

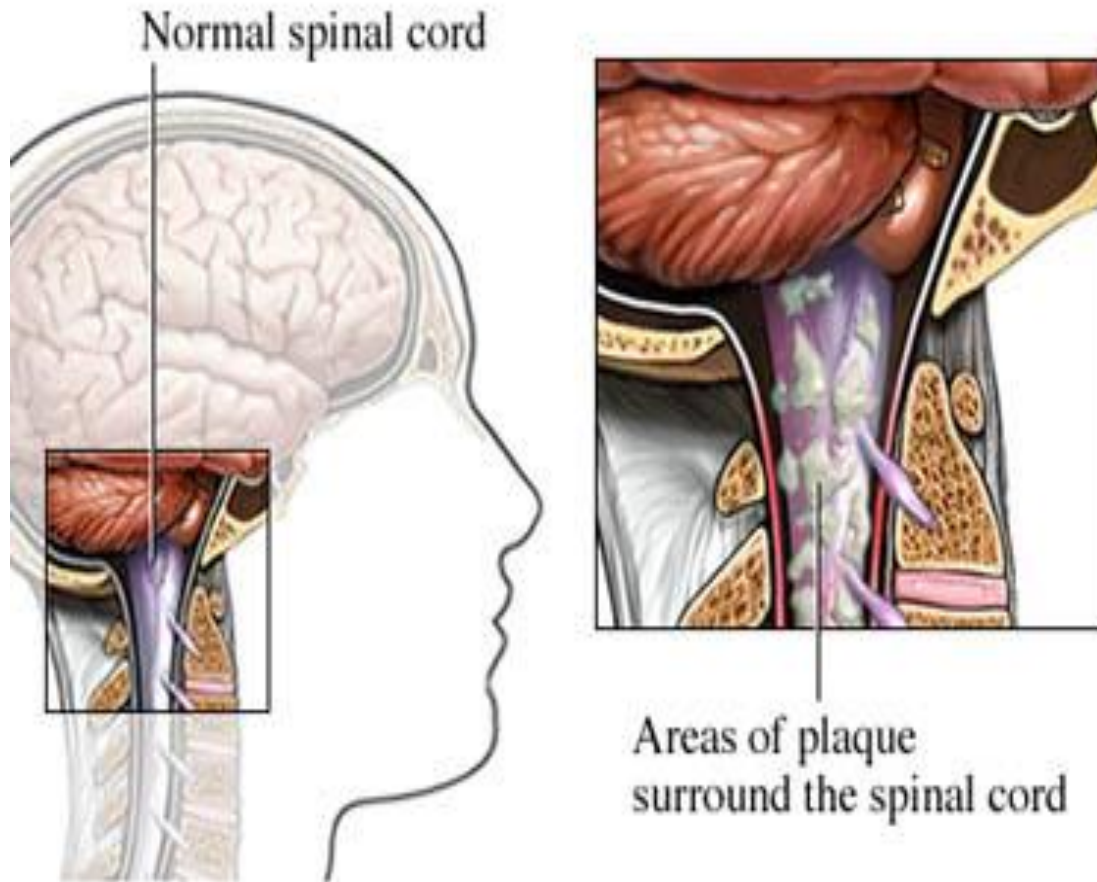
CTF

Corso Farmaci Biologici

Farmaci Biologici
per il Sistema Nervoso Centrale

Sclerosi multipla

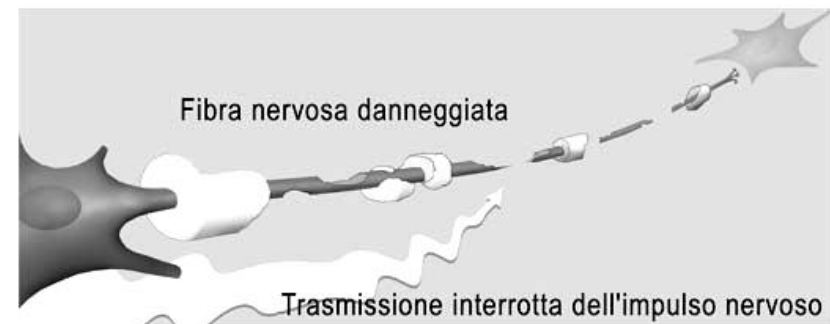
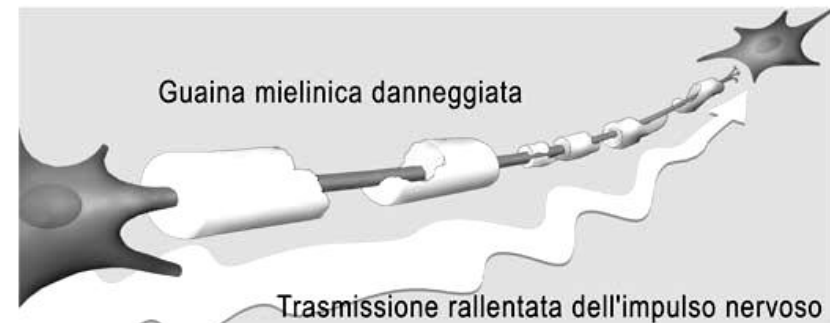
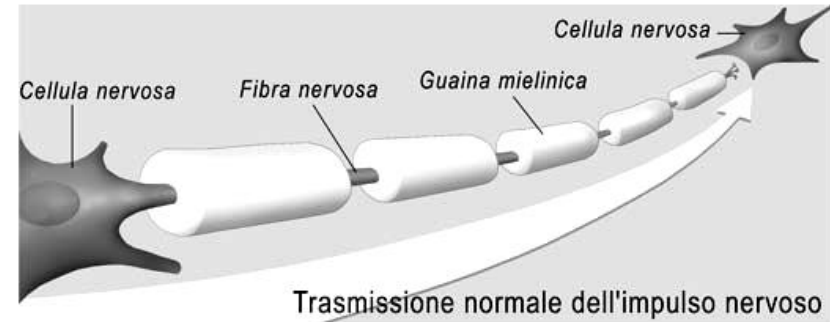
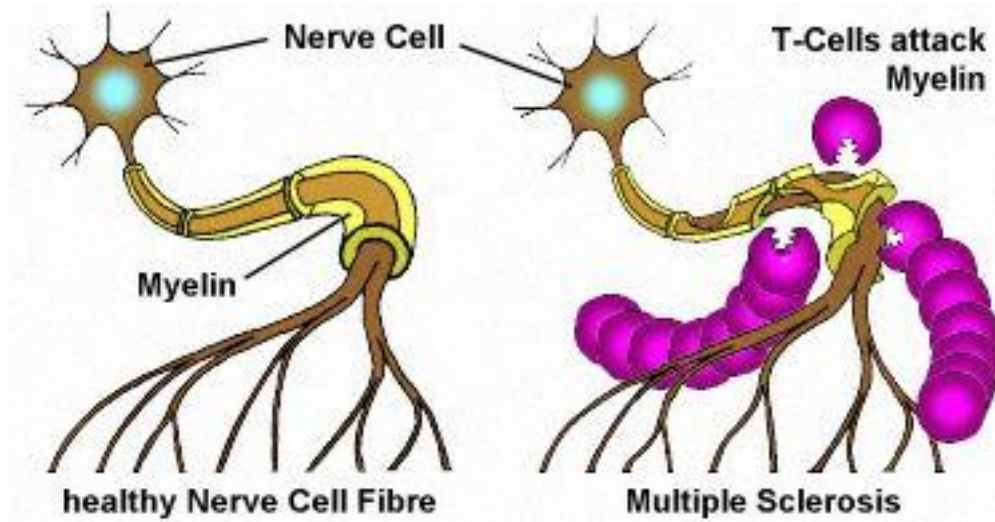
Lesione tipica è la **Placca**:
Area di demielinizzazione nella sostanza
bianca del SNC



Aree di lesione:

- Ventricoli laterali
- Pavimento acquedotto
- IV ventricolo
- Midollo spinale
- Nervi ottici
- Corpo calloso
- Tronco cerebrale
- Colonne dorsali
- Regioni subpiali
- Solco anteriore

Risultato Neurofisiologico



Si ha **alterazione della conduzione** nelle fibre mieliniche del SNC



Eziologia

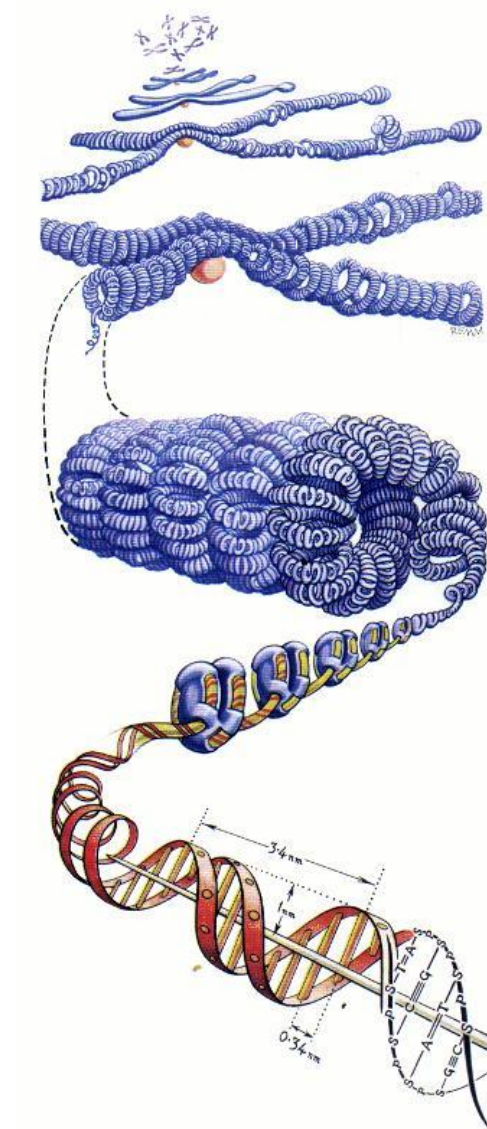
I meccanismi patogeni responsabili della demielinizzazione e del decorso clinico sono tuttora sconosciuti, ma è probabile che la SM sia una patologia causata da un fattore ambientale contratto da individui geneticamente suscettibili

