipilimumab e 5,5 mesi con Nivolumab e con terapia corticosteroidea si risolve nella maggior parte dei casi ⁹⁹(99→citato anche sopra), tuttavia risulta anche essere uno degli effetti collaterali la cui gestione presenta il costo per paziente più elevato, dai €5,000 agli €10,000 ¹⁰¹.

Fig.3: patogenesi irAE ipofisari (101)



4.3.2 TIROIDITE

È sicuramente uno degli effetti collaterali, endocrini e non, più comuni in corso di terapia con ICI. I casi di disfunzione tiroidea si attestano attorno al 14%¹⁰². L'ipotiroidismo è più frequente, presentandosi nel 1,5-9% dei casi nei pazienti in terapia con Ipilimumab e nel 3-21% dei casi nei pazienti in terapia con anti PD-1, insorge generalmente nei primi 3 mesi, anche se si sono registrati casi occorsi prima delle 3 settimane e dopo 10 mesi dalla sospensione della terapia, e solitamente è permanente, mentre l'ipertiroidismo si verifica nel 3% dei casi, insorge più precocemente e nella maggior parte degli individui è dovuto ad una transitoria fase di tireotossicosi che evolverà successivamente in ipotiroidismo, altrimenti in più del 50% dei casi si ritornerà all'eutiroidismo¹⁰³⁻¹⁰⁴. La fisiopatologia di questo irAE non è ancora stata ben compresa, è possibile che alcuni polimorfismi dei geni codificanti per CTLA-4 e PD-1 possano determinare una certa predisposizione nell'individuo. Un'altra spiegazione è che il paziente presenti già dei blandi livelli di autoanticorpi e che la terapia, andando a potenziare la risposta immunomediata, vada di conseguenza anche a potenziare l'azione autoanticorpale, generando la disfunzione. Quel che è certo è che la maggior parte dei soggetti che sviluppa disfunzione tiroidea risulta positiva agli autoanticorpi anti-tireoglobulina ed anti tireoperossidasi⁷¹⁻¹⁰⁵. La diagnosi di disfunzione tiroidea viene effettuata mediante il dosaggio degli ormoni tiroidei TSH, fT3 e fT4 e parliamo di tiroidite quando abbiamo valori di TSH < 0,3 mIU/L con valori normali o elevati di fT3 e fT4, mentre parliamo di ipotiroidismo subclinico quando abbiamo valori di TSH > 4,2 ma < o uguali a 10 mIU/L con valori di fT3 e fT4 normali e infine parliamo di ipotiroidismo franco quando abbiamo valori di TSH > 10 con o senza bassi livelli di fT3 e fT4. Può venirci in aiuto anche la ¹⁸FDG PET/CT, si è visto infatti che la tiroidite determina un aumento della captazione di ¹⁸FDG diffusamente¹⁰⁴. Se abbiamo evidenza di ipotiroidismo o ipertiroidismo, è necessario dosare gli autoanticorpi. Per diagnosticare precocemente una disfunzione tiroidea viene raccomandata l'esecuzione di test per la valutazione della funzionalità tiroidea ogni settimana per i primi 2 mesi di trattamento e prima di ogni iniezione successivamente¹⁰⁶. Sebbene sia un effetto collaterale molto raro, è stata descritta anche l'insorgenza del morbo di Basedow-Flaiani-Graves o una sua esacerbazione, determinante la sua manifestazione oculare, la quale si rende clinicamente evidente con dolore orbitale ed esoftalmo bilaterale,

gonfiore perioculare, iniezione congiuntivale e difficoltà nell'esecuzione di movimenti oculari ¹⁰⁷.

Nonostante le tiroiditi siano spesso transitorie, si può instaurare, in caso di pazienti sintomatici, una terapia con beta bloccanti, mentre la terapia con corticosteroidi sistemici è raramente necessaria e può essere indicata in caso di pazienti con preesistenti patologie cardiache o con sintomi gravi. Nell'ipotiroidismo subclinico si può eseguire uno stretto follow up, mentre nel caso di ipotiroidismo franco è necessaria la terapia sostitutiva ormonale con levotiroxina. L'interruzione del trattamento immunoterapico è necessaria in rari casi, come pazienti affetti da sintomi di ipo o ipertiroidismo molto severi e pazienti affetti dal morbo di Basedow-Graves, i quali possono giovare anche di un trattamento con metimazolo, un farmaco antitiroideo ¹⁰³.

4.3.3 INSUFFICIENZA SURRENALICA PRIMARIA (PAI)

È un evento molto raro in corso di trattamento con ICIs, uno studio condotto su 5831 ha rilevato uno 0,7% di pazienti interessati dal PAI, con lo 0,2% di essi che ha avuto un grado 3 o superiore. Questo numero però sale se si vanno a valutare i pazienti in terapia combinata, raggiungendo il 4,2% ¹⁰⁸. La fisiopatologia non è ben chiara, alcuni aspetti fanno sospettare l'insorgenza di un'adrenalite e la ¹⁸FDG PET-CT rileva un ipermetabolismo in ambedue i surreni ¹⁰⁹, ma in alcuni casi è stata riscontrata una malattia di Addison iatrogena, con atrofia surrenalica e anticorpi anti 21-idrossilasi positivi ¹¹⁰. Il sospetto di PAI deve venire nel momento in cui il paziente sviluppa una sintomatologia compatibile con un'insufficienza surrenalica acuta: astenia, fatica estrema, turbe neurologiche, disidratazione, ipotensione, tachicardia, dolore addominale, nausea, vomito, diarrea e crampi muscolari, oppure compatibile con una manifestazione subclinica: stato di salute generale non ottimale, lieve fatica, diarrea o confusione mentale. In quest'ultimo caso il laboratorio può aiutare, avremo infatti frequentemente iponatriemia da deficit di mineralcorticoidi e da inappropriata secrezione di ADH, iperkaliemia, ridotta glicemia e insufficienza renale da ipovolemia. La diagnosi viene fatta in caso di cortisolemia > 500 nmol/L o mediante il dosaggio del cortisolo mattutino (8 am), se < 138 nmol/L si fa diagnosi di PAI, se compreso tra 138-500 nmol/L è

necessario il test da stimolo; importante anche il dosaggio dell'ACTH che solitamente è superiore a 100 pg/mL. Una volta posta la diagnosi è necessario il dosaggio degli anti 21-idrossilasi e l'esecuzione di una TC per escludere altre eziologie (infezioni, metastasi, emorragie surrenaliche bilaterali). Il trattamento in caso di manifestazione acuta si avvale di infusione di 100 mg di idrocortisone endovena, seguiti da 100 mg in infusione continua nelle 24 ore e successivamente si instaura una terapia con idrocortisone orale da scalare progressivamente. Il trattamento immunoterapico deve essere temporaneamente sospeso e va ripreso, con stretto monitoraggio del paziente, una volta ristabilitosi il normale quadro clinico e laboratoristico. La terapia ormonale sostitutiva deve essere assunta a vita nella maggior parte dei casi ¹¹¹.

4.3.4 DIABETE INSULINO-PRIVO (IDD)

Anch'esso è un effetto collaterale piuttosto raro, riscontrabile approssimativamente nello 0,2% dei pazienti trattati con ICIs e solo nello 0,1% è di grado 3 o superiore ¹⁰⁸. Il tempo medio di insorgenza è 8,5 mesi, ma alcuni casi possono occorrere anche entro la prima settimana. Nel 75% dei casi si presenta con chetoacidosi (poliuria, polidipsia, calo ponderale, iperglicemia, acidosi metabolica), è sempre presente iperglicemia, assenza di peptide C e incremento dell'emoglobina glicata (HbA1c), tuttavia proprio i valori di quest'ultima possono farci distinguere 2 differenti entità cliniche: il diabete fulminante, in cui si hanno valori di HbA1c poco elevati, che rappresenta circa il 42% dei casi di IDD da ICIs, e il diabete mellito di tipo 1, in cui invece i suoi livelli sono elevati ¹¹². La presenza di autoanticorpi si verifica in circa la metà dei casi, soprattutto ad essere positivi sono i GADA (anti decarbossilasi dell'acido glutamico) e non sembrano essere un fattore predittivo per lo sviluppo di questo irAE, sebbene uno dei meccanismi fisiopatologici alla base del suo sviluppo, può essere la presenza di bassi livelli di autoanticorpi presenti prima dell'inizio della terapia. È bene sottolineare come gli autoanticorpi siano negativi in caso di diabete fulminante. Per il trattamento dell'IDD si imposta una terapia insulinica classica che andrà mantenuta a vita e nella quasi totalità dei casi si avrà un buon controllo glicemico. La terapia

immunosoppressiva, che va sospesa nella fase chetoacidotica, deve essere ripresa non appena si avrà un controllo glicemico buono ¹¹³.

4.4 irAEs GASTROENTERICI

4.4.1 COLITE

Rappresenta l'infiammazione della mucosa intestinale e si manifesta soprattutto con diarrea associata ad altri sintomi quali dolore addominale, perdita di peso, nausea e vomito, mentre sono meno frequenti ematochezia e febbre ¹¹⁴. È anche uno dei più comuni eventi avversi immuno-relati, la diarrea infatti colpisce il 12-13,7% dei pz trattati con anti PD-1 ed il 30-35% dei pz trattati con anti CTLA-4. La colite la ritroviamo nel 5,7-9% con anti CTLA-4 ed è dose dipendente, mentre si riscontra solo nello 0,7-1,6% con anti PD-1. Una temibile e mortale complicanza è la perforazione intestinale, che si verifica nello 0,7-1,5% dei pazienti con melanoma e nel 6,6% dei pazienti con RCC, che ha una percentuale di mortalità dello 0,6-1%. Diarrea e colite inoltre rappresentano il 31% delle morti indotte da ICIs. Il tempo medio di insorgenza è 2-4 mesi con anti PD-1, più precoce con anti CTLA-4, anche se sono stati descritti casi di insorgenza dopo 1 anno dalla sospensione della terapia, così come casi di colite ricorrente dopo 11 mesi dalla sospensione della terapia ¹¹⁵⁻¹¹⁶.

Dal punto di vista istopatologico abbiamo una colite attiva con ascessi criptici e neutrofilici, associata ad atrofia delle cripte, oppure un pattern simile alla colite linfocitaria con incremento dei linfociti intraepiteliali ¹¹⁷. Il laboratorio rileva la presenza di PCR elevata, anemia, ipoalbuminemia, calprotectina fecale ed occasionalmente autoanticorpi, tuttavia non esistono esami che ci permettano di fare diagnosi di colite da immunoterapici. All'endoscopia possiamo notare aree di eritema, edema, erosione, ulcerazione e sanguinamento e queste alterazioni possono essere segmentarie, isolate o diffuse e circonferenziali, sebbene alcune volte possiamo avere una mucosa endoscopicamente normale con fenomeni infiammatori rilevabili anatomopatologicamente. Il colon è più

frequentemente coinvolto, soprattutto nella sua porzione ascendente, seguito dal piccolo intestino ¹¹⁸.

Per quanto riguarda il trattamento, nei pazienti con diarrea di grado 2 si sospende l'immunoterapico e si somministra loperamide. Se i sintomi persistono per più di 3 giorni, si passa alla somministrazione di 0,5-1 mg/Kg di corticosteroidi orale. Per pazienti con diarrea di grado 3-4 si sospende l'immunoterapico e si somministra 1-2 mg/Kg/die di prednisone endovena. In caso di colite steroido-refrattaria, ovvero con sintomi che persistono dopo 3 giorni dall'inizio della terapia con alte dosi di corticosteroidi, si passa alla somministrazione di infliximab 5 mg/Kg ed in caso di ulteriore permanenza dei sintomi viene aggiunto un altro agente immunosoppressivo come micofenolato o vedolizumab. Un'opzione terapeutica in seguito a colite refrattaria che non risponde ad infliximab e vedolizumab, può essere l'associazione tra micofenolato ed alte dosi di corticosteroidi. L'endoscopia è raccomandata per pazienti con diarrea di grado 3-4 e sembra esserci una certa correlazione tra il riscontro di pancolite e colite steroido-refrattaria (66% vs 25% dei pazienti con colite riguardante meno di 3 segmenti intestinali) ¹¹⁹⁻¹²⁰.

4.4.2 EPATITE

L'incidenza si attesta attorno al 2,5-9% per pazienti in terapia con anti CTLA-4 e attorno all'1-4% per pazienti in terapia con anti PD-1, mentre in caso di terapia combinata si arriva attorno al 18%. Un rialzo transitorio delle transaminasi si verifica con maggior frequenza. Nella maggior parte dei casi parliamo di epatiti di basso grado, mentre epatiti di grado 3-4 si verificano nel 1-2% dei casi. Il tempo di insorgenza è, come spesso accade, molto variabile, essendosi verificati casi già dopo la prima infusione oppure dopo molti mesi dalla sospensione del trattamento, generalmente si verificano dopo 6-7 settimane ¹²¹. La presenza di epatiti virali non si associa ad un incremento di irAE epatica ed il trattamento con ICIs non aumenta il rischio di riattivazione di virus epatotossici ¹²².

Dal punto di vista clinico i pazienti si presentano con fatica, febbre o ittero, ma nella maggior parte dei casi sono asintomatici, anche per epatiti di grado 3-4. L'insufficienza epatica è un evento straordinario e si è verificata in pochi, fatali casi. La diagnosi si basa sui parametri di laboratorio dove avremo rialzo delle transaminasi AST e ALT e della bilirubina, ma

potremmo anche avere rialzo degli indici di colestasi come gammaGT e fosfatasi alcalina. A differenza di ciò che accade con le epatiti autoimmuni, gli autoanticorpi nel caso di epatiti indotte da ICIs sono negativi e, se presenti, sono a basso titolo e solitamente già presenti prima dell'inizio della terapia, così come non avremo rialzo dei livelli di IgG sieriche ¹²³. È importante però escludere tutte quelle condizioni che possono determinare danno epatico, come una progressione di malattia (o pseudoprogressione), un'infezione acuta, un danno epatico indotto da farmaci differenti, un tromboembolismo della vena porta associato al tumore ed un'epatite alcolica. È necessario anche indagare altre cause che possono determinare un aumento degli indici di citolisi epatica, come un'eventuale miosite ¹²⁴(125). Per questa ragione, in alcuni casi, è indicata l'esecuzione di test sierologici, di un'ecografia, di una RM colangiopancreatografica o di una biopsia epatica; istopatologicamente l'epatite indotta da ICIs si presenta come un'epatite lobulare con infiltrati di linfociti T CD3⁺ o CD8⁺ con una ridotta necrosi epatocitaria ¹²⁵.

Per un'epatite di grado 1 e 2, quindi con elevazione di AST ed ALT, ci avvaliamo solo di uno stretto follow-up, mentre per epatiti di grado 3-4 è necessario sospendere definitivamente il trattamento ed iniziare rapidamente un trattamento corticosteroidico con metilprednisolone 1-2 mg/Kg/die. Nel caso l'epatite sia steroido refrattaria è indicato il trattamento con micofenolato 500-1000 mg per 2 volte/die ¹²⁶.