Fattore ambientale:

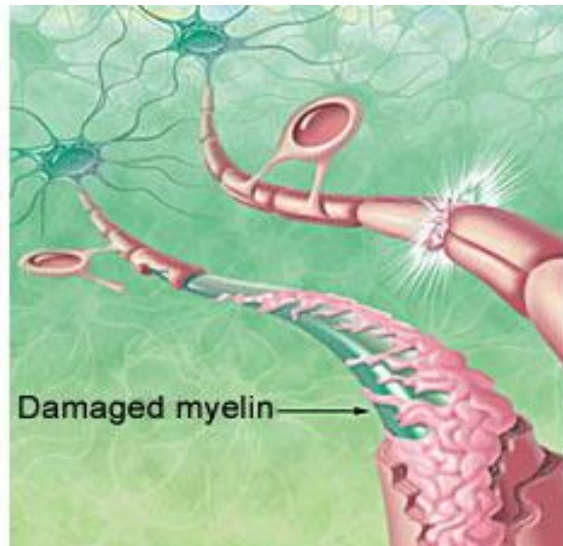
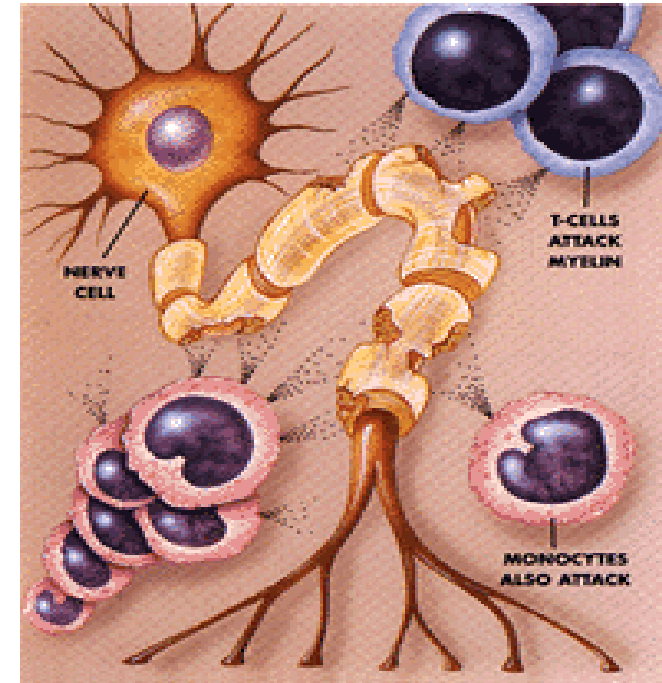
- HHV-5 o CMV
- HHV-6
- EBV
- VZV
- PV-B19

Fattore genetico:

- cromosoma 3
- cromosoma 5
- cromosoma 16
- cromosoma 19
- **cromosoma 6**

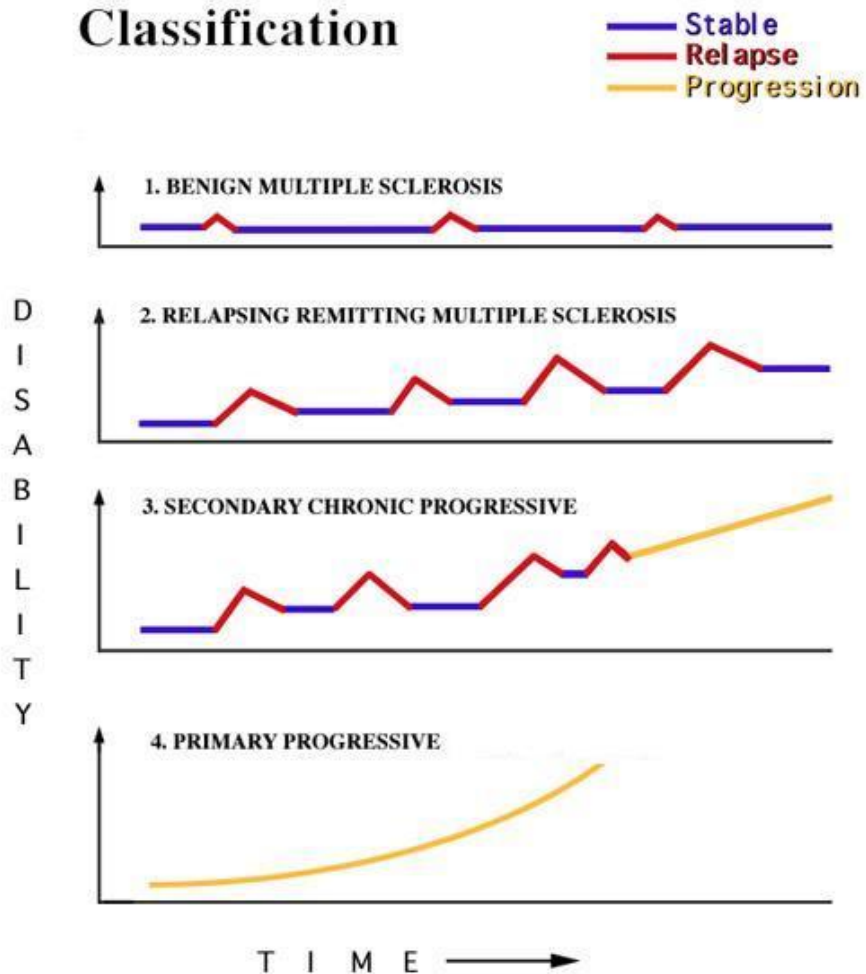


- l'evento infiammatorio iniziale è a carico dei linfociti T CD8⁺ e dei macrofagi
- in un secondo momento i linfociti T CD4⁺ attraversano la BEE rilasciando citochine proinfiammatorie e attaccando le PLP, le MOG e le MBP proteina proteolipidica (PLP), glicoproteina associata alla mielina oligodendrocitari a (MOG, proteina basica della mielina (MBP)



Il risultato finale è demielinizzazione, morte degli oligodendrociti, danno assonale, gliosi e neurodegenerazione

Classificazione



BENIGNA: clinicamente o radiologicamente isolata poche fasi acute seguite da recupero completo e non peggiora col tempo

S M **Recidivante Remittente:** ogni riacutizzazione è seguita da remissione parziale o totale

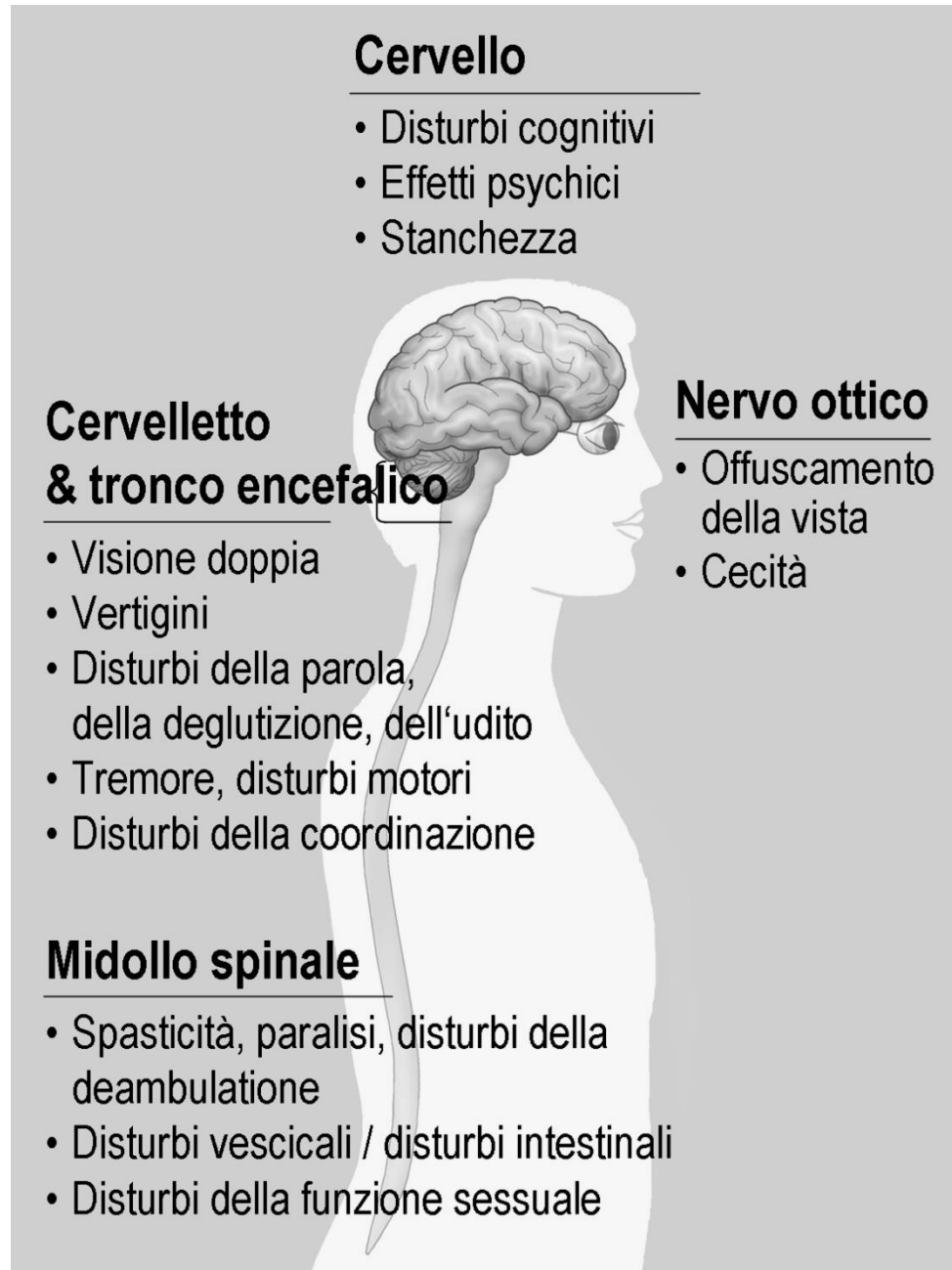
S M **Secondariamente Progressiva:** continua progressione del deficit neurologico