4.4.3 ALTRI EFFETTI COLLATERALI

Sebbene molto rari, sono stati riportati casi di stomatiti, esofagiti, disfagia, gastrite, vomito e reflusso gastroesofageo ¹²⁷. Nishimura et al. ha descritto un caso di un paziente in terapia con nivolumab che ha sviluppato un'importante gastrite, con presenza di mucosa gastrica edematosa ed eritema diffuso all'EGDS. Il trattamento si è basato sulla sospensione del trattamento e somministrazione di corticosteroidi 1-2 mg/Kg/die, associata a terapia per H.pylori, con risoluzione dell'episodio ¹²⁸. Un altro EA raro, ma temibile è la pancreatite, spesso asintomatica e difficilmente diagnosticabile, inoltre richiede un trattamento corticosteroidico prolungato ¹²⁹⁻¹³⁰.

4.5 *irAEs REUMATOLOGICI*

La loro reale incidenza è piuttosto incerta, in quanto le manifestazioni reumatologiche spesso vengono ignorate dagli oncologi, in particolare quelle di grado 1-2, inoltre il sistema CTCAE per definire il grading non è adeguato alle patologie reumatologiche e spesso va a sottostimare la problematica, quindi servirebbe un sistema di codifica specifico per gli irAEs reumatologici. L'effetto collaterale più frequente è l'artralgia, che occorre nel 13,3% dei pazienti, e di questi, il 3,8-5,1% presenta artriti infiammatorie. Pazienti che fanno terapia combinata hanno un rischio più elevato di sviluppare artriti di grado maggiore. Il tempo medio di insorgenza è 3 mesi, variabile però tra 1 settimana e 24 mesi ¹³¹. Più frequentemente coinvolge le grandi articolazioni, come spalle (61,5%), ginocchia (50%), caviglie (42,5%) e polsi (38,5%), meno frequentemente sono coinvolte le articolazioni delle dita (26,9%), della colonna (19,2%), dei gomiti (15,4%) e delle anche (11,5%). Il numero medio di articolazioni interessate è 4. È interessante come pochissimi pazienti sviluppino artriti limitatamente alle piccole articolazioni. Il dolore è sicuramente il sintomo più evidente e il 38,5% sviluppa gonfiore articolare. All'imaging possiamo notare ispessimento, edema o iperenhancement del tessuto sinoviale e versamento articolare con MRI, mentre con PET-TC rileveremo un aumento dell'uptake di FDG nel tessuto sinoviale. Dal punto di vista patogenetico i meccanismi non sono ancora stati ben compresi, ma si possono fare alcune ipotesi: la prima è che gli ICIs vadano a bloccare la soppressione di nuovi autoantigeni che si formano, oppure gli anti PD-1 possono andare a determinare danni diretti a livello sinoviale, forse legandosi a PD-L1 espresso dal tessuto sinoviale. Una terza ipotesi riguarda l'attivazione di autoanticorpi preesistenti, in quanto sono stati riscontrati dei casi di artrite reumatoide con Fattore Reumatoide ed anticorpi anti peptidi citrullinati (ACPA) positivi ¹³². Alcuni pazienti sviluppano anche artrite psoriasica con associate manifestazioni dermatologiche ¹³³⁻¹³⁴.

Le miositi si riscontrano nello 0,7% dei casi con tempo medio di insorgenza di 26 giorni. Nel 40% dei casi abbiamo mialgia e debolezza muscolare, con associati sintomi oculari (25%), spesso sinonimo di miosite orbitale, la quale per altro, si può anche verificare come caso isolato. Il 32% dei pazienti avrà associata miocardite, che può anche essere fatale ed il 15% avrà associata miastenia gravis. Sono stati riportati anche casi di aumento di CK e mialgia in assenza di miosite. Nei pazienti con miosite avremo invece aumento di CK e

un'elettromiografia compatibile con una miopatia. È molto importante andare ad escludere una miocardite concomitante, eseguendo quindi ecocardiogramma ed elettrocardiogramma. Gli autoanticorpi sono frequentemente negativi. L'esecuzione di una biopsia può essere necessaria nei casi dubbi e rileverà una miosite necrotizzante multifocale, oppure in alcuni casi solo la presenza di un infiltrato infiammatorio soprattutto composto da linfociti T CD8⁺ ¹³⁵.

La xerostomia è stata riscontrata nel 6,5% dei pazienti ¹³⁶, mentre i casi di sindrome secca sono molto rari, stimati attorno allo 0,3%, con un tempo medio di insorgenza di 3,8 mesi ¹³¹ e i pazienti si presentano spesso con brusca e severa xerostomia, mentre la xeroftalmia è meno severa. È possibile riscontrare una positività agli ANA, mentre altri autoanticorpi sono frequentemente negativi. Esiste un'associazione tra sindrome secca e sviluppo di altri irAEs ¹³⁷.

Le vasculiti sono un gruppo eterogeneo di malattie infiammatorie autoimmuni che colpiscono i vasi sanguigni di vario calibro e che determinano danno d'organo. Sono tipicamente classificate in vasculiti dei grandi, medi e piccoli vasi ¹³⁸. Il tempo medio d'insorgenza è 3,5 mesi. La vasculite più frequente è l'arterite gigantocellulare, seguita dall'aortite e dalle vasculiti del sistema nervoso e si verificano più comunemente con gli anti PD-1, infatti sembra che questo recettore giochi un ruolo fondamentale anche nella normale patogenesi delle vasculiti, soprattutto delle arterie di grande calibro ¹³⁹.

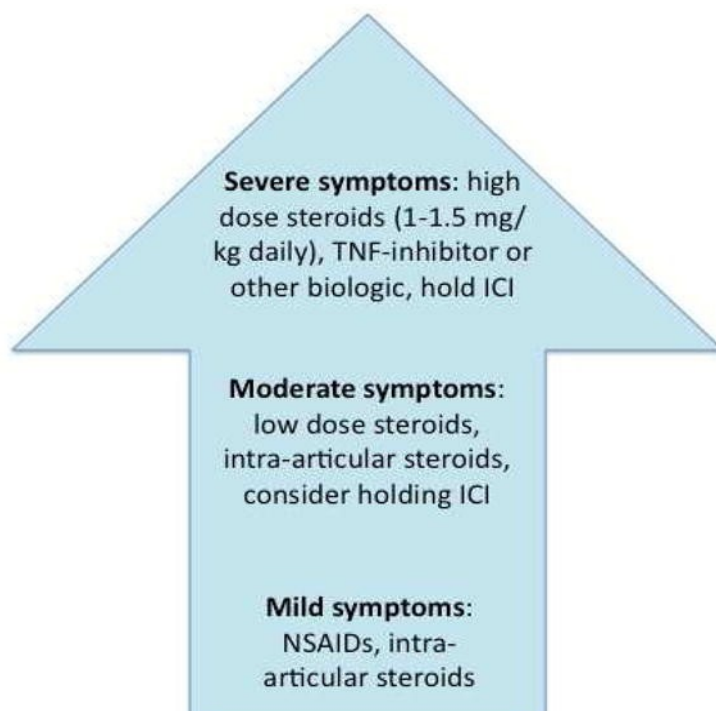
Altri irAEs reumatologici descritti sono il lupus (0,48%), la sindrome da anticorpi antifosfolipidi, la sindrome simil-sclerodermica, la fascite eosinofila e la fascite linfocitica ¹⁴⁰⁻¹⁴¹⁻¹⁴²⁻¹⁴³.

4.5.1 TRATTAMENTO

A differenza di altri irAEs, in questo caso non abbiamo un algoritmo terapeutico per il loro trattamento, perciò esso si baserà sulla gravità dei sintomi e sulle conseguenze funzionali. Per pazienti con sintomi lievi si possono utilizzare antinfiammatori non steroidei (FANS), oppure basse dosi di corticosteroidi e possono essere considerate delle iniezioni intraarticolari di corticosteroidi per dolori articolari importanti. Alte dosi di corticosteroidi (1-2 mg/Kg/die) andrebbero riservate ai casi particolarmente severi, che necessitano anche

di sospensione del trattamento. Nei pazienti steroideo-refrattari è indicato iniziare un trattamento con inibitori del TNF come infliximab e, in caso di ulteriore fallimento, con DMARDs (idrociloroquina, sulfasalazina, methotrexate) (**fig.4**)¹⁴⁴.

Fig.4: algoritmo terapeutico proposto per irAEs reumatologici



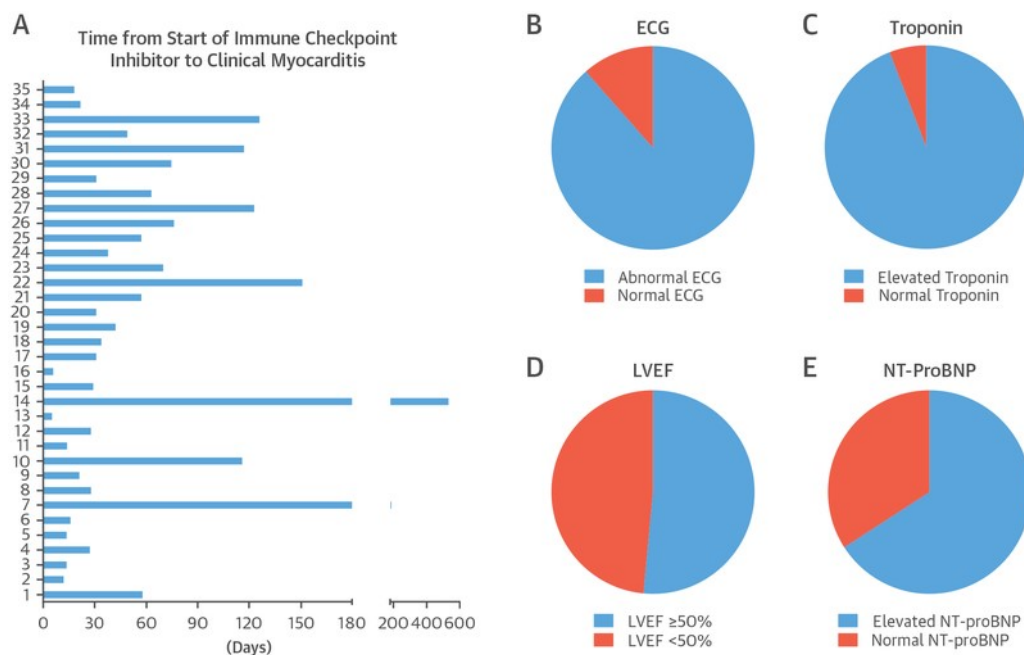
4.6 irAEs CARDIACI

4.6.1 MIOCARDITE

La miocardite è una patologia caratterizzata dalla presenza di un infiltrato infiammatorio a livello del miocardio, che può condurre ad una cardiomiopatia dilatativa infiammatoria e in ultima istanza ad un arresto cardiaco ¹⁴⁵. È un effetto collaterale piuttosto raro, occorrendo circa nello 0,09% dei pazienti trattati con nivolumab o ipilimumab, e nello 0,3% dei pazienti in terapia combinata. Il tempo medio d'insorgenza è molto breve, 17 giorni dopo l'inizio del trattamento e la quasi totalità dei pazienti la sviluppa entro 3 mesi dal trattamento, tuttavia gli irAE cardiaci si possono presentare anche tardivamente ¹⁴⁶. Sebbene questi eventi siano rari, sono spesso di alto grado, con un tasso di mortalità del 39,7-50% ¹⁴⁷. Fisiopatologicamente non è ancora chiaro perché si sviluppi la miocardite, ma è noto che PD-1 gioca un ruolo molto importante nel controllare le cellule T autoreattive contro peptidi self cardiaci, difatti studi di laboratorio hanno rilevato che topi con deficienza di PD-1 e PD-L1 morivano rapidamente a causa di una severa miocardite linfocitica. Un altro meccanismo è la presenza di alcuni antigeni condivisi dal tumore e dalle cellule miocardiche ¹⁴⁸.

La sintomatologia clinica include dispnea, dolore toracico, palpitazioni, fatica e mialgia ¹⁴⁷. Il 94% dei casi di miocardite presenta innalzamento della troponina, l'89% avrà un ECG anomalo e l'NTproBNP è anomalo nel 66%. All'ecocardiogramma vedremo una frazione d'eiezione del ventricolo sinistro (LVEF) normale nel 51% ed è curioso come esso si mantenga normale anche nel 38% dei pazienti che hanno un decorso fulminante (**fig.5**) ¹⁴⁹.

Fig.5: presentazione clinica dei pazienti con miocardite da ICI



Per la diagnosi non ci sono linee guida e se un paziente si presenta con sintomi suggestivi di miocardite, bisogna eseguire immediatamente un ECG e dosare le troponine, anche se questi 2 test mancano di sensibilità e specificità. Anche il NT-proBNP può essere dosato. È però indispensabile eseguire un ecocardiogramma e una risonanza magnetica cardiaca (CMR). Il gold standard per la diagnosi rimane la biopsia endomiocardica, che mostrerà un infiltrato infiammatorio prevalentemente linfocitario, tuttavia è una metodica piuttosto invasiva e quindi riservata a casi particolari ¹⁵⁰. La Terapia si basa sulla somministrazione di corticosteroidi ad alte dosi 1-2 mg/Kg/die, seguite da steroide orale, tuttavia essa spesso non è sufficiente, in quanto molti pazienti possono sviluppare delle aritmie fatali. Un altro farmaco che ha mostrato una buona efficacia nelle miocarditi steroide-refrattarie è l'infliximab ¹⁵¹, così come la globulina anti timocitaria o ATGAM, un anticorpo policlonale prodotto mediante immunizzazione di cavalli con cellule linfoidi derivanti dal timo, utilizzato nel trattamento del rigetto di trapianto e nell'anemia aplastica. Il suo utilizzo in alcuni casi di miocardite steroide refrattaria ha dato ottimi risultati, contribuendo alla risoluzione dell'infiammazione ¹⁵².

4.6.2 ALTRE MANIFESTAZIONI

La pericardite è un evento avverso molto raro, occasionalmente descritto in alcuni casi clinici. La sintomatologia è dispnea, tachipnea, dolore toracico, tachicardia e febricola. Rileveremo alterazioni elettrocardiografiche e possibile presenza di liquido pericardico con prevalenza di linfociti. Per la diagnosi sono importanti l'ecocardiogramma e la TC, che mostreranno ispessimento pericardico e infiammazione, poi sarà necessario escludere una possibile eziologia virale o batterica. La terapia si basa su sospensione del trattamento e somministrazione di alte dosi di corticosteroidi (1-2 mg/Kg/die). In caso di miglioramento della sintomatologia è possibile riprendere il trattamento, salvo sospenderlo in caso di ripresa di pericardite. Nel caso di insorgenza di tamponamento cardiaco è necessario eseguire una pericardiocentesi d'urgenza ¹⁵³⁻¹⁵⁴⁻¹⁵⁵⁻¹⁵⁶.

Il blocco atrioventricolare è un'evenienza molto rara, ma potenzialmente fatale, in corso di terapia con anti PD-1. La patogenesi non è ben chiara, può derivare da una sottostante miocardite, ma può anche presentarsi in un tessuto cardiaco con segni di infiammazione ma senza miocardite sottostante, forse causata dalla presenza di autoanticorpi diretti contro la troponina I. Il trattamento nei casi più gravi si basa sull'impianto di un pacemaker, ovviamente seguito da sospensione del trattamento immunoterapico. L'uso di corticosteroidi ad alte dosi può essere un'opzione. La situazione deve comunque essere gestita in stretta collaborazione con i cardiologi ¹⁵⁷⁻¹⁵⁸.

4.7 irAEs NEUROLOGICI

Sintomi neurologici di grado 1-2 come cefalea, disturbi del sensorio, instabilità motoria, occorrono nel 6-12% dei pazienti, mentre irAEs neurologici di grado 3-4 si verificano nello 0,3-0,8% dei casi in pazienti in terapia con anti CTLA-4, nello 0,2-0,4% dei casi in pazienti in terapia con anti PD-1 e anti PD-L1 e nello 0,7% dei casi in pazienti che ricevono terapia combinata ¹⁵⁹.

4.7.1 MANIFESTAZIONI

Le encefaliti si presentano con un ventaglio molto ampio di sintomi, che vanno dalla confusione, difficoltà nel linguaggio, convulsioni, cefalea, febbre e allucinazioni. È importante escludere altre cause (metastasi, infezioni, eventi vascolari), per cui è importante eseguire una RM, che nel caso di irAEs sarà spesso normale, così come eseguire una rachicentesi, che mostrerà pleiocitosi linfocitica e proteine elevate. Il tempo medio d'insorgenza è di 51,5 giorni. Sono stati descritti casi di lesioni spinali, encefalite limbica e cerebelliti ¹⁶⁰⁻¹⁶¹⁻¹⁶²⁻¹⁶³.

La meningite asettica si presenta nello 0,5% dei pazienti trattati con ICIs e determina cefalea ingravescente, fotofobia, rigidità cervicale, possibile febbre e vomito. Non ci saranno alterazioni al neuroimaging ed il liquido cerebrospinale mostrerà solamente una pleiocitosi linfocitica ¹⁶⁴. Altre condizioni occasionalmente descritte sono la demielinizzazione del SNC, la vasculite del SNC, la neurosarcoïdosi e la mielite trasversa ¹⁶⁵⁻¹⁶⁶⁻¹⁶⁷.

La miastenia gravis è stata riscontrata nello 0,24% dei pazienti in trattamento con ICIs. Nella maggior parte dei casi essa si sviluppa assieme ad altri irAEs, come miositi e miocarditi. I sintomi sono ptosi palpebrale (75%), dispnea (62%), debolezza degli arti (55%), disfagia e diplopia. Il tempo medio di insorgenza è di 4 settimane. Più della metà dei pazienti presenta positività agli anticorpi anti-AChR e rialzo della CPK. È un evento avverso molto serio, dato che il 95% dei pazienti richiede ospedalizzazione. La terapia si basa sulla somministrazione di alte dosi di corticosteroidi, oppure sulla somministrazione endovenosa di immunoglobuline e plasmateresi, che hanno mostrati risultati migliori ¹⁶⁸.

La neuropatia si verifica nell'1% dei casi, sebbene potrebbe essere sottostimata, e frequentemente è transitoria. Si presenta con parestesie alle estremità che può evolvere in neuropatia sensitivo-motoria con assenza di riflessi e di sensibilità. La RM non rileva generalmente nulla di particolare e l'analisi del liquido cerebrospinale rileva a presenza di abbondanti linfociti, distinguendo questa forma da una sindrome di Guillà-Barrè idiopatica. Il trattamento si avvale di corticosteroidi ad alte dosi, oppure di immunoglobuline endovena e plasmateresi ¹⁶⁹.

4.8 irAEs GENITOURINARI

L'insufficienza renale acuta è una complicanza rara degli ICIs, con un'incidenza stimata attorno al 2,2%, sebbene gli eventi di grado 3-4 rappresentino solamente lo 0,6%. Essa viene definita come un rialzo della creatinina sierica rispetto ai livelli basali, in media arriva a 4,1 mg/dl. Pazienti che fanno terapia combinata sviluppano più frequentemente questi EA (4,9%) rispetto a chi fa monoterapia con ipilimumab (2,0%), nivolumab (1,9%) o pembrolizumab (1,4%). Il tempo medio di insorgenza è di 10,5 mesi, molto superiore rispetto ad altri farmaci che inducono insufficienza renale ¹⁷⁰. Istologicamente si presenta come una nefrite acuta tubulointerstiziale, con diffusi infiltrati interstiziali di linfociti T CD3⁺ e CD4⁺, raramente accompagnati da granulomi, plasmacellule ed eosinofili. Sono meno frequenti, ma comunque rilevabili, danni glomerulari come glomerulosclerosi segmentale focale. Il trattamento in caso di grado 2 si basa sulla temporanea sospensione dell'immunoterapico e, se i sintomi non migliorano entro 1 settimana, sull'assunzione di corticosteroidi per os. Nel caso di irAE di grado 3-4 si sospende il trattamento e si instaura una terapia con alte dosi di corticosteroidi sistemico e, in caso di steroido refrattarietà, si possono somministrare infliximab, micofenolato e ciclofosfamide ¹⁷¹.

È stata descritta anche la possibilità di sviluppare delle cistiti non batteriche ¹⁷².

4.9 irAEs EMATOLOGICI ed OCULARI

L'incidenza degli eventi avversi ematologici (haem-irAE) è stimata attorno allo 0,5%, quindi sono piuttosto rari ma potenzialmente mortali, quindi è necessario riconoscerli e trattarli precocemente. L'anemia emolitica autoimmune e la trombocitopenia autoimmune sono i più comuni haem-irAE (26%), seguiti dall'anemia aplastica (14%), bicitopenia (6%) e aplasia eritroide pura (3%). Nella maggior parte dei casi inoltre si avevano manifestazioni di grado 3-4-5 (91%), che necessitavano di una sospensione permanente del trattamento. Il tempo medio di insorgenza di questi eventi è di 10 settimane ¹⁷³. La sintomatologia è compatibile con la problematica ematologica, avremo quindi febbre ed aumentato rischio di infezioni per la neutropenia, emorragie frequenti e talora severe in caso di trombocitopenia e anemia in caso di aplasia eritroide. Per la diagnosi ci si avvale dell'esame emocromocitometrico, della ricerca degli autoanticorpi e, talora, dell'agoaspirato midollare e della biopsia osteomidollare. Il trattamento, dato che la maggior parte degli haem-irAE sono di alto grado, si avvale della terapia corticosteroidica ad alte dosi, accompagnata in alcuni casi, a seconda della manifestazione, da immunoglobuline endovena, G-CSF e trasfusioni. Nel caso la problematica non rientri in breve tempo, è necessario aggiungere un secondo immunosoppressore, come azatioprina, ciclosporina, micofenolato, rituximab o ATGAM ¹⁷⁴.

Gli irAEs oculari si verificano piuttosto raramente, in meno dell'1% dei pazienti ed il più comune è l'uveite che si riscontra nello 0,4% dei pazienti in trattamento con anti PD-1 e la xeroftalmia ¹⁷⁵, tuttavia nell'arco degli anni sono stati descritti molti casi di irAEs oculari, costringendo i clinici a mantenere alta l'attenzione su questi possibili eventi avversi. Ci sono stati infatti casi di sindrome di Vogt-Koyanagi-Hanada ¹⁷⁶⁻¹⁷⁷, di ulcerazione e perforazione corneale ¹⁷⁸⁻¹⁷⁹ e di corioretinopatia di Birdshot ¹⁸⁰. Il trattamento dipenderà dalla severità e dalla tipologia dei sintomi. Le uveiti anteriori e l'episcleriti possono essere trattate con steroidi topici, mentre per manifestazioni più severe può essere necessario il corticosteroide sistemico o intraoculare con sospensione del trattamento immunoterapico ed eventuale ripresa, dipendente però dalla severità dell'irAEs ¹⁷⁵.

PARTE SPERIMENTALE

5 OBIETTIVO DELLO STUDIO

L'obiettivo dello studio è di stabilire una coorte di pazienti affetti da cancro trattati con inibitori del checkpoint immunitario (inibitori PD-1 / PD-L1) che possono sviluppare una varietà di immuno-correlati eventi avversi (irAEs), al fine di stimare l'incidenza e le caratteristiche degli stessi.

In particolare, l'obiettivo primario di questo studio osservazionale è di stimare l'incidenza e le caratteristiche degli irAEs in una coorte real-life di pazienti oncologici.

Gli obiettivi secondari sono altresì quelli di valutare:

- I fattori di rischio per lo sviluppo di irAEs;
- L'impatto degli irAEs sulla prognosi;
- L'effetto delle terapie immunosoppressive sulla progressione del tumore e sulla prognosi dei pazienti.

6 PAZIENTI E METODI

6.1 Pazienti

In questo studio di coorte prospettico, sono stati arruolati consecutivamente i pazienti afferenti alla SOD Clinica Oncologica dell'AOU Ospedali Riuniti di Ancona candidati all'immunoterapia oncologica.

I criteri di inclusione erano i seguenti:

- 1) Pazienti adulti di età superiore ai 18 anni;
- 2) Diagnosi citoistologica di uno dei seguenti tumori:
 - a) melanoma avanzato;
 - b) carcinoma polmonare non a piccole cellule metastatico o localmente avanzato;
 - c) carcinoma a cellule renali avanzato;
 - d) carcinoma uroteliale metastatico o localmente avanzato;
 - e) carcinoma a cellule squamose della testa e del collo;
 - f) linfoma di Hodgkin;
 - g) carcinoma a cellule di Merkel;
- 3) Nuova prescrizione di uno dei seguenti inibitori PD-1 / PD-L1:
 - a) nivolumab
 - b) pembrolizumab
 - c) atezolizumab
 - d) avelumab
 - e) durvalumab

da soli o in terapia di combinazione, seguendo le indicazioni dell'agenzia regolatoria italiana (AIFA).

I *criteri di esclusione* erano i seguenti:

- 1) Pazienti che rifiutano e/o non sono in grado di firmare il consenso informato;
- 2) Genitori/tutori o soggetti che, secondo l'opinione dello Sperimentatore, potrebbero non essere aderenti alle procedure di studio;
- 3) Nessuna controindicazione al trattamento con anticorpi anti PD-1/PD-L1, secondo le indicazioni dell'AIFA.

I soggetti che non soddisfacevano tutti i criteri sono stati esclusi.

6.2 Procedure dello studio

I pazienti sono stati sottoposti a visite periodiche secondo un calendario prestabilito.

Ad ogni visita sono state eseguite procedure specifiche come di seguito indicato:

6.2.1 PRIMA VISITA

- Criteri di inclusione/esclusione e consenso informato
- Anamnesi completa
- Esame fisico
- Segni vitali
- Test di laboratorio
- ECG/ecocardiografia (opzionale)
- Raccolta di campioni biologici
- Valutazione della qualità della vita

6.2.2 VISITE DI FOLLOW-UP

Dopo la prima visita, le visite di follow-up sono state eseguite alla settimana 4, 8, 12 e successivamente ogni 12 settimane. Le procedure eseguite sono le seguenti:

- Anamnesi completa e screening degli EA
- Esame fisico
- Segni vitali
- Test di laboratorio
- ECG
- Raccolta di campioni biologici
- Valutazione della qualità della vita

Le visite non programmate sono state previste ed eseguite in caso di eventi avversi. Le procedure da eseguire alle visite non programmate per la valutazione di un sospetto irAE di interesse sono state prestabilite.

6.3 Outcome

Gli outcome di interesse dello studio sono i) l'occorrenza di eventi avversi immuno-correlati (endpoint primario), ii) la morte, iii) la risposta tumorale, iv) la sospensione del trattamento.

Gli eventi avversi di interesse dello studio includevano: *polmonite, ipofisite, ipotiroidismo, ipertiroidismo, enterocolite, artrite, miosite, sindrome polimialgica, diabete mellito di tipo I, dermatite infiammatoria, dermatosi bollose, miocardite, sindrome di Guillan-Barré, miastenia gravis, encefalopatia, anemia emolitica acuta, nefrite ed epatite.*

Gli eventi avversi sono stati definiti e classificati in base alla CTCAE vs 5.0 (novembre 2017). Sono stati considerati clinicamente rilevanti solo gli eventi avversi di grado 2 o superiore.

L'evento morte può verificarsi in qualsiasi momento durante lo studio. La data e la causa della morte sono state registrate nell'apposita CRF.

La risposta tumorale è stata valutata e definita in base ai criteri RECIST (versione 1.1) e iRECIST.

Tutti gli altri eventi avversi non immuni (compresi eventi avversi gravi) e altri eventi avversi rari sospetti per meccanismi autoimmuni sono stati comunque registrati nell'apposita CRF.

6.4 *Analisi statistica*

Le variabili quantitative sono state riassunte come media (deviazione standard) o mediana (1° - 3° quartile), per variabili normalmente o non normalmente distribuite, rispettivamente. Le variabili qualitative sono state espresse come frequenze assolute e percentuali.

L'analisi primaria ha incluso tutti i pazienti che soddisfano i criteri di inclusione e seguiti per il tempo minimo necessario per sviluppare eventi avversi immuno-correlati (almeno 70 giorni). Sono stati calcolati sia l'incidenza cumulativa che il tasso di incidenza degli eventi avversi immuno-correlati (come stima puntuale e intervallo di confidenza al 95%).

Le caratteristiche clinico-demografiche dei pazienti che hanno o non hanno sviluppato irAEs sono state confrontate mediante il test t per dati indipendenti o il test del chi quadro.

Il metodo di Kaplan-Meier è stato utilizzato per analizzare la sopravvivenza, intesa sia come *overall survival* che come *progression-free survival*. I confronti tra le curve dei pazienti che hanno o non hanno sviluppato irAEs sono stati eseguiti usando il log-rank test.

7 RISULTATI

7.1 Caratteristiche dei pazienti

In questa analisi preliminare, da gennaio 2019 a novembre 2019 abbiamo arruolato 54 pazienti consecutivi afferenti alla SOD Clinica Oncologica dell'AOU Ospedali Riuniti di Ancona.

Le caratteristiche al baseline dei pazienti sono riassunte nella **Tabella 1**.