S M **Primariamente Progressiva:** esordio lento e costante peggioramento del deficit e dei sintomi

Sintomi

I sintomi d'esordio sono: diplopia e perdita di forza agli arti inferiori

Nel corso dell'evoluzione della patologia, le lesioni della via motoria, isolata o associata ad altri sintomi, contribuisce a produrre l'invalidità permanente



Approcci terapeutici

Acuto



steroidi :

- GLUCOCORTICOIDI

Cronico



immunosoppressori:

- METOTREXATE
- CICLOFOSFAMIDE
- AZATIOPRINA
- MITOXANTRONE,

immunomodulanti:

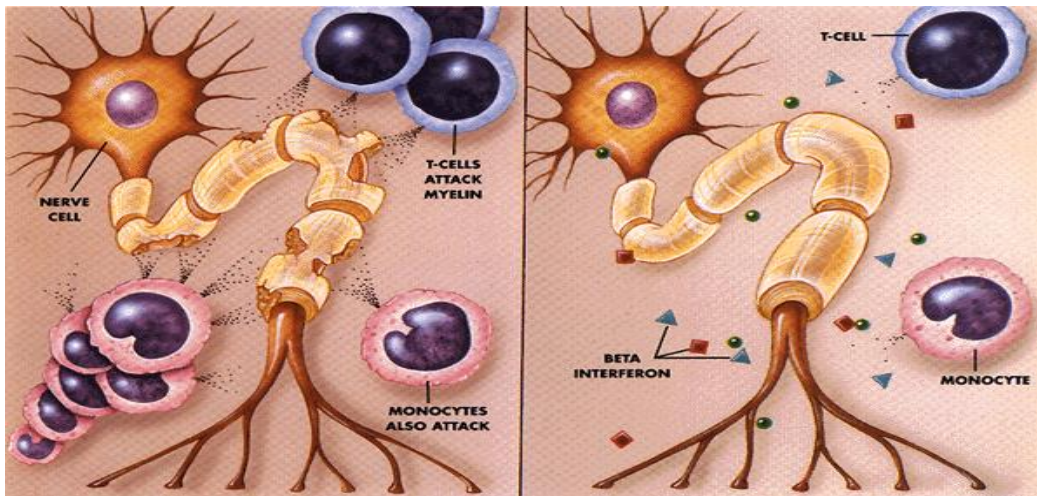
- INF- β
- GLATIRAMER ACETATO
- Ig

Recentemente i farmaci sono stati suddivisi come:

Small molecules: fingolimod, mitoxantrone, dimetilfumarato

Biotechologici: Interferone- β e anticorpi monoclonali

Un **polipeptide** sintetico : **Glatiramer** acetato (Copaxone)



Terapia sintomatica

La terapia sintomatica è la terapia rivolta a trattare in maniera specifica i sintomi cronici tipici della patologia senza incidere sul suo decorso

Trattamento farmacologico:

- Amantidina
- Baclofen
- Diazepam
- Fluoxetina

Trattamento non farmacologico:

- Fisioterapia
- Dieta bilanciata
- riposo

Interferone- β

Gli **interferoni** sono una famiglia di proteine naturali indotte dalle cellule in risposta a stimoli biologici e chimici. (mediante numerose risposte cellulari classificate come **antivirali, antiproliferative e immunomodulanti**).
L'interferone β 1b è stato il primo farmaco biotecnologico utilizzato per la terapia della sclerosi multipla, seguito poi dalla commercializzazione dell'interferone β 1a.

Sono stati proposti **diversi meccanismi d'azione alla base della sua attività terapeutica in pazienti affetti da sclerosi**, tra cui modulazione dell'attività autoimmune dei linfociti e riduzione del passaggio dei linfociti attraverso la BEE, anche associato a un'azione di mantenimento dell'integrità della barriera.

Gli effetti biologici comprendono un **aumento di citochine antinfiammatorie** e la **riduzione di citochine proinfiammatorie**.

Il farmaco si lega al recettore dell'interferone di tipo I sulla superficie delle cellule e provoca una cascata di eventi intracellulari che portano alla regolazione dell'espressione dei geni responsivi all'interferone.

Gli interferoni riducono la frequenza degli attacchi acuti nella sclerosi multipla recidivante-remittente e rallentano la progressione della malattia nella forma secondariamente progressiva.

Gli **effetti collaterali** più comuni sono rappresentati da una sindrome simil-influenzale e reazioni a livello del sito d'iniezione.

Il **peginterferone β 1a** è una forma modificata di interferone, caratterizzata da una lunga durata d'azione e indicata per il trattamento di persone con diagnosi di sclerosi multipla recidivante-remittente; è stato sviluppato con lo scopo di prolungare l'emivita delle formulazioni di interferone.

In particolare, il peginterferone β 1a è un coniugato covalente dell'interferone 1a, il quale viene unito al metossi-polietilenglicole (PEG) mediante un linker di O-2-metilpropionaldeide. Con questo farmaco la durata della risposta biologica è sostenuta e prolungata, con aumenti rilevati per un massimo di 15 giorni, rispetto a 4 giorni per l'interferone non peghilato.

Le reazioni avverse più comuni sono: eritema nel sito d'iniezione, malattia simil-influenzale, piressia, cefalea, mialgia, astenia, prurito nel sito d'iniezione e artralgia.

La reazione avversa con interruzione della terapia più comunemente riferita rimane la malattia simil-influenzale (< 1%).

Tabella 23.1 Dosaggi, frequenza e modalità di somministrazione dei principali farmaci biotecnologici utilizzati nel trattamento della sclerosi multipla.

Nome del farmaco	Dosaggio	Frequenza di somministrazione	Modalità di somministrazione
Interferone β 1a	30 μ g	Ogni settimana	Iniezione intramuscolare
Peginterferone β 1a	125 μ g	Ogni 2 settimane	Iniezione sottocutanea
Interferone β 1b	250 μ g	A giorni alterni	Iniezione sottocutanea

Il **glatiramer acetato (Copaxone)** è un polipeptide sintetico contenente quattro aminoacidi presenti in natura (acido L-glutammico, L-lisina, L-alanina e L-tirosina), simile alla proteina basica della mielina. Il suo esatto meccanismo d'azione nella SM è sconosciuto, ma si ritiene che il glatiramer possa agire attraverso l'induzione di **T-helper che, a loro volta, interagiscono con il tessuto neuronale danneggiato, promuovendo così il rilascio di citochine antinfiammatorie.**

Anticorpi monoclonali nella SM

- Natalizumab
- Alemtuzumab
- Daclizumab (*approvato nel 2016, poi ritirato nel 2018*)
- Ocrelizumab

Natalizumab

anticorpo monoclonale umanizzato in grado di legare la catena alfa4 dell'integrina, una molecola di adesione che permette ai linfociti di legare le cellule endoteliali e passare la BEE.

In particolare, il natalizumab si lega all'integrina $\alpha 4\beta 1$, bloccando così l'interazione con il suo recettore, VCAM1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, Figura 23,1), e con i ligandi osteopontina e CS1 (Connecting Segment 1), un dominio di splicing alternativo della fibronectina.

Inoltre il natalizumab blocca l'interazione della integrina alfa4beta7 con MadCAM1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion molecule-1).

L'alterazione di tali interazioni molecolari impedisce, quindi, la migrazione dei leucociti attraverso l'endotelio fino al tessuto parenchimale infiammato.

Inoltre, il natalizumab può sopprimere le reazioni infiammatorie inibendo nei leucociti che esprimono l'integrina $\alpha 4\beta 1$ l'interazione della catena $\alpha 4$ con i loro ligandi nella matrice extracellulare e sulle cellule del parenchima. In tal modo il natalizumab può sopprimere l'attività infiammatoria presente nell'area colpita dalla malattia e inibire un'ulteriore migrazione nei tessuti infiammati di cellule del sistema immunitario.