I pazienti avevano un'età media all'ingresso di 66.7 ± 11.3 anni, 37 di essi erano maschi (corrispondente al 68,5% della popolazione) e 17 erano femmine (corrispondente al 31,5% della popolazione); 30 individui, pari al 57,6% della popolazione, erano fumatori e il loro BMI medio era di 25.2 ± 3.8 kg/m². Per quanto riguarda l'anamnesi patologica, ci si è soffermati sulla presenza di alcune patologie rilevanti, classificate in macro-categorie. È stato osservato che 33 pazienti (61,1% della popolazione) avevano una concomitante patologia cardiovascolare, 5 pazienti (9,3%) avevano una malattia del tessuto connettivo, 3 pazienti (5,3%) avevano una tiroidite autoimmune e 4 (7,4%) avevano altre patologie autoimmuni. Nella raccolta dell'anamnesi familiare, ci si è concentrati sulla presenza di patologie autoimmuni: 7 pazienti (13,3%) avevano familiarità positiva per patologie autoimmuni.

Per quanto riguarda l'istologia del tumore alla diagnosi, abbiamo 28 pazienti (51,8%) affetti da tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC), 10 pazienti (18,5%) affetti da carcinoma renale (RCC), 14 pazienti affetti da melanoma maligno (25,9%), 1 paziente affetto da linfoma di Hodgkin (LH) (1,8%) ed 1 paziente affetto da carcinoma squamocellulare della testa e del collo (SCCHN) (1,8%). Come terapia pregressa 28 pazienti (51,8%) avevano eseguito dei cicli di chemioterapia, 17 pazienti avevano eseguito dei cicli di radioterapia (31,5%) e 23 pazienti (42,6%) erano stati trattati chirurgicamente.

In merito all'immunoterapia utilizzata, vediamo che 24 pazienti (44,4%) sono stati trattati con nivolumab, 19 pazienti (35,2%) con pembrolizumab, 7 pazienti (13%) con atezolizumab e 4 pazienti (7,4%) con durvalumab.

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti al baseline

Caratteristiche	N=54
Età (anni)	66.7 ± 11.3
Sesso	M 37 (68.5%) F 17 (31.5%)
Abitudine tabagica	30 (57.6%)
BMI (kg/m²)	25.2 ± 3.8
Anamnesi personale	CV 33 (61.1%) Connettiviti 5 (9.3%) Tiroidite autoimmune 3 (5.5%) Altro 4 (7.4%)
Familiarità per malattie autoimmuni	7 (13%)
Tipo di tumore	NSCLC 28 (51.8%) RCC 10 (18.5%) Melanoma 14 (25.9%) LH 1 (1.8%) SCCHN 1 (1.8%)
Terapia pregressa	Chemioterapia 28 (51.8%) Radioterapia 17 (31.5%) Chirurgia 23 (42.6%)
Immunoterapia	Nivolumab 24 (44.4%) Pembrolizumab 19 (35.2%) Atezolizumab 7 (13%) Durvalumab 4 (7.4%)

I dati sono riportati come media ± DS o frequenze assolute e percentuali.

Abbreviazioni: BMI, Body Mass Index; M, maschi, F, femmine; CV, patologie cardiovascolari; NSCLC, tumore del polmone non a piccole cellule; RCC, carcinoma renale; LH, linfoma di Hodgkin; SCCHN, tumore squamocellulare della testa e del collo.

7.2 Incidenza e tasso di incidenza degli irAEs

Durante un follow-up mediano di 7 mesi, 15 pazienti su 54 hanno sviluppato un irAE, per un'incidenza cumulativa del 27.7% (Fig.6).

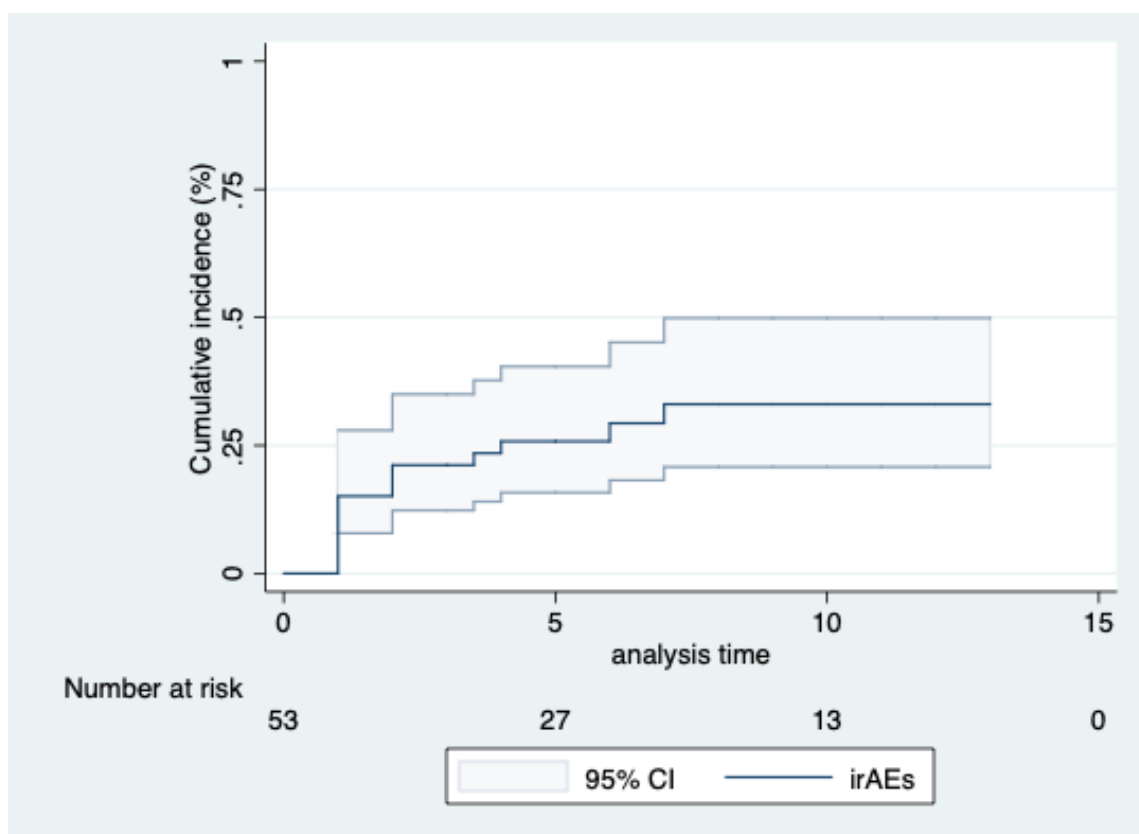


Figura 6. Incidenza cumulativa di irAES nella popolazione

Il tasso di incidenza osservato è di 5.1 x 100 pazienti-anno (IC95% 3.1-8.4). Esso è maggiore nei primi 3 mesi dall'inizio della terapia (8.4 x 100 pazienti-anno, IC95% 4.6-15.2), e si riduce progressivamente tra i 3 e i 6 mesi (3.7 x 100 pazienti-anno, IC95% 1.2-11.4) e tra i 6 e i 9 mesi (2.1 x 100 pazienti-anno, IC95% 0.3-14.8). Non si sono osservati irAEs al di sopra dei 9 mesi di trattamento.

Non vi sono differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'incidenza di irAEs nei pazienti che erano stati trattati in prima linea con chemioterapia tradizionale (IRR 1.05, IC95% 0.33-3.40), che avevano ricevuto terapia steroidea prima dell'inizio del trattamento (IRR 0.89, IC95% 0.09-3.97), con anamnesi personale di malattie cardiovascolari (IRR 3.29, IC95% 0.88-18.19), autoimmuni sistemiche (IRR 0.56, IC95% 0.01-3.72), tiroidite autoimmune (IRR 2.67, IC95% 0.29-11.82) o familiarità per malattie autoimmuni (IRR 0.88, IC95% 0.09-3.92).

7.3 Caratteristiche clinico-laboratoristiche dei principali irAEs

Tra i 15 pazienti che hanno sviluppato eventi avversi immuno-correlati, abbiamo riscontrato le seguenti caratteristiche (riassunte in **Tabella 2**):

- **Ipotiroidismo.** Quattro pazienti, di cui 2 in terapia con nivolumab e 2 in terapia con pembrolizumab, hanno sviluppato ipotiroidismo, tutti di basso grado e senza sintomi di rilievo. La diagnosi è stata posta sulla base dell'innalzamento dei valori di TSH, rilevato mediante prelievo ematico di routine, e la conferma della sua natura autoimmune si è avuta mediante il dosaggio degli autoanticorpi anti-TPO ed anti-TG con relativa positività in tutti i casi considerati. In 3 pazienti abbiamo osservato direttamente ipotiroidismo, mentre un paziente è passato per un'iniziale fase di ipertiroidismo, con soppressione del TSH e innalzamento dei valori di fT3 e fT4, seguito da ipotiroidismo con innalzamento dei valori di TSH e riduzione degli ormoni circolanti, in accordo con quanto descritto in letteratura. Nessuno dei 4 pazienti ha dovuto interrompere il trattamento immunoterapico e nessuno di essi ha dovuto ridurre la dose del farmaco oncologico. Tutti i pazienti hanno iniziato la terapia sostitutiva con levotiroxina, grazie alla quale si è avuta una normalizzazione del quadro clinico-laboratoristico.
- **Tossicità cutanea.** Cinque pazienti, di cui 2 in terapia con nivolumab, 2 con pembrolizumab e 1 con durvalumab, hanno sviluppato tossicità cutanea. Due di essi hanno sviluppato una dermatite psoriasiforme rispettivamente al cuoio capelluto e

nella zona peri-malleolare, nella zona delle mani e dei polsi, uno ha sviluppato un eritema pruriginoso del tronco, con presenza di debole positività agli ANA (sottotipo aspecifico anti-SSA). Queste manifestazioni sono state di grado lieve (G1-2), i pazienti sono stati sottoposti a visita dermatologica che ha indicato di iniziare una terapia topica steroidea, mantenendo invariato il dosaggio del trattamento immunoterapico. La manifestazione dermatologica è andata incontro a remissione in massimo due settimane.

Gli altri 2 pazienti hanno invece manifestato una tossicità cutanea più rilevante (G3): un paziente ha sviluppato una dermatite bollosa palmo-plantare e un paziente ha sviluppato un lichen eruttivo diffuso, rispettivamente dopo 2 e 5 mesi di trattamento. Entrambi i pazienti sono stati sottoposti a visita dermatologica che ha ritenuto opportuno interrompere il trattamento immunoterapico in atto a causa dell'importante tossicità, con l'indicazione ad iniziare un trattamento a base di corticosteroidi sistemico (Deltacortene 25 mg) associato a terapia topica.

- **Tossicità muscolo-scheletrica.** Tre pazienti hanno sviluppato tossicità muscolo-scheletrica. In particolare, 2 pazienti, in terapia con nivolumab ed atezolizumab, hanno sviluppato una sindrome simil-polimialgica (PMR-like) di grado 2 con presenza rispettivamente di dolore e rigidità dei cingoli scapolari e presenza di tumefazione delle mani con impotenza funzionale degli arti superiori e rigidità mattutina superiore a 30 min. Ambedue i pazienti hanno sviluppato questo irAE entro il primo mese di trattamento e in uno dei due è stata riscontrata la presenza di ANA positività aspecifica, seppur a basso titolo. In uno dei due pazienti, in conseguenza della presenza di psoriasi in anamnesi patologica e sospettando una possibile artrite psoriasica, si è ritenuto opportuno interrompere il trattamento immunoterapico ed iniziare il trattamento con prednisone 50 mg/die con dosaggio a scalare, mentre nell'altro paziente si è continuato il trattamento immunoterapico con dosaggio invariato, aggiungendo prednisone 10 mg/die, poi scalato a 5 mg/die. La sintomatologia in entrambi i casi è drasticamente migliorata con l'assunzione dello steroide.

Un paziente in trattamento con durvalumab ha invece sviluppato una miosite di grado 3, anch'esso entro il primo mese di terapia, che si è presentata con debolezza agli arti

superiori ed inferiori, ai muscoli paravertebrali e cervicali e rialzo delle CPK (creatinfosfochinasi) fino al valore di 3073 U/L. In questo caso, seguendo le indicazioni delle linee guida, si è optato per la sospensione del trattamento immunoterapico e somministrazione di terapia steroidea ad alte dosi, a scalare.

- **Tossicità epatica.** Due pazienti, in terapia rispettivamente con nivolumab e pembrolizumab, hanno sviluppato tossicità epatica di grado 1, caratterizzata da rialzo delle transaminasi (AST ed ALT), rilevato mediante prelievo ematico di routine e senza sintomatologia di rilievo. In ambedue i casi l'epatite è insorta entro il primo mese di terapia. In un paziente abbiamo osservato valori massimi di ALT di 65 U/L, mentre nell'altro paziente di 75 U/L. In entrambi i pazienti non si è resa necessaria l'interruzione del trattamento, così come una modifica del suo dosaggio e i valori delle transaminasi sono rientrati nella norma spontaneamente. I due pazienti hanno poi sospeso il trattamento per altre cause (progressione di malattia e tossicità cutanea).
- **Tossicità neurologica.** Due pazienti hanno sviluppato tossicità neurologica in seguito a terapia con pembrolizumab e durvalumab. Una di essi ha sviluppato, entro il primo mese di terapia, emiparesi dell'emivolto sinistro con ptosi palpebrale destra, diplopia, nausea, vomito e cefalea importante, alla visita neurologica è stata rilevata paralisi del III° nervo cranico sinistro, del V° e VII° nervo cranico a destra, mentre una successiva RM ha mostrato un rinforzo contrastografico a carico del III°, V°, VII° nervo cranico bilateralmente. Gli esami di laboratorio hanno mostrato la positività degli anticorpi anti-MAG (glicoproteina associata alla mielina) ed è stata così posta la diagnosi di neuropatia di grado 3 indotta da pembrolizumab. Il trattamento immunoterapico è stato immediatamente sospeso e la paziente è stata trattata con alte dosi di corticosteroidi, con risoluzione progressiva del quadro neurologico.
Il secondo paziente ha invece sviluppato, dopo 5 mesi di trattamento con durvalumab, una neuropatia di grado 2 con presenza di parestesie alle mani e ai piedi. Alla valutazione specialistica l'EMG è risultata negativo, così come non si sono riscontrati autoanticorpi, per cui è stato sospettato un coinvolgimento delle piccole

fibre (*small-fiber neuropathy*). Il paziente ha regolarmente proseguito il trattamento immunoterapico a dosaggio invariato, ma ha aggiunto prednisone 5 mg/die per il controllo della sintomatologia neurologica.

- **Diabete mellito.** Una paziente in trattamento con pembrolizumab ha sviluppato una forma di diabete mellito iatrogeno di grado 4, dopo 7 mesi di terapia. La paziente ha raggiunto livelli di glicemia pari a 700 mg/dl, in assenza di autoanticorpi, per cui il sospetto è stato quello di diabete fulminante. Il trattamento immunoterapico era già stato sospeso per una precedente tossicità cutanea (lichen di grado 3) e la paziente ha pertanto iniziato terapia insulinica con miglioramento dei valori glicemici.
- **Polmonite.** Un paziente in trattamento con pembrolizumab ha sviluppato, nel primo mese dall'inizio della terapia, dispnea e febbre, con riscontro alla Rx torace di addensamenti polmonari multipli. Il trattamento immunoterapico è stato immediatamente interrotto, mentre il quadro polmonare è migliorato con somministrazione di corticosteroidi sistemici ad alte dosi.

Di questi 15 pazienti, un paziente ha sviluppato 2 irAEs ed un paziente ne ha sviluppati 3.

Tabella 2. Caratteristiche degli irAEs

irAEs (grado)	Esordio	Sintomi e segni clinici e laboratoristici	Sospensione ICI	Terapia praticata	Esito	
Ipotiroidismo (grado 1)	1 mese	TSH=5,62 mU/L, anti-TPO ed anti-TG positivi	No	Eurox 75 mcg	TSH rientrato nei limiti	
Ipotiroidismo (grado 1)	4 mesi	TSH=19,1, anti-TPO ed anti-TG positivi	No	Eutirox 100 mcg	TSH rientrato nei limiti	
Ipotiroidismo (grado 2)	2 mesi	Astenia, anti-TPO ed anti-TG positivi	TSH=61, anti-TG positivi	No	Eutirox 100 mcg	TSH rientrato nei limiti

Tiroidite (grado 1)	1 mese	Fase tireotossicosi (fT3=8,9 e FT4=2,6), poi TSH=16,1, anti-TPO ed anti-TG positivi	No	Eutirox 50 mcg	TSH rientrato nei limiti
Eritema al tronco pruriginoso (grado 1)	6 mesi	Comparsa di zona eritematosa a livello truncale, con ANA debolmente positivi, sottotipo aspecifico (SSA)	No	Travocort + terapia topica	Eritema in remissione
Dermatite psoriasiforme (grado 1)	3 mesi	Comparsa di maculo-papule eritemato-squamose a livello del cuoio capelluto	No	Terapia topica steroidea	Remissione della tossicità cutanea
Dermatite psoriasiforme (grado 2)	2 mesi	Comparsa di papule a margini netti eritemato-squamose a livello di mani, polsi, dorso e zona perimalleolare	No	Terapia topica steroidea	Scomparsa delle lesioni psoriasiformi
Dermatite bollosa palmo-plantare (grado 3)	2 mesi	Comparsa di maculo-papule pruriginose a livello toracico, poi evolute in lesioni eritemato-crostose associate a bolle palmo-plantari	Si	Deltacortene 25 mg + terapia topica steroidea	Scomparsa delle lesioni bollose
Lichen eruttivo diffuso (grado 3)	5 mesi	Comparsa di Lichen verrucoso eruttivo pruriginoso diffusamente	Si	Deltacortene 25 mg	Risoluzione della tossicità dermatologica
PMR-like (grado 2)	1 mese	Comparsa di dolore e rigidità ai cingoli scapolari ed alle mani	Si	Deltacortene 50 mg	Risoluzione della sintomatologia
PMR-like (grado 2)	1 mese	comparsa di tumefazione delle mani con impotenza funzionale degli arti superiori e rigidità	No	Deltacortene 10 mg, scalato poi a 5 mg	Risoluzione della sintomatologia

		mattutina superiore a 30 min.			
Miosite (grado 3)	1 mese	debolezza agli arti superiori ed inferiori, ai muscoli paravertebrali e cervicali e rialzo delle CPK (creatinfosfochinasi) fino al valore di 3073 U/L.	Si	Deltacortone 12,5 mg	Risoluzione della sintomatologia e CPK rientrate nei limiti
Epatite (grado 1)	1 mese	Rialzo transaminasi (ALT=65 U/L)	No	Nessuna	Risoluzione spontanea
Epatite (grado 1)	1 mese	Rialzo transaminasi (ALT=75 U/L, AST=62 U/L)	No	Nessuna	Risoluzione spontanea
Neuropatia (grado 3)	1 mese	emiparesi dell'emivolto sinistro con ptosi palpebrale destra, diplopia, nausea, vomito e cefalea importante, la MRI ha mostrato un rinforzo contrastografico a carico del III°, V°, VII°nervo cranico bilateralmente. Anticorpi anti-MAG positivi	Si	Corticosteroidi ad alte dosi	Risoluzione progressiva del quadro neurologico
Neuropatia delle piccole fibre (grado 2)	5 mesi	Parestesie alle mani ed ai piedi. EMG ed autoanticorpi negativi.	No	Prednison e 5 mg/die	Non completa risoluzione del disordine neurologico

Diabete fulminante (grado 4)	5 mesi	Valori di glicemia pari a 700 mg/dl. Autoanticorpi assenti	Si	Terapia Insulinica	Abbassamento dei valori glicemici
Polmonite (grado 3)	1 mese	Comparsa di febbre associata a dispnea. RX torace evidenzia addensamenti polmonari multipli bilaterali	Si	Deltacortone 25 mg	Scomparsa degli addensamenti e scomparsa di febbre e dispnea

Nella **Tabella 3** vengono confrontate le principali caratteristiche clinico-demografiche tra i pazienti che hanno o non hanno sviluppato irAEs. Come è possibile osservare, non vi sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi.

Tabella 3. Confronto delle caratteristiche clinico-demografiche fra i pazienti che hanno o non hanno sviluppato irAEs

Caratteristiche	irAEs	No irAEs	p
Età (anni)	67.2 ± 12.1	66.6 ± 11.2	.86
Sesso	M 8 F 7	M 29 F 10	.13
Abitudine tabagica	6	24	.18
BMI (kg/m²)	26.4 ± 4.3	24.7 ± 3.6	.15
Anamnesi personale	CV 12 Connettiviti 1 Tiroidite autoimmune 2	CV 21 Connettiviti 4 Tiroidite autoimmune 1	.07 .68 .12
Familiarità per malattie autoimmuni	2	5	.96
Pregresso uso di steroide	2	8	.54
Tipo di tumore	NSCLC 7 RCC 4 Melanoma 3 LH 1	NSCLC 21 RCC 6 Melanoma 11 SCCHN 1	.39
Terapia pregressa	Chemio 8	Chemio 20	.89

	Radio 3	Radio 14	.26
	Chirurgia 5	Chirurgia 18	.39
Immunoterapia	Nivolumab 7	Nivolumab 17	.64
	Pembrolizumab 5	Pembrolizumab 14	
	Atezolizumab 1	Atezolizumab 6	
	Durvalumab 2	Durvalumab 2	

Il confronto è stato effettuato mediante il t test per dati indipendenti o il test del chi quadro. Abbreviazioni: BMI, Body Mass Index; M, maschi, F, femmine; CV, patologie cardiovascolari; NSCLC, tumore del polmone non a piccole cellule; RCC, carcinoma renale; LH, linfoma di Hodgkin; SCCHN, tumore squamocellulare della testa e del collo.

7.4 Analisi della sopravvivenza

Durante il follow-up, sono deceduti 6 pazienti (11.1%) per cause legate alla malattia oncologica. Complessivamente, sono risultati in progressione 16 pazienti (29.6%), mentre il 59.3% dei pazienti aveva una malattia stabile o con risposta parziale all'ultimo follow-up.

Le **Figure 7 e 8** mostrano l'*overall survival* dei pazienti arruolati, in generale e stratificata per lo sviluppo o meno di irAEs. Come è possibile osservare, i pazienti che hanno sviluppato irAEs hanno una sopravvivenza del 100% a 12 mesi, rispetto all'86.4% dei pazienti senza EA (p=0.07). Tale differenza, seppur non statisticamente significativa, appare sostanzialmente in linea con quanto riportato in letteratura.

Per quanto riguarda la *progression-free survival* (PFS), a 12 mesi essa è superiore nei pazienti che hanno sviluppato irAEs (83.9%) rispetto ai pazienti senza EA (47.7%), con una differenza ai limiti della significatività statistica (p=0.04) (**Figure 9 e 10**).

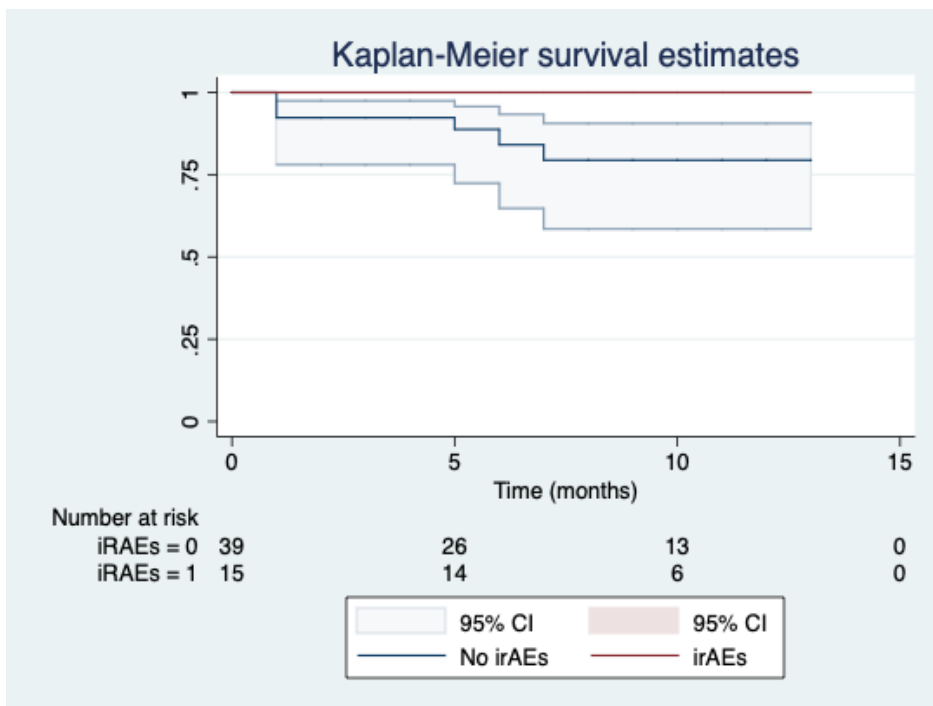
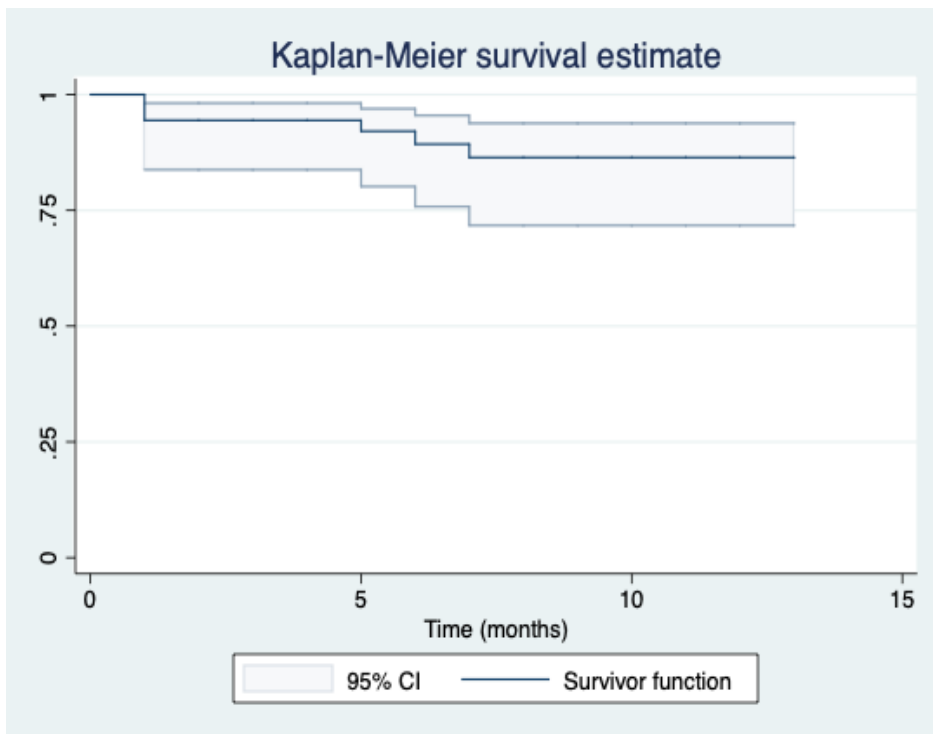


Figure 7 e 8. Analisi della overall survival dei pazienti, sia generale che stratificata per comparsa o meno di eventi avversi immuno-correlati.

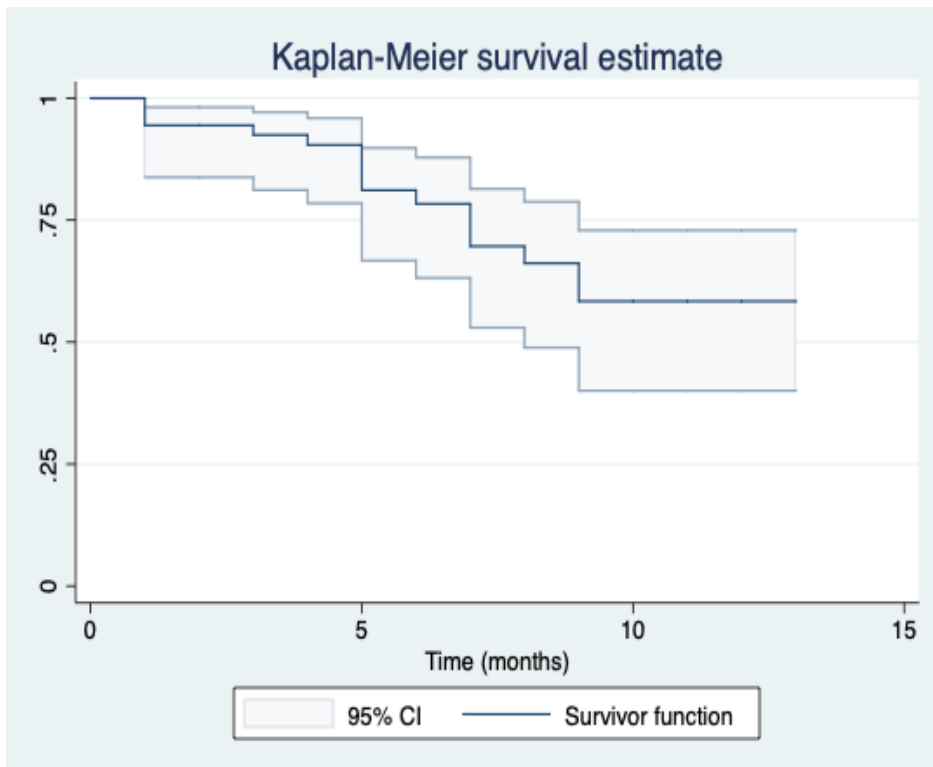
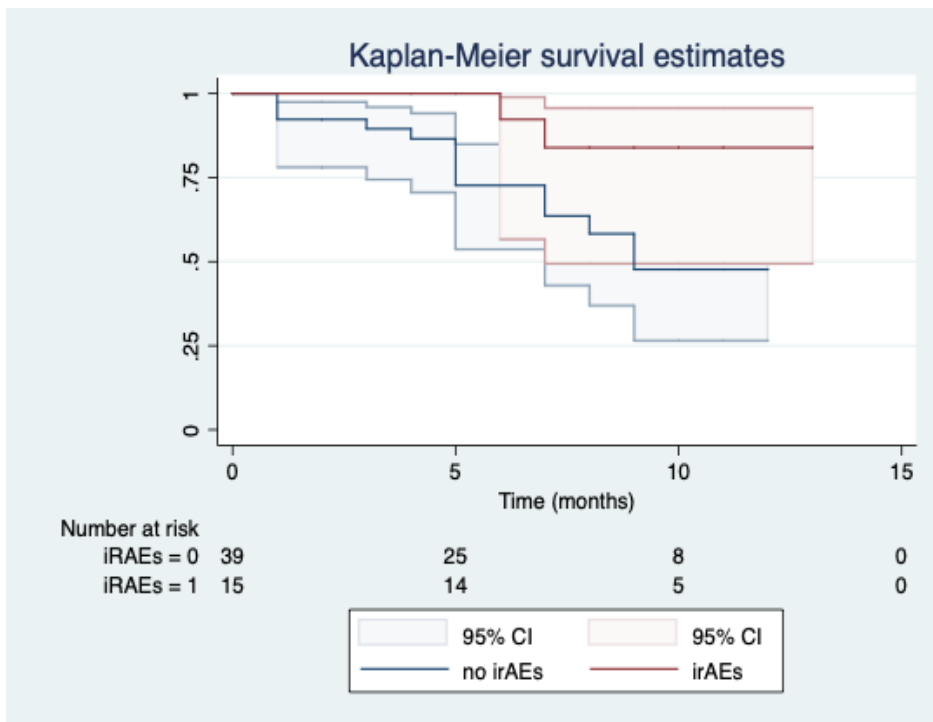


Figure 9 e 10. Analisi della progression-free survival dei pazienti, sia generale che stratificata per comparsa o meno di eventi avversi immuno-correlati

8 DISCUSSIONE

Il nostro studio preliminare ha arruolato una coorte di 54 pazienti, permettendoci di osservare l'incidenza e le caratteristiche degli irAEs, di valutare i fattori di rischio per la loro insorgenza e l'impatto che essi hanno sulla prognosi.