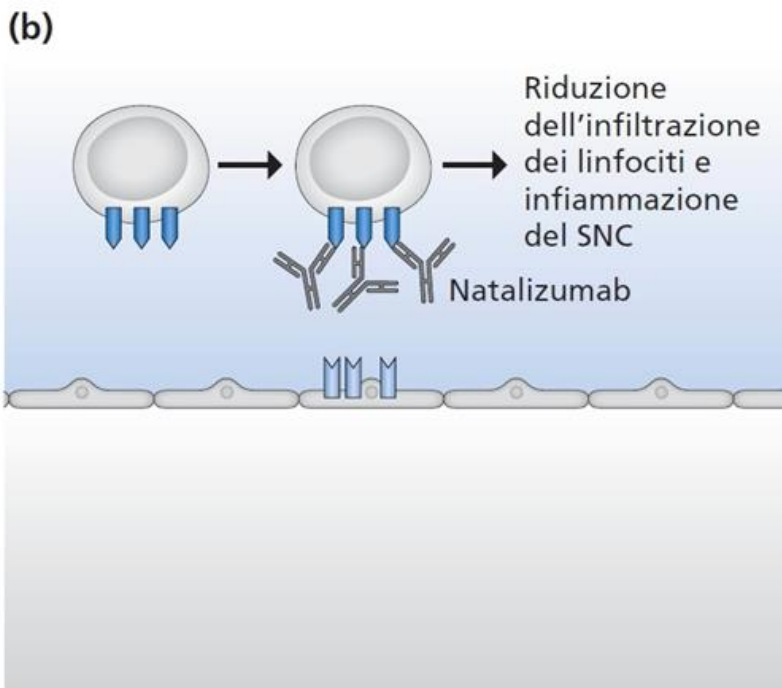
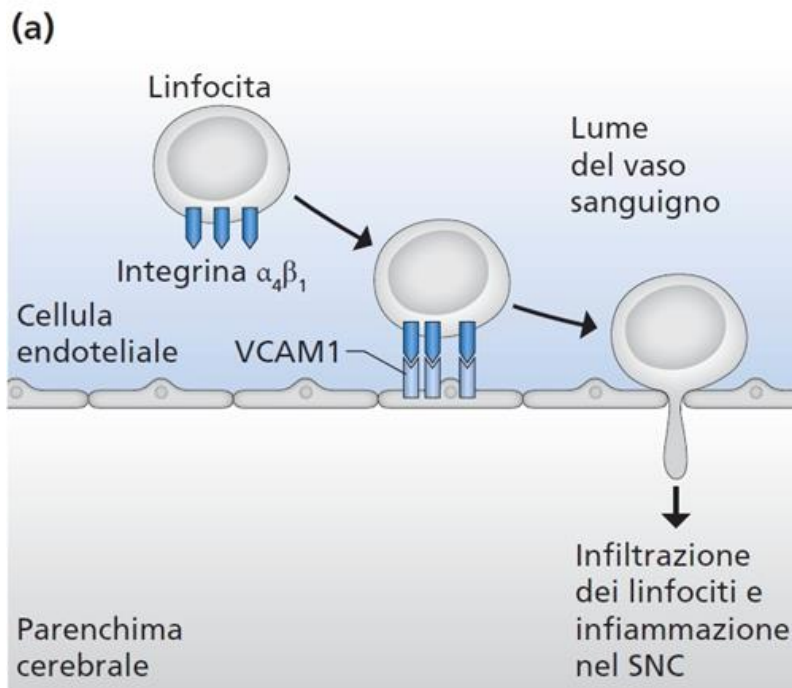


Figura 23.1 (a) I linfociti aderiscono alle cellule endoteliali mediante l'interazione dell'integrina $\alpha_4\beta_1$ con il recettore VCAM1. (b) Il natalizumab lega la catena α_4 dell'integrina $\alpha_4\beta_1$ impedendo l'interazione di quest'ultima con il suo recettore; di conseguenza, i linfociti non aderiscono alle cellule endoteliali. (Fonte: modificata da Steinman L. 2015. No quiet surrender: molecular guardians in multiple sclerosis brain. *J Clin Invest.* 125(4):1371-8).

L'utilizzo del **natalizumab** è indicato come monoterapia in pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente a elevata attività nonostante un ciclo terapeutico completo e adeguato con almeno una terapia disease-modifying, oppure in pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente grave a evoluzione rapida.

Il natalizumab deve essere somministrato attraverso un'infusione e.v. (300 mg) una volta ogni 4 settimane

L'uso del natalizumab è stato associato a un aumentato rischio di **leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML)**, un'infezione opportunistica causata dal virus di John Cunningham (JCV), che può risultare fatale o provocare grave disabilità. A causa di questo aumentato rischio di sviluppare PML, è necessaria un'attenta valutazione dei rischi e dei benefici del natalizumab su base individuale.

Alla luce di questo è stato sospeso dall'impiego clinico per alcuni mesi, poi il farmaco è stato nuovamente introdotto nell'uso clinico con la raccomandazione di adottare specifici approcci per quantificare il rischio di sviluppo di PML.

Il natalizumab è stato il primo dei farmaci a disposizione per la sclerosi multipla a provocare PML.

Alemtuzumab

Alemtuzumab è indicato per i pazienti adulti con sclerosi multipla recidivante-remittente; è un anticorpo monoclonale umanizzato che ha come bersaglio la glicoproteina CD52 di superficie, presente in alte concentrazioni sui linfociti T CD3+ e B CD19+ e, in concentrazioni più basse, su cellule natural killer, monociti e macrofagi.

Il legame con l'antigene sui linfociti T e B induce citolisi anticorpo-dipendente, lisi mediata da complemento e apoptosi per azione diretta.

Anche se l'effetto terapeutico dell'alemtuzumab non è stato completamente chiarito, sembra associato a un'azione neuromodulatoria mediata da deplezione e ripopolamento dei linfociti.

Gli effetti immunomodulatori indotti dall'alemtuzumab includono una variazione del numero e delle proprietà di alcuni sottogruppi di linfociti, un'aumentata presenza di sottogruppi di cellule T regolatorie e un'aumentata presenza di linfociti T e B di memoria.

La dose raccomandata è 12 mg/die, somministrata mediante infusione endovenosa per 2 cicli iniziali di trattamento a distanza di 12 mesi, e fino a 2 cicli aggiuntivi di trattamento in base alle necessità.

Il trattamento con **alemtuzumab** può determinare la formazione di autoanticorpi e un aumento del rischio di malattie autoimmuni, comprese la porpora trombocitopenica idiopatica, disturbi della tiroide o, più raramente, nefropatie. L'alemtuzumab può anche determinare la comparsa di infezioni quali gastroenterite, polmonite, herpes zoster e infezione dentaria.

DACLIZUMAB

- Il **daclizumab** è un **mAb** umanizzato in grado di legare selettivamente e ad alta affinità la subunità **CD25** del recettore dell'interleuchina 2.
- La subunità CD25 è espressa ad alti livelli sui linfociti T attivati nei soggetti con sclerosi multipla. Il farmaco è stato approvato nel 2016 per il trattamento di seconda linea della sclerosi multipla nelle forme recidivanti-remittenti.
- Il **daclizumab** è stato però ritirato dal commercio nel marzo 2018 dopo che l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) aveva avviato una rivalutazione urgente del medicinale in seguito a 7 casi di gravi disturbi infiammatori a livello cerebrale avvenuti in Germania, tra cui encefalite e meningoencefalite, e a 1 caso avvenuto in Spagna.

Ocrelizumab

L'ocrelizumab è un **mAb** umanizzato anti CD20, originariamente sviluppato per la terapia dei linfomi non-Hodgkin. In particolare, **l'ocrelizumab è in grado di legare selettivamente un tipo specifico di cellule immunitarie, i linfociti B CD20+.**

Anche se i meccanismi specifici responsabili degli effetti clinici dell'ocrelizumab **non sono del tutto chiari**, è possibile ipotizzare che giochi un ruolo fondamentale **l'immunomodulazione attraverso la riduzione del numero e della funzione delle cellule B che esprimono il CD20.**

In particolare, **l'ocrelizumab induce una deplezione selettiva delle cellule B CD20+ mediante fagocitosi cellulare mediata da anticorpo, citotossicità dipendente da anticorpo e mediata da cellula, citotossicità dipendente dal complemento e apoptosi.** Risultano preservate sia la capacità di ricostituzione delle cellule B sia l'immunità umorale preesistente. Inoltre, l'immunità innata e la conta totale delle cellule T non sono interessate dal trattamento con ocrelizumab.

All'inizio del 2018, l'EMA ha autorizzato l'uso dell'ocrelizumab per la sclerosi multipla recidivante e per la forma primariamente progressiva, grazie ai risultati ottenuti in tre studi clinici di fase 3.

Il farmaco viene somministrato mediante due diverse infusioni endovenose (300 mg) a 2 settimane di distanza (Tabella 23.1). Le dosi successive devono essere poi somministrate ogni 6 mesi (600 mg).

Tra gli effetti collaterali più riportati vi sono reazioni e infezioni dovute all'infusione (prurito, eruzioni cutanee, difficoltà respiratorie).

Tabella 23.1 Dosaggi, frequenza e modalità di somministrazione dei principali farmaci biotecnologici utilizzati nel trattamento della sclerosi multipla.

Nome del farmaco	Dosaggio	Frequenza di somministrazione	Modalità di somministrazione
Natalizumab	300 mg	Ogni 4 settimane	Infusione endovenosa
Alemtuzumab	12 mg	5 giorni consecutivi (primo ciclo) 3 giorni consecutivi (secondo ciclo, dopo 12 mesi)	Infusione endovenosa
Ocrelizumab	600 mg	2 iniezioni (300 mg) a 14 giorni di distanza (primo ciclo), <i>poi</i> 1 iniezione (600 mg) ogni 6 mesi	Infusione endovenosa

EMICRANIA

L'emicrania è una patologia del SNC, indicata dall'OMS come una delle sei malattie maggiormente disabilitanti. Inizia durante la pubertà, colpisce principalmente le persone tra i 35 e i 45 anni ed è più frequente nelle donne (3X).

È caratterizzata da attacchi unilaterali di dolore pulsante alla testa che peggiorano con il movimento e che sono spesso accompagnati da nausea e aumentata sensibilità visiva e uditiva.

Durante l'attacco di emicrania si possono osservare 4 fasi, non sempre presenti in tutti i soggetti:

la **fase prodromica**, la **fase dell'aura**, la **fase algica** e la **fase di recupero**.

Fino a 72 ore prima della fase algica si può osservare, nel 50% dei casi, la fase prodromica caratterizzata da sintomi generici, come cambiamenti di umore, irritabilità, stanchezza, rigidità del collo, che possono permanere per tutta la durata dell'attacco. La fase dell'aura, presente nella cosiddetta emicrania con aura, è caratterizzata da sintomi neurologici transienti e reversibili, che possono essere visivi, sensitivi o che colpiscono il linguaggio. L'emicrania con aura è la forma meno frequente e colpisce un paziente su tre.

Durante la fase algica, che può durare dalle 4 alle 72 ore, il dolore pulsante, di moderata o forte intensità, si irradia dalla zona periorbitale o frontotemporale ed è accompagnato da nausea, fotofobia e fonofobia.

I sintomi della fase di recupero sono stanchezza, difficoltà di concentrazione e poliuria.

- La patogenesi è complessa e multifattoriale e diversi fattori psicologici e ambientali possono indurre un attacco di emicrania. Inizialmente è stata considerata una patologia di origine **vascolare**, in cui il dolore era secondario alla vasodilatazione. In seguito, è stato osservato che la vasodilatazione non era la causa del dolore ma la conseguenza di un'attivazione neurogenica.
- Studi più recenti hanno dimostrato un'attivazione alterata del sistema nocicettivo trigemino-vascolare, influenzata dalla predisposizione genetica e da fattori ambientali.
- Questo meccanismo coinvolge il peptide correlato al gene della calcitonina (Calcitonin Gene Related Peptide CGRP). La diagnosi di emicrania è basata su criteri contenuti nella vigente classificazione internazionale e fondata su dati clinici ed epidemiologici per la mancanza di biomarcatori specifici.
- Viene definita emicrania cronica quando gli attacchi si verificano almeno 15 giorni al mese.

Terapia dell'emicrania

Il trattamento farmacologico prevede una terapia sintomatica se l'emicrania si verifica meno di 4 giorni al mese e una terapia profilattica aggiuntiva nel caso in cui gli attacchi si manifestino almeno 4 giorni al mese o se il paziente non risponde alla terapia sintomatica.

La strategia terapeutica prevede un approccio stratificato basato sulla somministrazione di antinfiammatori non steroidei per le crisi medio-lievi e triptani per gli attacchi caratterizzati da intensità moderata-grave.

I triptani si sono dimostrati efficaci non solo sul dolore ma anche sui sintomi di accompagnamento, come fotofobia, fonofobia e nausea.

Vengono utilizzati anche derivati dell'ergot per il trattamento di attacchi a bassa frequenza che non rispondono ad altre terapie sintomatiche. Inoltre, spesso vengono associati anche farmaci antiemetici.

L'obiettivo di una terapia profilattica è ridurre la frequenza degli attacchi e la disabilità del paziente. Sono utilizzati farmaci appartenenti alla classe dei β -bloccanti, calcio-antagonisti, antidepressivi triciclici, antiserotoninergici, antiepilettici.

Non è noto il meccanismo alla base dell'attività preventiva di questi farmaci. L'ipotesi è un effetto a livello vascolare e dei neurotrasmettitori.

Recentemente sono stati proposti terapie con farmaci biologici.

Tossina botulinica

Nel 2013 AIFA approva la tossina botulinica di tipo A (onabotulinumtoxina A) per il trattamento preventivo dell'emicrania cronica.

La tossina blocca il rilascio dell'acetilcolina a livello della giunzione neuromuscolare. Nel caso dell'emicrania, la tossina inibisce il rilascio dei neurotrasmettitori associati alla patogenesi del dolore. Tuttavia, il meccanismo d'azione nell'emicrania cronica non è stato del tutto chiarito.

Studi preclinici e clinici suggeriscono che la tossina botulinica di tipo A sopprime la sensibilizzazione periferica, inibendo probabilmente anche la sensibilizzazione centrale.

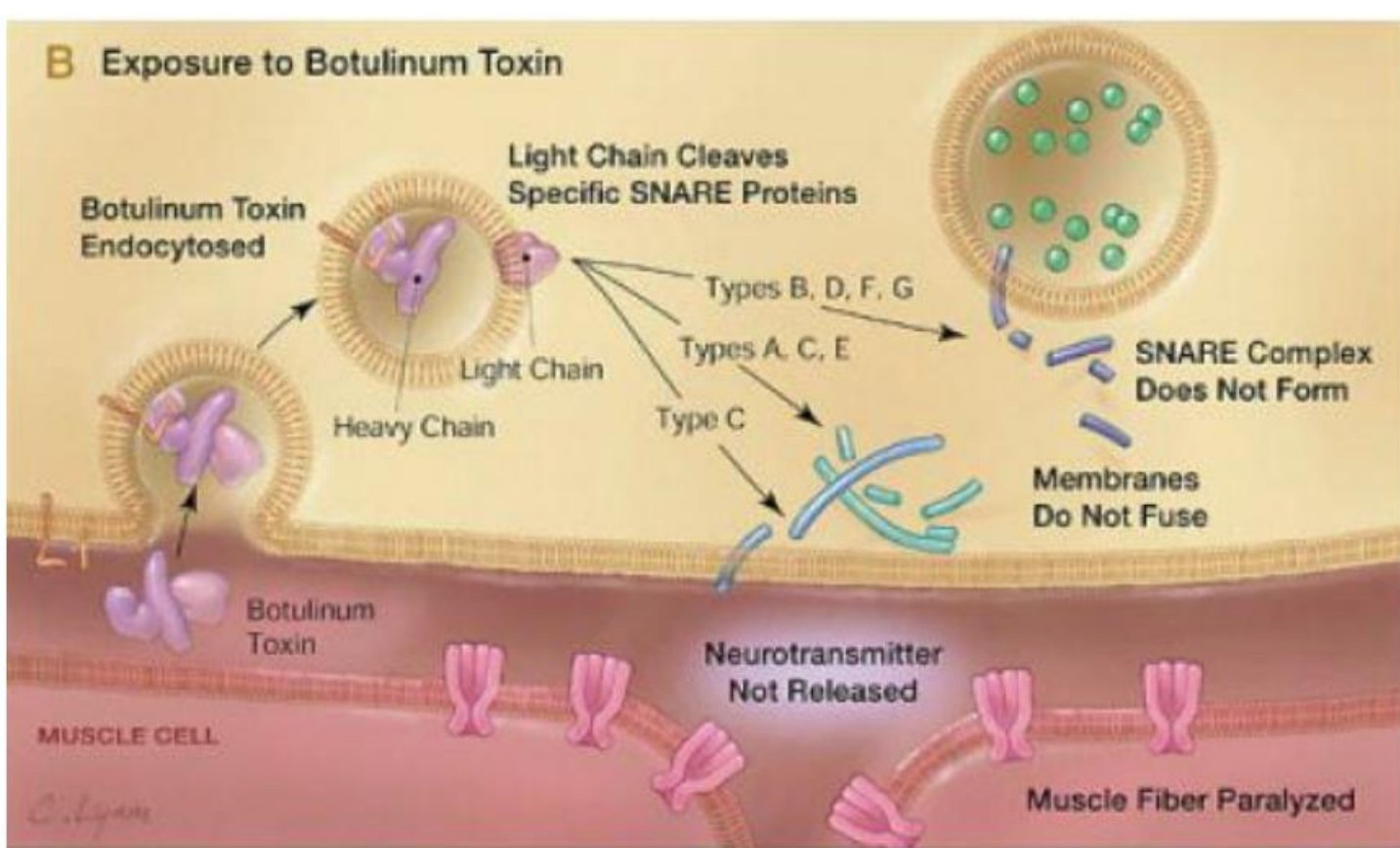
L'approvazione della tossina botulinica nel trattamento dell'emicrania cronica è avvenuta tramite un procedimento di mutuo riconoscimento sulla base di due studi randomizzati, controllati e in doppio cieco (PREEMPT1 e PREEMPT2). Gli studi, entrambi della durata di 6 mesi, hanno coinvolto un totale di 1384 pazienti adulti con emicrania cronica. La tossina botulinica e il placebo sono stati iniettati per via intramuscolare in 31 siti specifici dei muscoli della testa e del collo. La somministrazione è stata ripetuta dopo 3 mesi. I due studi avevano endpoint diversi, per cui in seguito è stata condotta un'analisi aggregata dei dati dei due studi in cui è stata valutata come endpoint la frequenza degli attacchi di emicrania dopo 24 settimane. I risultati hanno dimostrato l'efficacia del trattamento con tossina botulinica per la profilassi dell'emicrania cronica, in quanto essa riduce in modo significativo la frequenza degli episodi di emicrania e migliora la qualità della vita nei pazienti trattati con tossina botulinica rispetto al placebo.

Nei due studi PREEMPT gli effetti indesiderati più comuni sono stati:

la debolezza muscolare, la ptosi palpebrale, la mialgia e il dolore in sede di iniezione.