La popolazione arruolata nello studio ha un'età media di 66.7 anni ed è prevalentemente composta da soggetti di sesso maschile (68,5%), in accordo col fatto che in questo studio il 51,8% dei soggetti presenta NSCLC ed il 18,5% presenta RCC, che hanno entrambi un'incidenza più elevata nel sesso maschile ¹⁸¹⁻¹⁸². Le altre tre neoplasie rappresentate sono il melanoma (25,9%), il LH (1,8%) e lo SCCHN (1,8%). Il 57,6% dei pazienti ha o ha avuto un'abitudine tabagica e il BMI medio è di 25,2 kg/m², fattori che sono stati indagati a causa del loro impatto sulle patologie neoplastiche ¹⁸³⁻¹⁸⁴.

I pazienti arruolati sono stati trattati con gli anti PD-1 nivolumab (44,4%) e pembrolizumab (35,2%) e con gli anti PD-L1 atezolizumab (13%) e durvalumab (7,4%) con dosi, modalità e tempistiche di infusione standard. Nessun paziente è stato trattato con anti CTLA-4.

Durante un follow-up mediano di 7 mesi, 15 pazienti su 54 hanno sviluppato un irAE per un'incidenza cumulativa del 27,7%, in accordo con i dati presenti in letteratura. Uno studio condotto da Khoja L. et al. ha stimato l'incidenza di irAEs di ogni tipo al 26,5% ⁷³, così come una meta-analisi condotta da Peng Fei Wang et al. che ha valutato 12808 pazienti oncologici trattati con anti PD-1/anti PD-L1 e che ha stimato un'incidenza del 26,82% ¹⁸⁵. Gli irAEs sono insorti con maggior frequenza entro i primi 3 mesi, con un tasso di incidenza di 8.4 x 100 pazienti-anno, IC95% 4.6-15.2, andando poi a ridursi progressivamente tra i 3 e i 6 mesi (3.7 x 100 pazienti-anno, IC95% 1.2-11.4) e tra i 6 e i 9 mesi (2.1 x 100 pazienti-anno, IC95% 0.3-14.8). Anche questi dati sono in accordo con la letteratura che vede, nella maggior parte dei casi, l'insorgenza di irAEs entro i primi 3 mesi ¹⁸⁶. Nel nostro studio non sono stati osservati irAEs al di sopra dei 9 mesi di trattamento, probabilmente a causa del ridotto tempo di osservazione dei pazienti, in quanto è ben noto che con gli ICIs, sebbene con minor frequenza, i pazienti possono sviluppare irAEs anche dopo molti mesi dall'inizio del trattamento ⁸²⁻¹⁰⁴⁻¹⁰⁵⁻¹¹⁶⁻¹¹⁷⁻¹³²⁻¹⁴⁷⁻¹⁷¹.

Per quanto riguarda lo studio dei fattori di rischio, non sono state trovate differenze statisticamente significative per quanto riguarda l'incidenza di irAEs nei pazienti trattati in prima linea con chemioterapia tradizionale, che avevano ricevuto terapia steroidea prima dell'inizio del trattamento, con anamnesi personale di malattie cardiovascolari, autoimmuni sistemiche, tiroidite autoimmune o familiarità per malattie autoimmuni, confermando così la possibilità di intraprendere un trattamento con ICIs anche in soggetti che presentano queste patologie pregresse o che hanno eseguito altre terapie precedenti ¹⁸⁷.

Durante lo studio sono deceduti 6 pazienti corrispondenti all'11,1% della popolazione, per cause legate alla malattia oncologica, sono risultati in progressione 16 pazienti, corrispondenti al 29,6% della popolazione, mentre i restanti 32 pazienti, corrispondenti al 59,3% dei pazienti, avevano una malattia stabile o con risposta parziale all'ultimo follow-up. Andando a valutare la sopravvivenza dei pazienti arruolati, stratificata per lo sviluppo o meno di irAEs, vediamo che i pazienti che hanno sviluppato irAEs hanno una sopravvivenza del 100% a 12 mesi, contro l'86,4% dei pazienti che non hanno sviluppato irAEs ($p=0,07$) e seppur la differenza non risulta essere statisticamente significativa, il dato è concorde a quanto riportato in letteratura da molteplici studi ⁷⁷⁻⁷⁹⁻⁷⁹⁻⁸⁰⁻⁸¹, in particolare da uno studio condotto da Petrelli F. et al., condotto su 4324 pazienti affetti da neoplasie solide maligne trattate con ICIs ¹⁸⁸.

Il dato della *progression-free survival* (PFS) supporta ulteriormente l'ipotesi che lo sviluppo degli irAEs possa essere associato ad una migliore prognosi. Infatti, a 12 mesi abbiamo notato che la PFS, nei pazienti che hanno sviluppato irAEs, risulta essere superiore (83,9%) rispetto ai pazienti che non hanno sviluppato irAEs (47,7%), con una differenza ai limiti della significatività statistica ($p=0,04$). Anche questo dato è perfettamente concorde con altri studi pubblicati, che indicano chiaramente che lo sviluppo di irAEs rappresenta un predittore positivo indipendente di aumento della PFS ¹⁸⁹⁻¹⁹⁰.

Il nostro studio presenta diverse limitazioni. Innanzitutto, trattandosi dell'analisi preliminare di uno studio di coorte tuttora in corso, esso non è adeguatamente dimensionato per molte delle analisi predittive, in particolare quelle che riguardano i fattori di rischio per lo sviluppo degli irAEs. In questa fase non è stato possibile, inoltre, analizzare i dati biologici (ad es., la presenza o meno al baseline o nel follow-up di autoanticorpi, più o meno specifici; eccetera),

che avrebbero potuto fornire dati più rilevanti e affidabili per quanto riguarda sia le caratteristiche che i fattori di rischio per lo sviluppo di eventi avversi. Infine, non possiamo escludere che nello studio vi sia una certa quota di confondimento, pur essendo stato disegnato al fine di minimizzare il rischio di bias intrinseco agli studi osservazionali. In particolare, in questo tipo di studio i rischi più importanti derivano dall'ascertainment bias, dal detection bias e dal recall bias.

9 CONCLUSIONI

In conclusione, circa 1 paziente su 4 in terapia con ICIs può sviluppare un irAEs di ogni tipo, prevalentemente entro i primi 3 mesi di terapia, e sia gli oncologi che gli specialisti dovrebbero imparare a riconoscerli in maniera tempestiva, dato che anche questo studio, nonostante il campione poco ampio ed il follow-up mediano ridotto, ha mostrato che il loro sviluppo è connesso ad una migliore prognosi sul versante oncologico per i pazienti, per cui un loro rapido trattamento potrebbe evitare lo sviluppo di una condizione severa che implichi la sospensione del trattamento con ICIs.

Per quanto riguarda i fattori di rischio connessi con lo sviluppo di irAEs, saranno necessari ulteriori studi che vadano a chiarire quali possano essere realmente le controindicazioni al trattamento con ICIs, alla luce della loro sempre maggiore importanza nella terapia oncologica, evitando così di escludere alcuni pazienti che trarrebbero invece giovamento dal loro utilizzo.

10 BIBLIOGRAFIA

1. The top 10 causes of death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
2. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
3. Pennock, G. K. & Chow, L. Q. M. The Evolving Role of Immune Checkpoint Inhibitors in Cancer Treatment. *Oncologist* **20**, 812–822 (2015).
4. Penn, I. & Starzl, T. E. Malignant tumors arising de novo in immunosuppressed organ transplant recipients. *Transplantation* **14**, 407–17 (1972).
5. Dempke, W. C. M., Fenchel, K., Uciechowski, P. & Dale, S. P. Second- and third-generation drugs for immuno-oncology treatment—The more the better? *European Journal of Cancer* vol. 74 55–72 (2017).
6. McCarthy, E. F. The toxins of William B. Coley and the treatment of bone and soft-tissue sarcomas. *Iowa Orthop. J.* **26**, 154–158 (2006).
7. Morales, A., Eiding, D. & Bruce, A. W. Intracavitary Bacillus Calmette Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J. Urol.* **116**, 180–182 (1976).
8. Oiseth, S. J. & Aziz, M. S. Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *J. Cancer Metastasis Treat.* **3**, 250 (2017).
9. Leach, D. R., Krummel, M. F. & Allison, J. P. *Enhancement of Antitumor Immunity by CTLA-4 Blockade* 12:44:45 PM All use subject to JSTOR Terms and Conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* vol. 239 (1988).
10. Gardner, T. A., Elzey, B. D. & Hahn, N. M. Sipuleucel-T (Provenge) autologous vaccine approved for treatment of men with asymptomatic or minimally symptomatic castrate-resistant metastatic prostate cancer. *Human Vaccines and*

- Immunotherapeutics* vol. 8 534–539 (2012).
11. Vesely, M. D., Kershaw, M. H., Schreiber, R. D. & Smyth, M. J. Natural Innate and Adaptive Immunity to Cancer. *Annu. Rev. Immunol.* **29**, 235–271 (2011).
 12. Dunn, G. P., Old, L. J. & Schreiber, R. D. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu. Rev. Immunol.* **22**, 329–360 (2004).
 13. Khong, H. T. & Restifo, N. P. Natural selection of tumor variants in the generation of ‘tumor escape’ phenotypes. *Nat. Immunol.* **3**, 999–1005 (2002).
 14. DeMaria, P. J. & Bilusic, M. Cancer Vaccines. *Hematology/Oncology Clinics of North America* vol. 33 199–214 (2019).
 15. Lamm, D. L. *et al.* A Randomized Trial of Intravesical Doxorubicin and Immunotherapy with Bacille Calmette–Guérin for Transitional-Cell Carcinoma of the Bladder. *N. Engl. J. Med.* **325**, 1205–1209 (1991).
 16. Conry, R. M., Westbrook, B., McKee, S. & Norwood, T. G. Talimogene laherparepvec: First in class oncolytic virotherapy. *Human Vaccines and Immunotherapeutics* vol. 14 839–846 (2018).
 17. Dranoff, G. Cytokines in cancer pathogenesis and cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* vol. 4 11–22 (2004).
 18. Santini, S. M. *et al.* IFN- α in the Generation of Dendritic Cells for Cancer Immunotherapy. in *Dendritic Cells* 295–317 (Springer Berlin Heidelberg, 2008). doi:10.1007/978-3-540-71029-5_14.
 19. Rizza, P., Moretti, F. & Belardelli, F. Recent advances on the immunomodulatory effects of IFN- α : Implications for cancer immunotherapy and autoimmunity. in *Autoimmunity* vol. 43 204–209 (2010).
 20. Coventry, B. J. & Ashdown, M. L. The 20th anniversary of interleukin-2 therapy: Bimodal role explaining longstanding random induction of complete clinical responses. *Cancer Management and Research* vol. 4 215–221 (2012).

21. Lipowska-Bhalla, G., Gilham, D. E., Hawkins, R. E. & Rothwell, D. G. Targeted immunotherapy of cancer with CAR T cells: Achievements and challenges. *Cancer Immunology, Immunotherapy* vol. 61 953–962 (2012).
22. Thumbs Up to Latest CAR T-Cell Approval | MedPage Today. <https://www.medpagetoday.com/hematologyoncology/lymphoma/68670>.
23. Monoclonal Antibodies and Their Side Effects. <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/immunotherapy/monoclonal-antibodies.html>.
24. Scott, A. M., Allison, J. P. & Wolchok, J. D. Monoclonal antibodies in cancer therapy. *Cancer Immun.* **12**, (2012).
25. Peggs, K. S., Quezada, S. A. & Allison, J. P. Cell intrinsic mechanisms of T-cell inhibition and application to cancer therapy. *Immunological Reviews* vol. 224 141–165 (2008).
26. Takase, K. & Saito, T. T cell activation. in *Ryumachi* vol. 35 853–861 (NIH Public Access, 1995).
27. Schildberg, F. A., Klein, S. R., Freeman, G. J. & Sharpe, A. H. Coinhibitory Pathways in the B7-CD28 Ligand-Receptor Family. *Immunity* vol. 44 955–972 (2016).
28. Ceeraz, S., Nowak, E. C. & Noelle, R. J. B7 family checkpoint regulators in immune regulation and disease. *Trends in Immunology* vol. 34 556–563 (2013).
29. Waterhouse, P. *et al.* Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4-4. *Science (80-)*. **270**, 985–988 (1995).
30. Gough, S. C. L., Walker, L. S. K. & Sansom, D. M. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunological Reviews* vol. 204 102–115 (2005).
31. Keir, M. E., Butte, M. J., Freeman, G. J. & Sharpe, A. H. PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **26**, 677–704 (2008).
32. Sharpe, A. H. & Pauken, K. E. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway.