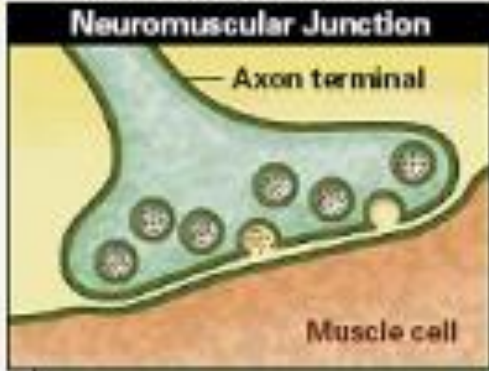
- Una revisione sistematica, che ha incluso studi realizzati nella profilassi della cefalea dell'adulto, compresi gli studi PREEMPT, ha valutato l'efficacia verso placebo nell'emicrania cronica.
- L'esito primario era rappresentato dalla variazione del numero di episodi mensili. In base ai risultati della revisione non vi sono differenze significative tra tossina e placebo nell'emicrania acuta, mentre nell'emicrania cronica la frequenza degli episodi di cefalea mensili è stata significativamente più bassa nel gruppo trattato con la tossina rispetto a quello trattato col placebo, ma la differenza in termini assoluti è modesta.
- Alla luce di questi dati e per le complesse modalità di utilizzo, l'uso della tossina botulinica si prefigura come **ultima opzione terapeutica** da riservare a casi selezionati seguiti da Centri ospedalieri con esperienza specifica.
- La tossina botulinica di tipo A viene purificata dalle colture di *Clostridium botulinum* ed è presente in commercio come polvere per soluzione iniettabile.
- *La posologia prevede una dose di 155-195 unità somministrate per via intramuscolare con iniezioni di 5 unità in 31 siti, estendibili a 39 siti, specifici dei muscoli e della testa e del collo. Non devono essere superate le dosi e le frequenze raccomandate a causa del rischio potenziale di sovradosaggio, esagerata debolezza muscolare, diffusione della tossina e formazione di anticorpi neutralizzanti.*

La tossina botulinica impedisce il rilascio del neurotrasmettitore



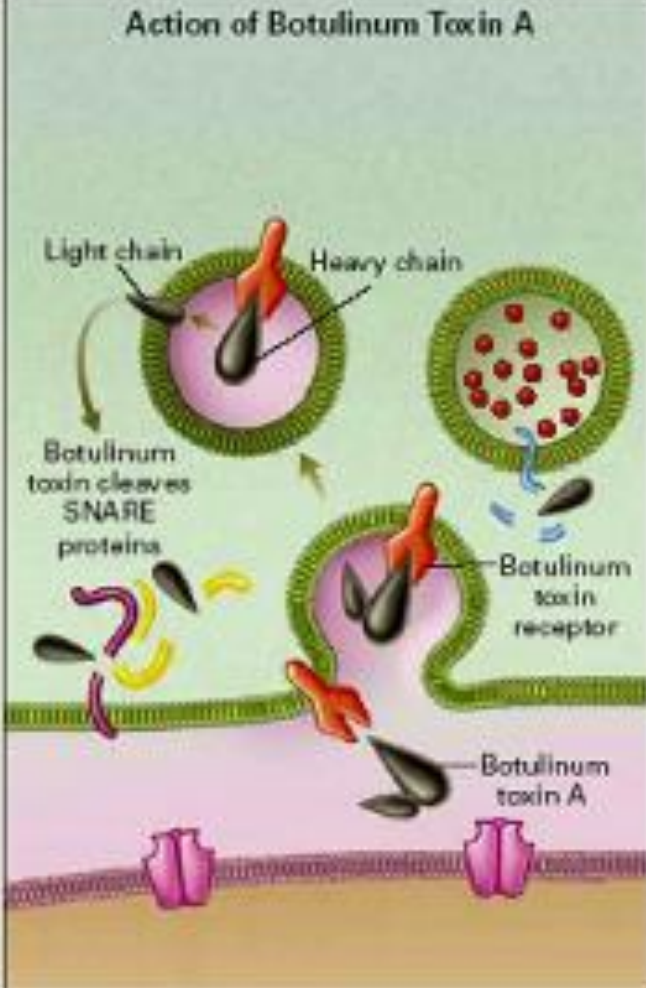
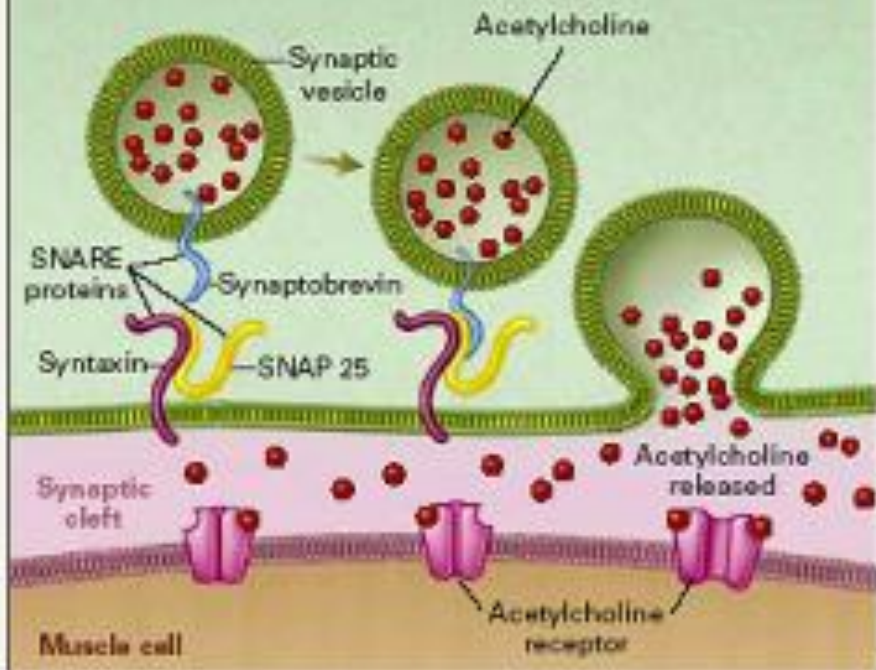
La tossina botulinica (prodotta dal batterio *Clostridium botulinum*) si lega alla membrana della cellula neuronale ed entra per endocitosi.

La catena leggera della tossina botulinica rompe dei siti specifici sul complesso proteico SNARE prevenendo il suo assemblaggio ed la fusione della vescicola e perciò il rilascio di acetilcolina. La tossina botulinica B, D, F e G rompe la sinaptobrevina; il tipo A ed E rompe lo SNAP-25 e il tipo C la syntaxina.



Normal Transmitter Release

Neuron



Anticorpi monoclonali anti-CGRP

Erenumab Eptinezumab Fremanezumab Galcanezumab

Il **CGRP** è un peptide di 37 amminoacidi e rappresenta il **neuropeptide più abbondante del nervo trigemino**.

L'attivazione delle vie afferenti del trigemino determina il rilascio di diversi neuropeptidi, tra cui il CGRP, in risposta a uno stimolo **proalgescico**.

Il CGRP non causa dolore agendo direttamente sui nocicettori, ma interagisce con neuroni, cellule gliali ed endoteliali.

Induce **vasodilatazione, extravaso del plasma, infiammazione, degranolazione dei mastociti provocando una sensibilizzazione centrale e periferica**.

A livello periferico questo processo sostiene l'infiammazione neurogenica e a livello centrale riduce la soglia di attivazione dei neuroni, causando **allodinia** (impulso doloroso in seguito a uno stimolo innocuo, come toccarsi la fronte) e dolore.

Osservazioni cliniche indicano un ruolo fondamentale del CGRP nell'emicrania. I livelli di questo neuropeptide sono elevati durante gli attacchi di emicrania e anche tra diversi episodi di emicrania in pazienti affetti dalla forma cronica di questa patologia.

Inizialmente sono state sviluppate piccole molecole con azione antagonista del recettore per il CGRP per il trattamento sintomatico dell'emicrania.

Il vantaggio di queste molecole è che sono prive degli effetti avversi sul sistema cardiovascolare che si osservano in seguito a trattamento con i triptani.

*Durante lo sviluppo, queste molecole si sono dimostrate efficaci farmacologicamente ma causavano segni di **epatotossicità** e mostravano problemi di farmacocinetica.*

L'attenzione si è quindi rivolta alla generazione di **anticorpi monoclonali** in grado di bloccare il CGRP o il suo recettore.

Sono in via di sviluppo 4 tipi di anticorpi monoclonali, le cui efficacia e tollerabilità sono state analizzate in diversi studi clinici pubblicati a partire dal 2014.

Tre anticorpi sono umanizzati e diretti contro il CGRP (eptinezumab, fremanezumab, galcanezumab) mentre un quarto (erenumab) è interamente umano e diretto contro il recettore per il CGRP.

I primi studi clinici dimostrano l'efficacia di tali anticorpi nella prevenzione dell'emicrania episodica e cronica, simile a quella dei farmaci attualmente usati.

Hanno il vantaggio di un buon profilo di sicurezza e tollerabilità a breve termine, mentre devono ancora essere riportati gli effetti avversi di trattamenti a lungo termine.