- Nature Reviews Immunology* vol. 18 153–167 (2018).
33. Qin, W. *et al.* The Diverse Function of PD-1/PD-L Pathway Beyond Cancer. *Frontiers in Immunology* vol. 10 (2019).
 34. Dong, H. *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat. Med.* **8**, 793–800 (2002).
 35. Li, Y. *et al.* A mini-review for cancer immunotherapy: Molecular understanding of PD-1/PD-L1 pathway & translational blockade of immune checkpoints. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 17 (2016).
 36. Guan, J., Lim, K. S., Mekhail, T. & Chang, C. C. Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in the programmed death receptor-1 (PD-1)/PD-L1 blockade a key player against various cancers. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* vol. 141 851–861 (2017).
 37. Wang, X., Teng, F., Kong, L. & Yu, J. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *OncoTargets and Therapy* vol. 9 5023–5039 (2016).
 38. Yao, H., Wang, H., Li, C., Fang, J. Y. & Xu, J. Cancer Cell-Intrinsic PD-1 and Implications in Combinatorial Immunotherapy. *Frontiers in immunology* vol. 9 1774 (2018).
 39. Du, S. *et al.* Blockade of Tumor-Expressed PD-1 promotes lung cancer growth. *Oncoimmunology* **7**, (2018).
 40. Cai, J., Wang, D., Zhang, G. & Guo, X. The role of PD-1/PD-L1 axis in treg development and function: Implications for cancer immunotherapy. *OncoTargets and Therapy* vol. 12 8437–8445 (2019).
 41. Contardi, E. *et al.* CTLA-4 is constitutively expressed on tumor cells and can trigger apoptosis upon ligand interaction. *Int. J. Cancer* **117**, 538–550 (2005).
 42. Zhang, H. *et al.* Tumour cell-intrinsic CTLA4 regulates PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *J. Cell. Mol. Med.* **23**, 535–542 (2019).

43. Qin, S. *et al.* Novel immune checkpoint targets: Moving beyond PD-1 and CTLA-4. *Molecular Cancer* vol. 18 (2019).
44. Yu, X. *et al.* The surface protein TIGIT suppresses T cell activation by promoting the generation of mature immunoregulatory dendritic cells. *Nat. Immunol.* **10**, 48–57 (2009).
45. Pardoll, D. M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer* vol. 12 252–264 (2012).
46. Hargadon, K. M., Johnson, C. E. & Williams, C. J. Immune checkpoint blockade therapy for cancer: An overview of FDA-approved immune checkpoint inhibitors. *International Immunopharmacology* vol. 62 29–39 (2018).
47. Schadendorf, D. *et al.* Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J. Clin. Oncol.* **33**, 1889–1894 (2015).
48. Larkin, J. *et al.* Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.* **381**, 1535–1546 (2019).
49. Motzer, R. J. *et al.* Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **378**, 1277–1290 (2018).
50. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/yervoy-epar-product-information_it.pdf.
51. Specenier, P. Nivolumab in melanoma. *Expert Review of Anticancer Therapy* vol. 16 1247–1261 (2016).
52. Wolchok, J. D. *et al.* Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **377**, 1345–1356 (2017).
53. Borghaei, H. *et al.* Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* **373**, 1627–1639 (2015).
54. Rizvi, N. A. *et al.* Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint

- inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): A phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol.* **16**, 257–265 (2015).
55. Joseph, R. W., Chatta, G. & Vaishampayan, U. Nivolumab treatment for advanced renal cell carcinoma: Considerations for clinical practice. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* vol. 35 142–148 (2017).
 56. Armand, P. *et al.* Nivolumab for relapsed/refractory classic hodgkin lymphoma after failure of autologous hematopoietic cell transplantation: Extended follow-up of the multicohort single-arm phase II checkmate 205 trial. *J. Clin. Oncol.* **36**, 1428–1439 (2018).
 57. Ferris, R. L. *et al.* Nivolumab vs investigator’s choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression. *Oral Oncol.* **81**, 45–51 (2018).
 58. Teo, M. Y. & Rosenberg, J. E. Nivolumab for the treatment of urothelial cancers. *Expert Review of Anticancer Therapy* vol. 18 215–221 (2018).
 59. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/opdivo-epar-product-information_it.pdf.
 60. Hamid, O. *et al.* Five-year survival outcomes for patients with advanced melanoma treated with pembrolizumab in KEYNOTE-001. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **30**, 582–588 (2019).
 61. Palumbo, G. *et al.* Pembrolizumab in lung cancer: Current evidence and future perspectives. *Future Oncology* vol. 15 3327–3336 (2019).
 62. Chen, R. *et al.* Pembrolizumab in relapsed or refractory Hodgkin lymphoma: 2-year follow-up of KEYNOTE-087. *Blood* **134**, 1144–1153 (2019).
 63. Lundgren, K. T., Farina, M. S. & Bellmunt, J. Pembrolizumab in the treatment of advanced urothelial cancer. *Futur. Oncol.* **13**, 2745–2758 (2017).
 64. Rini, B. I. *et al.* Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-

- Cell Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **380**, 1116–1127 (2019).
65. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/keytruda-epar-product-information_it.pdf.
 66. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imfizi-epar-product-information_it.pdf.
 67. Antonia, S. J. *et al.* Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non–Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **377**, 1919–1929 (2017).
 68. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tecentriq-epar-product-information_it.pdf.
 69. (No Title). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/bavencio-epar-product-information_it.pdf.
 70. Myers, G. Immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitors: A brief review. *Curr. Oncol.* **25**, 342–347 (2018).
 71. Postow, M. A., Sidlow, R. & Hellmann, M. D. Immune-related adverse events associated with immune checkpoint blockade. *N. Engl. J. Med.* **378**, 158–168 (2018).
 72. Khoja, L., Day, D., Wei-Wu Chen, T., Siu, L. L. & Hansen, A. R. Tumour- and class-specific patterns of immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **28**, 2377–2385 (2017).
 73. El Osta, B., Hu, F., Sadek, R., Chintalapally, R. & Tang, S. C. Not all immune-checkpoint inhibitors are created equal: Meta-analysis and systematic review of immune-related adverse events in cancer trials. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* vol. 119 1–12 (2017).
 74. Baxi, S. *et al.* Immune-related adverse events for anti-PD-1 and anti-PD-L1 drugs: Systematic review and meta-analysis. *BMJ (Online)* vol. 360 2–8 (2018).
 75. Chouaid, C. *et al.* Cost analysis of adverse events associated with non-small cell lung cancer management in France. *Clin. Outcomes Res.* **9**, 443–449 (2017).

76. Zhang, P. *et al.* Autoimmune melanocyte destruction is required for robust CD8+ memory T cell responses to mouse melanoma. *J. Clin. Invest.* **17**, 1433–1439 (2014).
77. Teulings, H. E. *et al.* Vitiligo-like depigmentation in patients with stage III-IV melanoma receiving immunotherapy and its association with survival: A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Oncol.* **33**, 773–781 (2015).
78. Sanlorenzo, M. *et al.* Pembrolizumab cutaneous adverse events and their association with disease progression. *JAMA Dermatology* **151**, 1206–1212 (2015).
79. Nakamura, Y. *et al.* Correlation between vitiligo occurrence and clinical benefit in advanced melanoma patients treated with nivolumab: A multi-institutional retrospective study. *J. Dermatol.* **44**, 117–122 (2017).
80. Haratani, K. *et al.* Association of immune-related adverse events with nivolumab efficacy in non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol.* **4**, 374–378 (2018).
81. Chuzi, S. *et al.* Clinical features, diagnostic challenges, and management strategies in checkpoint inhibitor-related pneumonitis. *Cancer Management and Research* vol. 9 207–213 (2017).
82. Ma, K. *et al.* The Relative Risk and Incidence of Immune Checkpoint Inhibitors Related Pneumonitis in Patients With Advanced Cancer: A Meta-Analysis. *Front. Pharmacol.* **9**, 1430 (2018).
83. Cui, P. F. *et al.* Pneumonitis and pneumonitis-related death in cancer patients treated with programmed cell death-1 inhibitors: A systematic review and meta-analysis. *Ther. Clin. Risk Manag.* **13**, 1259–1271 (2017).
84. Naidoo, J. *et al.* Pneumonitis in patients treated with anti-programmed death-1/programmed death ligand 1 therapy. *J. Clin. Oncol.* **35**, 709–717 (2017).
85. Kato, T. *et al.* Nivolumab-induced interstitial lung disease analysis of two phase II studies patients with recurrent or advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* **104**, 111–118 (2017).
86. Oya, K. *et al.* Third-line pembrolizumab-induced immune-related interstitial

- pneumonitis after ipilimumab and nivolumab failure. *European Journal of Dermatology* vol. 28 129–130 (2018).
87. Al-dliw, M. *et al.* Pembrolizumab reactivates pulmonary granulomatosis. *Respir. Med. Case Reports* **22**, 126–129 (2017).
 88. Reuss, J. E. *et al.* Sarcoidosis in the setting of combination ipilimumab and nivolumab immunotherapy: A case report & review of the literature. *J. Immunother. Cancer* **4**, 94 (2016).
 89. Shibaki, R., Akamatsu, H., Fujimoto, M., Koh, Y. & Yamamoto, N. Nivolumab induced radiation recall pneumonitis after two years of radiotherapy. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **28**, 1404–1405 (2017).
 90. Kuint, R. *et al.* Organizing pneumonia following treatment with pembrolizumab for metastatic malignant melanoma – A case report. *Respir. Med. Case Reports* **20**, 95–97 (2017).
 91. Helber, H. A., Hada, A. L., Pio, R. B., Moraes, P. H. Z. de & Gomes, D. B. D. Immunotherapy-induced pneumonitis: cases report. *Einstein (Sao Paulo)*. **16**, eRC4030 (2018).
 92. Nishino, M. *et al.* Anti-PD-1 inhibitor-related pneumonitis in non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol. Res.* **4**, 289–293 (2016).
 93. Imafuku, K. *et al.* Two Cases of Nivolumab Re-Administration after Pneumonitis as Immune-Related Adverse Events. *Case Rep. Oncol.* **10**, 296–300 (2017).
 94. Abdel-Rahman, O., ElHalawani, H. & Fouad, M. Risk of cutaneous toxicities in patients with solid tumors treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis. *Futur. Oncol.* **11**, 2471–2484 (2015).
 95. Metro, G. *et al.* The safety of nivolumab for the treatment of advanced non-small cell lung cancer. *Expert Opin. Drug Saf.* **16**, 101–109 (2017).
 96. Jour, G. *et al.* Autoimmune dermatologic toxicities from immune checkpoint blockade with anti-PD-1 antibody therapy: a report on bullous skin eruptions. *J.*

- Cutan. Pathol.* **43**, 688–696 (2016).
97. Pintova, S., Sidhu, H., Friedlander, P. A. & Holcombe, R. F. Sweet's syndrome in a patient with metastatic melanoma after ipilimumab therapy. *Melanoma Res.* **23**, 498–501 (2013).
 98. Salati, M. *et al.* Stevens-Johnson syndrome during nivolumab treatment of NSCLC. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **29**, 283–284 (2018).
 99. Torino, F., Corsello, S. M. & Salvatori, R. Endocrinological side-effects of immune checkpoint inhibitors. *Current Opinion in Oncology* vol. 28 278–287 (2016).
 100. Caturegli, P. *et al.* Hypophysitis Secondary to Cytotoxic T-Lymphocyte–Associated Protein 4 Blockade: Insights into Pathogenesis from an Autopsy Series. *Am. J. Pathol.* **186**, 3225–3235 (2016).
 101. Wehler, E., Zhao, Z., Pinar Bilir, S., Munakata, J. & Barber, B. Economic burden of toxicities associated with treating metastatic melanoma in eight countries. *Eur. J. Heal. Econ.* **18**, 49–58 (2017).
 102. Campredon, P. *et al.* Incidence of thyroid dysfunctions during treatment with nivolumab for non-small cell lung cancer: Retrospective study of 105 patients. *Press. Medicale* **48**, e199–e207 (2019).
 103. Girotra, M. *et al.* The Current Understanding of the Endocrine Effects From Immune Checkpoint Inhibitors and Recommendations for Management. *JNCI Cancer Spectr.* **2**, (2018).
 104. Delivanis, D. A. *et al.* Pembrolizumab-induced thyroiditis: Comprehensive clinical review and insights into underlying involved mechanisms. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 102 2770–2780 (2017).
 105. Orlov, S., Salari, F., Kashat, L. & Walfish, P. G. Induction of painless thyroiditis in patients receiving programmed death 1 receptor immunotherapy for metastatic malignancies. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **100**, 1738–1741 (2015).
 106. Illouz, F. *et al.* Endocrine toxicity of immune checkpoint inhibitors: Essential

- crosstalk between endocrinologists and oncologists. *Cancer Medicine* vol. 6 1923–1929 (2017).
107. Sagiv, O. *et al.* Extraocular Muscle Enlargement and Thyroid Eye Disease-like Orbital Inflammation Associated with Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Cancer Patients. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* **35**, 50–52 (2019).
 108. Barroso-Sousa, R. *et al.* Incidence of endocrine dysfunction following the use of different immune checkpoint inhibitor regimens a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncology* vol. 4 173–182 (2018).
 109. Bacanovic, S., Burger, I. A., Stolzmann, P., Hafner, J. & Huellner, M. W. Ipilimumab-Induced Adrenalitis: A Possible Pitfall in 18F-FDG-PET/CT. *Clin. Nucl. Med.* **40**, e518–e519 (2015).
 110. Hescot, S. *et al.* Immunotherapy-induced Addison’s disease: A rare, persistent and potentially lethal side-effect. *European Journal of Cancer* vol. 97 57–58 (2018).
 111. Haissaguerre, M., Hescot, S., Bertherat, J. & Chabre, O. Expert opinions on adrenal complications in immunotherapy. *Ann. Endocrinol. (Paris)*. **79**, 539–544 (2018).
 112. Gauci, M. L. *et al.* Autoimmune diabetes induced by PD-1 inhibitor—retrospective analysis and pathogenesis: a case report and literature review. *Cancer Immunol. Immunother.* **66**, 1399–1410 (2017).
 113. Clotman, K., Janssens, K., Specenier, P., Weets, I. & De Block, C. E. M. Programmed Cell Death-1 Inhibitor-Induced Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* vol. 103 3144–3154 (2018).
 114. Gupta, A., De Felice, K. M., Loftus, E. V. & Khanna, S. Systematic review: colitis associated with anti-CTLA-4 therapy. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* vol. 42 406–417 (2015).
 115. Soularue, E. *et al.* Enterocolitis due to immune checkpoint inhibitors: A systematic review. *Gut* **67**, 2056–2067 (2018).
 116. Y., Y. *et al.* Immune-related colitis induced by the long-term use of nivolumab in a

- patient with non-small cell lung cancer. *Intern. Med.* **57**, 1269–1272 (2018).
117. Chen, J. H., Pezhouh, M. K., Lauwers, G. Y. & Masia, R. Histopathologic features of colitis due to immunotherapy With Anti-PD-1 antibodies. *Am. J. Surg. Pathol.* **41**, 643–654 (2017).
 118. Tan, B. *et al.* Recognition and management of the gastrointestinal and hepatic immune-related adverse events. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology* (2020) doi:10.1111/ajco.13317.
 119. Geukes Foppen, M. H. *et al.* Immune checkpoint inhibition-related colitis: Symptoms, endoscopic features, histology and response to management. *ESMO Open* vol. 3 (2018).
 120. Alcantar, D. C., Al-Jaashaami, L. & Giron, F. A Case of Immune Checkpoint Inhibitor Refractory Colitis Treated with Mycophenolate and High-dose Steroids. *Cureus* **11**, e6392 (2019).
 121. Effets secondaires digestifs et hépatiques des inhibiteurs du checkpoint immunitaire (Immune checkpoint inhibitors : anti-CTLA-4 et anti-PD-1/PD-L1) : aspects anatomocliniques - EM|consulte. <https://www.em-consulte.com/en/article/1259801>.
 122. Zhu, A. X. *et al.* Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **19**, 940–952 (2018).
 123. Zen, Y. & Yeh, M. M. Checkpoint inhibitor-induced liver injury: A novel form of liver disease emerging in the era of cancer immunotherapy. *Seminars in Diagnostic Pathology* vol. 36 434–440 (2019).
 124. Reynolds, K., Thomas, M. & Dougan, M. Diagnosis and Management of Hepatitis in Patients on Checkpoint Blockade. *Oncologist* **23**, 991–997 (2018).
 125. Zen, Y. & Yeh, M. M. Hepatotoxicity of immune checkpoint inhibitors: A histology study of seven cases in comparison with autoimmune hepatitis and idiosyncratic drug-induced liver injury. *Mod. Pathol.* **31**, 965–973 (2018).