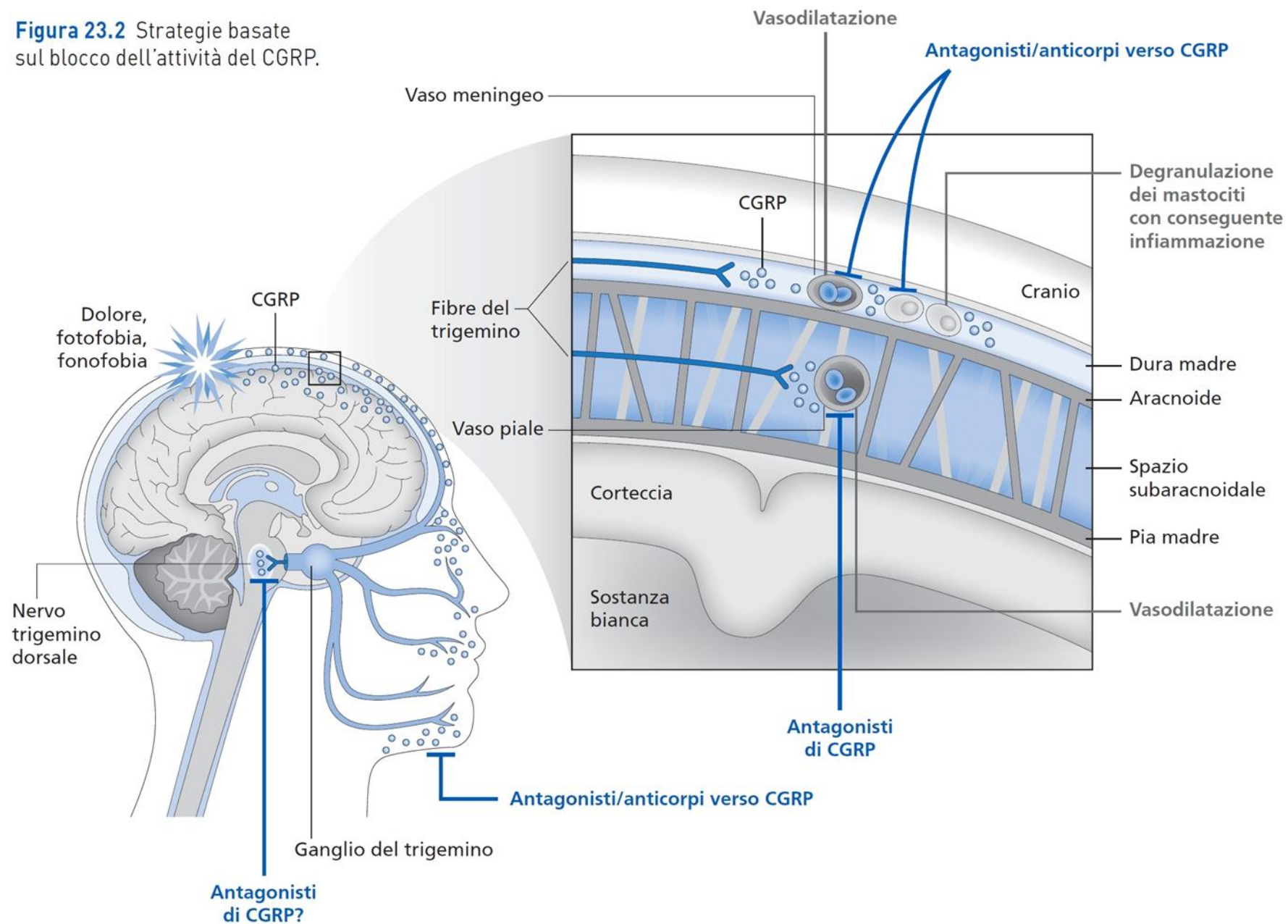
Al contrario dei triptani, non sono stati segnalati effetti avversi di tipo cardiovascolare, teoricamente ipotizzabili in considerazione del potente effetto vasodilatatore esercitato dal CGRP.

Il sito d'azione di questi anticorpi non è chiaro, perché passano con difficoltà la BEE, suggerendo che il loro effetto sia principalmente a livello periferico.

La FDA ha accettato la domanda di registrazione come farmaco biotecnologico per erenumab, fremanezumab e galcanezumab. A fine giugno 2017, l'EMA ha accettato di esaminare la domanda di autorizzazione per l'immissione in commercio di erenumab nella prevenzione dell'emicrania episodica e cronica.

La Figura che segue illustra i punti in cui possono agire le terapie che interferiscono con l'attività del CGRP.

Figura 23.2 Strategie basate sul blocco dell'attività del CGRP.



ERENUMAB

L'**erenumab** è un **mAb** IgG2 interamente umano che **blocca il recettore per il CGRP**, sviluppato per la prevenzione dell'emicrania episodica e cronica.

L'emivita della dose di 70mg è di circa 21 giorni.

Gli studi clinici di fase I e II hanno evidenziato un buon profilo di tollerabilità. Negli studi di fase II è stata valutata l'efficacia nel trattamento dell'emicrania cronica, mentre in due studi di fase III è stato analizzato l'effetto sull'emicrania episodica.

*In particolare, l'**ARISE** è uno studio multicentrico, randomizzato, controllato con placebo che ha coinvolto 577 pazienti con emicrania episodica. L'erenumab è stato somministrato alla dose di 70 mg per via sottocutanea; dopo 12 settimane di trattamento si è osservata una riduzione dei giorni di emicrania al mese (MMD) e una diminuzione dell'uso di farmaci per il trattamento dell'emicrania.*

*Lo **STRIVE** è un altro studio clinico di fase III in cui l'erenumab è stato somministrato a 955 pazienti una volta al mese per via sottocutanea alla dose di 70 o 140 mg. Dopo 6 mesi si è rilevata una riduzione degli MMD, un miglioramento della disabilità fisica e della qualità delle attività quotidiane nei pazienti trattati con entrambe le dosi rispetto al gruppo placebo. In entrambi gli studi si è osservato un buon profilo di sicurezza e gli effetti avversi più comuni sono stati nasofaringite, sinusite e infezioni del tratto superiore dell'apparato respiratorio.*

Galcanezumab

Il **galcanezumab** è un anticorpo IgG4 monoclonale umanizzato **diretto contro il CGRP**.

Per iniezione sottocutanea si osserva un picco della concentrazione plasmatica dopo 7-13 giorni, mentre l'emivita è di 28 giorni.

*Gli studi di fase II condotti per verificare sicurezza ed efficacia nella prevenzione dell'emicrania episodica hanno dimostrato una riduzione degli **MMD (monthly migraine days)**.*

Gli effetti collaterali più rilevanti sono stati infezioni del tratto urinario, dolore nel sito d'iniezione e dolore alla schiena.

Sono in corso studi di fase III per valutare l'efficacia nella prevenzione dell'emicrania episodica (EVOLVE1 e EVOLVE2) e nell'emicrania cronica (REGAIN). In questi studi, il galcanezumab è stato somministrato una volta al mese per via sottocutanea e vengono valutati gli effetti di due diverse dosi di anticorpo (120 e 240 mg) rispetto al placebo in trattamenti di 6 mesi (EVOLVE1 e EVOLVE2) o di 3 mesi (REGAIN).

Fremanezumab

Il fremanezumab è un mAb IgG2 umanizzato che **lega il CGRP**.

Può essere somministrato mediante infusione intravenosa o per via sottocutanea e in entrambi i casi ha un'emivita tra i 40 e 48 giorni. Presenta un buon profilo di sicurezza e tollerabilità. Sono stati condotti due studi di fase III (HALO) per emicrania episodica e cronica.

Sono stati analizzati differenti regimi di trattamento con l'anticorpo, somministrato per via s.c. .

in entrambi i regimi di somministrazione, il trattamento con il fremanezumab ha causato una riduzione degli MMD (*monthly migraine days*) e un miglioramento dello stato fisico dei pazienti.

Eptinezumab

L'eptinezumab è un anticorpo IgG1 umanizzato prodotto in lievito e **in grado di legare il CGRP**.

La dose di 1 g somministrata mediante infusione endovena ha un'emivita di 32 giorni.

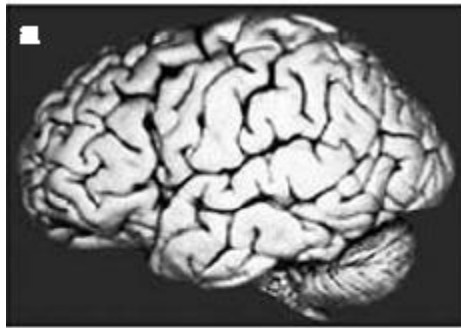
PROMISE1 e PROMISE2, gli studi clinici di fase III in doppio cieco, randomizzati, controllati con placebo, sono condotti per valutare, rispettivamente, l'efficacia di eptinezumab nel trattamento di emicrania episodica e cronica. In PROMISE1 l'anticorpo è stato somministrato mediante una singola infusione endovena alla dose di 300 mg, 100 mg o 30mg a 900 pazienti.

Dopo 12 settimane si è osservata una **riduzione significativa di MMD** (monthly migraine days) e gli effetti avversi erano simili a quelli riscontrati nel caso degli altri anticorpi, come infezioni del tratto urinario, sinusite e stanchezza.

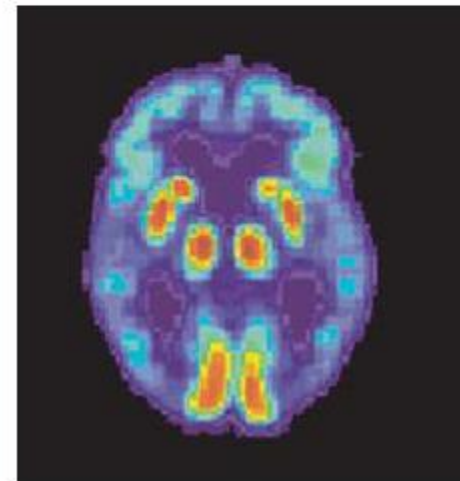
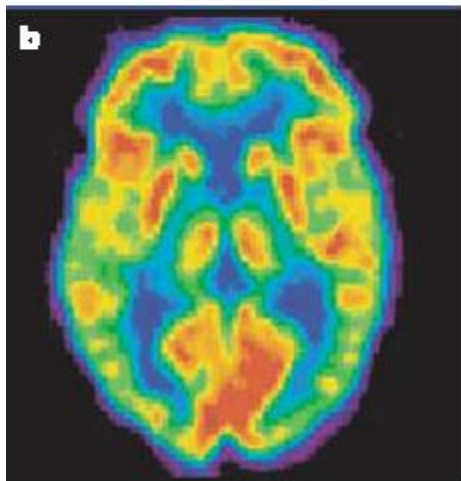
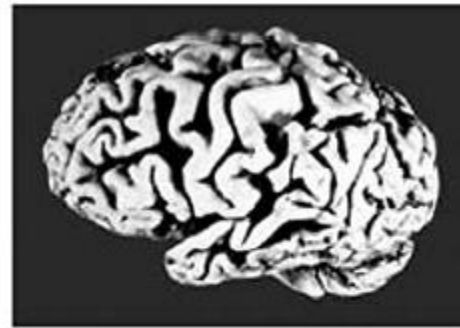
La malattia di Alzheimer

è una patologia neurodegenerativa caratterizzata dalla presenza di regioni cerebrali di dimensioni ridotte.