126. Reddy, H. G., Schneider, B. J. & Tai, A. W. Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Colitis and Hepatitis. *Clinical and Translational Gastroenterology* vol. 9 (2018).
127. Wang, Z.-H. & Shen, L. Management of gastrointestinal adverse events induced by immune-checkpoint inhibitors. *Chronic Dis. Transl. Med.* **4**, 1–7 (2018).
128. Nishimura, Y. *et al.* Severe Gastritis after Administration of Nivolumab and Ipilimumab. *Case Rep. Oncol.* **11**, 549–556 (2018).
129. Kohlmann, J., Wagenknecht, D., Simon, J. C. & Ziemer, M. Immune-related pancreatitis associated with checkpoint blockade in melanoma. *Melanoma Res.* **29**, 549–552 (2019).
130. Hsu, C., Marshall, J. L. & He, A. R. Workup and Management of Immune-Mediated Hepatobiliary Pancreatic Toxicities That Develop During Immune Checkpoint Inhibitor Treatment. *Oncologist* **25**, 105–111 (2020).
131. Abdel-Wahab, N. & Suarez-Almazor, M. E. Frequency and distribution of various rheumatic disorders associated with checkpoint inhibitor therapy. *Rheumatology (Oxford)*. **58**, vii40–vii48 (2019).
132. K., B.-B. B. *et al.* Characterization of arthralgia induced by PD-1 antibody treatment in patients with metastasized cutaneous malignancies. *Cancer Immunol. Immunother.* **67**, 175–182 (2018).
133. Elosua-González, M. *et al.* A case of de novo palmoplantar psoriasis with psoriatic arthritis and autoimmune hypothyroidism after receiving nivolumab therapy. *Dermatol. Online J.* **23**, (2017).
134. Ruiz-Bañobre, J. *et al.* Development of psoriatic arthritis during nivolumab therapy for metastatic non-small cell lung cancer, clinical outcome analysis and review of the literature. *Lung Cancer* **108**, 217–221 (2017).
135. Vermeulen, L. *et al.* Myositis as a neuromuscular complication of immune checkpoint inhibitors. *Acta Neurol. Belg.* (2020) doi:10.1007/s13760-020-01282-w.
136. Topalian, S. L. *et al.* Survival, durable tumor remission, and long-term safety in

- patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J. Clin. Oncol.* **32**, 1020–1030 (2014).
137. Cappelli, L. C. *et al.* Inflammatory arthritis and sicca syndrome induced by nivolumab and ipilimumab. *Ann. Rheum. Dis.* **76**, 43–50 (2017).
 138. Jennette, J. C. Overview of the 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference nomenclature of vasculitides. *Clinical and Experimental Nephrology* vol. 17 603–606 (2013).
 139. Daxini, A., Cronin, K. & Sreih, A. G. Vasculitis associated with immune checkpoint inhibitors—a systematic review. *Clinical Rheumatology* vol. 37 2579–2584 (2018).
 140. Gupta, A., Shah, U., Khine, H., Vandergriff, T. & Froehlich, T. Antiphospholipid syndrome associated with combined immune checkpoint inhibitor therapy. *Melanoma Research* vol. 27 171–173 (2017).
 141. Tjarks, B. J., Kerkvliet, A. M., Jassim, A. D. & Bleeker, J. S. Scleroderma-like skin changes induced by checkpoint inhibitor therapy. *J. Cutan. Pathol.* **45**, 615–618 (2018).
 142. Chan, K. K. *et al.* Eosinophilic Fasciitis Following Checkpoint Inhibitor Therapy: Four Cases and a Review of Literature. *Oncologist* **25**, 140–149 (2020).
 143. Rischin, A., Brady, B., McLean, C. & Ostor, A. J. K. Immune checkpoint inhibitor-induced lymphocytic fasciitis. *Internal Medicine Journal* vol. 48 1550–1552 (2018).
 144. Cappelli, L. C., Shah, A. A. & Bingham, C. O. Immune-Related Adverse Effects of Cancer Immunotherapy— Implications for Rheumatology. *Rheumatic Disease Clinics of North America* vol. 43 65–78 (2017).
 145. Cooper, L. T. Myocarditis. *New England Journal of Medicine* vol. 360 1526–1538 (2009).
 146. Asnani, A. Cardiotoxicity of Immunotherapy: Incidence, Diagnosis, and Management. *Current Oncology Reports* vol. 20 44 (2018).

147. Guo, X. *et al.* Clinical manifestation and management of immune checkpoint inhibitor-associated cardiotoxicity. *Thorac. Cancer* **11**, 475–480 (2020).
148. Tajiri, K., Aonuma, K. & Sekine, I. Immune checkpoint inhibitor-related myocarditis. *Jpn. J. Clin. Oncol.* **48**, 7–12 (2018).
149. Mahmood, S. S. *et al.* Myocarditis in Patients Treated With Immune Checkpoint Inhibitors. *J. Am. Coll. Cardiol.* **71**, 1755–1764 (2018).
150. Ganatra, S. & Neilan, T. G. Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Myocarditis. *Oncologist* **23**, 879–886 (2018).
151. Agrawal, N. *et al.* Cardiac Toxicity Associated with Immune Checkpoint Inhibitors: Case Series and Review of the Literature. *Case Reports in Oncology* vol. 12 260–276 (2019).
152. Tay, R. Y. *et al.* Successful use of equine anti-thymocyte globulin (ATGAM) for fulminant myocarditis secondary to nivolumab therapy. *Br. J. Cancer* **117**, 921–924 (2017).
153. Shaheen, S., Mirshahidi, H., Nagaraj, G. & Hsueh, C. T. Conservative management of nivolumab-induced pericardial effusion: A case report and review of literature. *Exp. Hematol. Oncol.* **7**, 11 (2018).
154. Kushnir, I. & Wolf, I. Nivolumab-Induced Pericardial Tamponade: A Case Report and Discussion. *Cardiol.* **136**, 49–51 (2016).
155. De Almeida, D. V. P., Gomes, J. R., Haddad, F. J. & Buzaid, A. C. Immune-mediated Pericarditis with Pericardial Tamponade during Nivolumab Therapy. *J. Immunother.* **41**, 329–331 (2018).
156. Yun, S., Vincelette, N. D., Mansour, I., Hariri, D. & Motamed, S. Late onset ipilimumab-induced pericarditis and pericardial effusion: a rare but life threatening complication. *Case Rep. Oncol. Med.* **2015**, 794842 (2015).
157. Khan, A., Riaz, S., Carhart, R. & Jr. Pembrolizumab-Induced Mobitz Type 2 Second-Degree Atrioventricular Block. *Case Reports Cardiol.* **2020**, (2020).

158. Behling, J., Kaes, J., Münzel, T., Grabbe, S. & Loquai, C. New-onset third-degree atrioventricular block because of autoimmune-induced myositis under treatment with anti-programmed cell death-1 (nivolumab) for metastatic melanoma. *Melanoma Res.* **27**, 155–158 (2017).
159. Astaras, C., de Micheli, R., Moura, B., Hundsberger, T. & Hottinger, A. F. Neurological Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Inhibitors: Diagnosis and Management. *Current Neurology and Neuroscience Reports* vol. 18 3 (2018).
160. Salam, S., Lavin, T. & Turan, A. Limbic encephalitis following immunotherapy against metastatic malignant melanoma. *BMJ Case Rep.* **2016**, (2016).
161. Zurko, J. & Mehta, A. Association of Immune-Mediated Cerebellitis With Immune Checkpoint Inhibitor Therapy. *Mayo Clin. Proc. Innov. Qual. Outcomes* **2**, 74–77 (2018).
162. Vitt, J. R. *et al.* Autoimmune pancerebellitis associated with pembrolizumab therapy. *Neurology* **91**, 91–93 (2018).
163. Conry, R. M., Sullivan, J. C. & Nabors, L. B. Ipilimumab-induced encephalopathy with a reversible splenial lesion. *Cancer Immunol. Res.* **3**, 598–601 (2015).
164. Pan, P. C. way & Haggiagi, A. Neurologic Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Inhibition. *Current Oncology Reports* vol. 21 (2019).
165. Cao, Y. *et al.* CNS demyelination and enhanced myelin-reactive responses after ipilimumab treatment. *Neurology* vol. 86 1553–1556 (2016).
166. Läubli, H. *et al.* Cerebral vasculitis mimicking intracranial metastatic progression of lung cancer during PD-1 blockade. *J. Immunother. Cancer* **5**, 46 (2017).
167. Dunn-Pirio, A. M., Shah, S. & Eckstein, C. Neurosarcoidosis following Immune Checkpoint Inhibition. *Case Rep. Oncol.* **11**, 521–526 (2018).
168. Safa, H. *et al.* Immune checkpoint inhibitor related myasthenia gravis: Single center

- experience and systematic review of the literature. *J. Immunother. Cancer* **7**, 319 (2019).
169. Gu, Y., Menzies, A. M., Long, G. V., Fernando, S. L. & Herkes, G. Immune mediated neuropathy following checkpoint immunotherapy. *Journal of Clinical Neuroscience* vol. 45 14–17 (2017).
170. Sury, K., Perazella, M. A. & Shirali, A. C. Cardiorenal complications of immune checkpoint inhibitors. *Nature Reviews Nephrology* vol. 14 571–588 (2018).
171. Shingarev, R. & Glezerman, I. G. Kidney Complications of Immune Checkpoint Inhibitors: A Review. *American Journal of Kidney Diseases* vol. 74 529–537 (2019).
172. Shimatani, K. *et al.* Two cases of nonbacterial cystitis associated with nivolumab, the anti-programmed-death-receptor-1 inhibitor. *Urol. Case Reports* **17**, 97–99 (2018).
173. Delanoy, N. *et al.* Haematological immune-related adverse events induced by anti-PD-1 or anti-PD-L1 immunotherapy: a descriptive observational study. *Lancet Haematol.* **6**, e48–e57 (2019).
174. Zhuang, J. *et al.* Clinical diagnosis and treatment recommendations for immune checkpoint inhibitor-related hematological adverse events. *Thorac. Cancer* **11**, 799–804 (2020).
175. Antoun, J., Titah, C. & Cochereau, I. Ocular and orbital side-effects of checkpoint inhibitors: A review article. *Current Opinion in Oncology* vol. 28 288–294 (2016).
176. Bricout, M. *et al.* Vogt-Koyanagi-Harada-like Syndrome Complicating Pembrolizumab Treatment for Metastatic Melanoma. *J. Immunother.* **40**, 77–82 (2017).
177. Obata, S., Saishin, Y., Teramura, K. & Ohji, M. Vogt-Koyanagi-Harada Disease-Like Uveitis during Nivolumab (Anti-PD-1 Antibody) Treatment for Metastatic Cutaneous Malignant Melanoma. *Case Rep. Ophthalmol.* **10**, 67–74 (2019).
178. Parker, J. S., Feagin, W., Wang, C., Heersink, M. & Parker, J. S. Corneal ulceration associated with Nivolumab use. *Am. J. Ophthalmol. Case Reports* **14**, 26–27 (2019).

179. Nguyen, A. T., Elia, M., Materin, M. A., Sznol, M. & Chow, J. Cyclosporine for dry eye associated with nivolumab: A case progressing to corneal perforation. *Cornea* **35**, 399–401 (2016).
180. Acaba-Berrocal, L. A. *et al.* Birdshot-like Chorioretinopathy Associated with Pembrolizumab Treatment. *JAMA Ophthalmology* vol. 136 1205–1207 (2018).
181. Woldrich, J. M., Mallin, K., Ritchey, J., Carroll, P. R. & Kane, C. J. Sex Differences in Renal Cell Cancer Presentation and Survival: An Analysis of the National Cancer Database, 1993-2004. *J. Urol.* **179**, 1709–1713 (2008).
182. Donington, J. S. & Colson, Y. L. Sex and Gender Differences in Non-Small Cell Lung Cancer. *Semin. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **23**, 137–145 (2011).
183. Ma, Y. & Li, M. D. Establishment of a strong link between smoking and cancer pathogenesis through DNA methylation analysis. *Sci. Rep.* **7**, 1–13 (2017).
184. De Pergola, G. & Silvestris, F. Obesity as a major risk factor for cancer. *J. Obes.* **2013**, 291546 (2013).
185. Wang, P. F. *et al.* Immune-related adverse events associated with anti-PD-1/PD-L1 treatment for malignancies: A meta-analysis. *Front. Pharmacol.* **8**, (2017).
186. Sosa, A., Lopez Cadena, E., Simon Olive, C., Karachaliou, N. & Rosell, R. Clinical assessment of immune-related adverse events. *Therapeutic Advances in Medical Oncology* vol. 10 (2018).
187. Disis, M. L. Underlying autoimmune disease is not a contraindication to the use of ipilimumab. *JAMA Oncology* vol. 2 241 (2016).
188. Petrelli, F. *et al.* Immune-related Adverse Events and Survival in Solid Tumors Treated with Immune Checkpoint Inhibitors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Immunotherapy* vol. 43 1–7 (2020).
189. Cortellini, A. *et al.* Correlations Between the Immune-related Adverse Events Spectrum and Efficacy of Anti-PD1 Immunotherapy in NSCLC Patients. *Clin. Lung Cancer* **20**, 237-247.e1 (2019).

190. Rogado, J. *et al.* Immune-related adverse events predict the therapeutic efficacy of anti-PD-1 antibodies in cancer patients. *Eur. J. Cancer* **109**, 21–27 (2019).