Normal Brain



Alzheimer's Brain



Malattia di Alzheimer

La malattia di Alzheimer (MA) è la forma di demenza più comune tra le patologie neurodegenerative.

Conduce, progressivamente e inevitabilmente, a una massiccia morte neuronale.

La crescente preoccupazione medica, sociale ed economica per la MA è in marcato contrasto con la mancanza di soluzioni disponibili per risolvere efficacemente questo problema che colpisce non solo i pazienti e le loro famiglie ma l'intera società.

Negli ultimi 25 anni, evidenze genetiche, biochimiche e di biologia cellulare hanno indicato la MA come un disordine dell'aggregazione proteica in cui sono coinvolte due componenti principali:

il peptide-beta amiloide ($A\beta$), prodotto dall'endoproteolisi sequenziale della **proteina precursore dell'amiloide (APP)**, **e la proteina Tau** (una proteina associata ai microtubuli) **in forma iperfosforilata**.

Le alterazioni di queste due proteine sono la causa delle principali lesioni istologiche che si accumulano nel cervello dei pazienti affetti da MA: **le placche senili** e i **grovigli neurofibrillari (NFTs)**.

L'ipotesi della cascata di amiloide prevede che l'aumento dei livelli e la conseguente aggregazione di $A\beta$ siano eventi iniziali per lo sviluppo della MA.

$A\beta$, un peptide di 38 o 42 amminoacidi, si presenta con diverse forme di aggregazione ognuna con capacità differenti di interferire con la funzionalità dei neuroni eccitatori.

In particolare, gli oligomeri di $A\beta$ sono stati descritti come i primi effettori in grado di compromettere la struttura delle spine dendritiche e la plasticità sinaptica.

Malattia di Alzheimer

Tra le patologie neurodegenerative, la malattia di Alzheimer (MA) è la forma di demenza più comune, che conduce, progressivamente e inevitabilmente, a una massiccia morte neuronale. La crescente preoccupazione medica, sociale ed economica per la MA è in marcato contrasto con la mancanza di soluzioni disponibili per risolvere efficacemente questo problema che colpisce non solo i pazienti e le loro famiglie ma l'intera società.

Negli ultimi 25 anni, evidenze genetiche, biochimiche e di biologia cellulare hanno indicato la MA come un disordine dell'aggregazione proteica in cui sono coinvolte due componenti principali:

il peptide-beta amiloide ($A\beta$), prodotto dall'endoproteolisi sequenziale della **proteina precursore dell'amiloide (APP)** e la **proteina Tau**, una proteina associata ai microtubuli, in forma iperfosforilata.

Le alterazioni di queste due proteine sono la causa delle principali lesioni istologiche che si accumulano nel cervello dei pazienti affetti da MA: le placche senili e i grovigli neurofibrillari (NFTs). L'ipotesi della cascata di amiloide prevede che l'aumento dei livelli e la conseguente aggregazione di $A\beta$ siano eventi iniziali per lo sviluppo della MA.

L' $A\beta$, un peptide di 38 o 42 amminoacidi, si presenta con diverse forme di aggregazione ognuna con capacità differenti di interferire con la funzionalità dei neuroni eccitatori. In particolare, gli oligomeri di $A\beta$ sono stati descritti come i primi effettori in grado di compromettere la struttura delle spine dendritiche e la plasticità sinaptica.

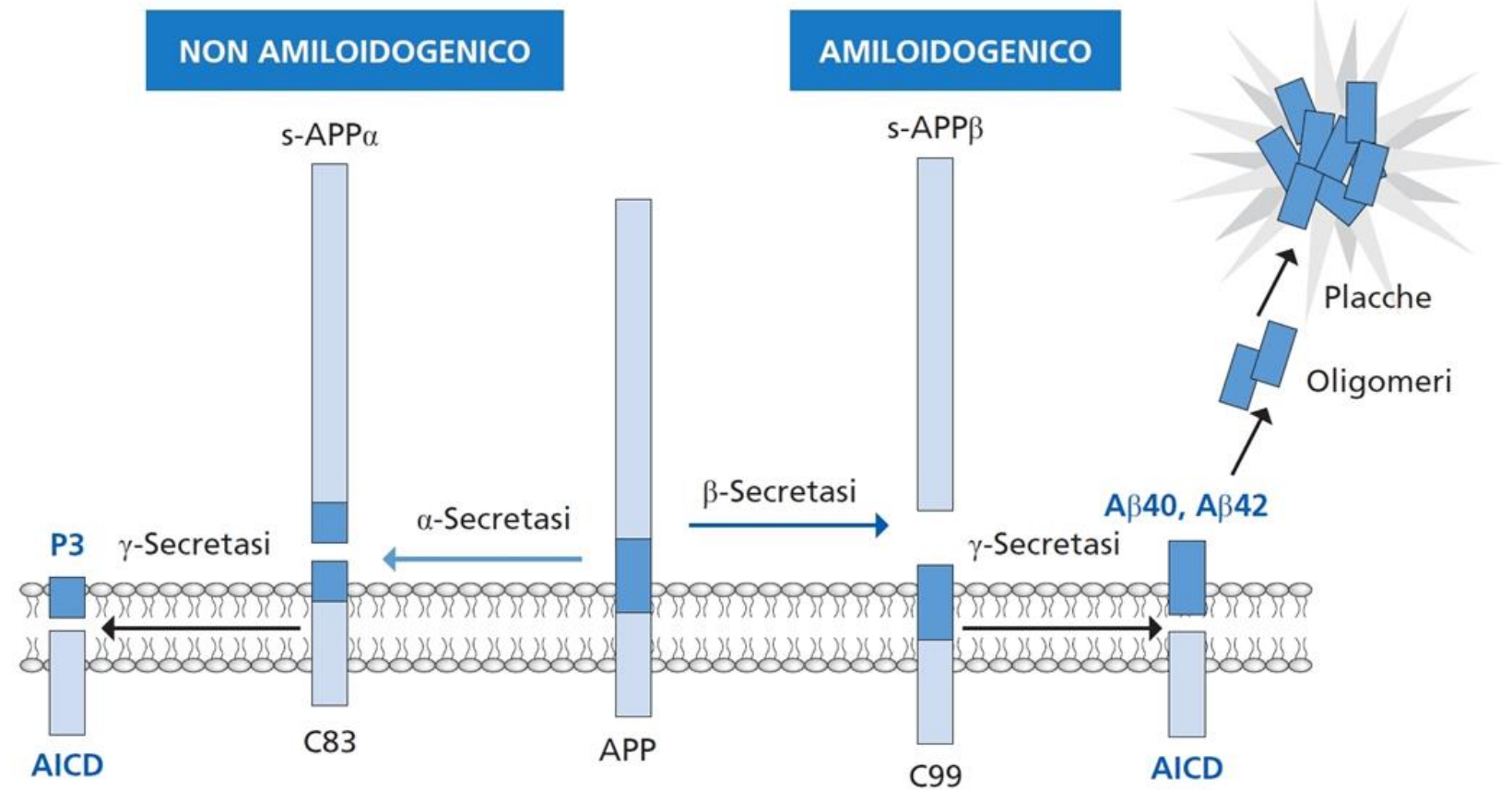
Oltre alla produzione di $A\beta$ e NFTs, diverse vie biologiche, concomitanti e non necessariamente mutuamente esclusive, aggiungono ulteriori elementi di complessità alla patogenesi della malattia. Tra queste vi sono le alterazioni del trafficking cellulare e dell'omeostasi neuronale del calcio, la neuroinfiammazione, la risposta gliale e le alterazioni genetiche considerate come fattori di rischio.

La diagnosi clinica di MA, grazie ai recenti avanzamenti delle conoscenze sulla patogenesi molecolare di malattia, può attualmente avvalersi di un buon numero di biomarcatori. Ci sono tre comuni biomarcatori misurati nel fluido cerebrospinale (CSF) attualmente in uso: $A\beta$, tau totale (tau) e tau fosforilata (p-tau)

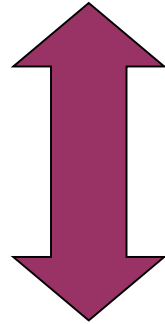
È stato dimostrato che i livelli di $A\beta$ diminuiscono prima che aumentino quelli di tau e p-tau, a sostegno dell'ipotesi per cui il metabolismo anormale dell' $A\beta$ preceda la patologia correlata a tau e la conseguente degenerazione neuronale. Di conseguenza, la misura diretta di tau nel CSF è considerata un potente marker di danno neuronale e sinaptico in generale, ma è anche specificatamente associata alla MA. È inoltre possibile sottoporre i pazienti a una tomografia a emissione di positroni (PET) effettuata con un nuovo radiofarmaco, il 18Fluoro-florbetapir, in grado di verificare in vivo gli accumuli di proteina $A\beta$.

La possibilità di combinare la morfometria su immagini PET con la rilevazione dei biomarcatori nel CSF può migliorare significativamente la differenziazione della MA da altre forme di demenza.

Figura 23.3 Tagli operati dalle diverse secretasi nella proteina transmembrana APP.

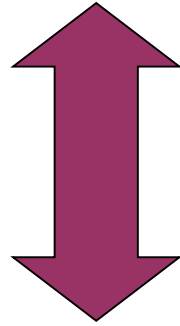


PLACCHE NEURONALI



Depositi extracellulari di fibrille ed
aggregati amorfi di
peptide β -amiloide

GROVIGLI NEURONALI

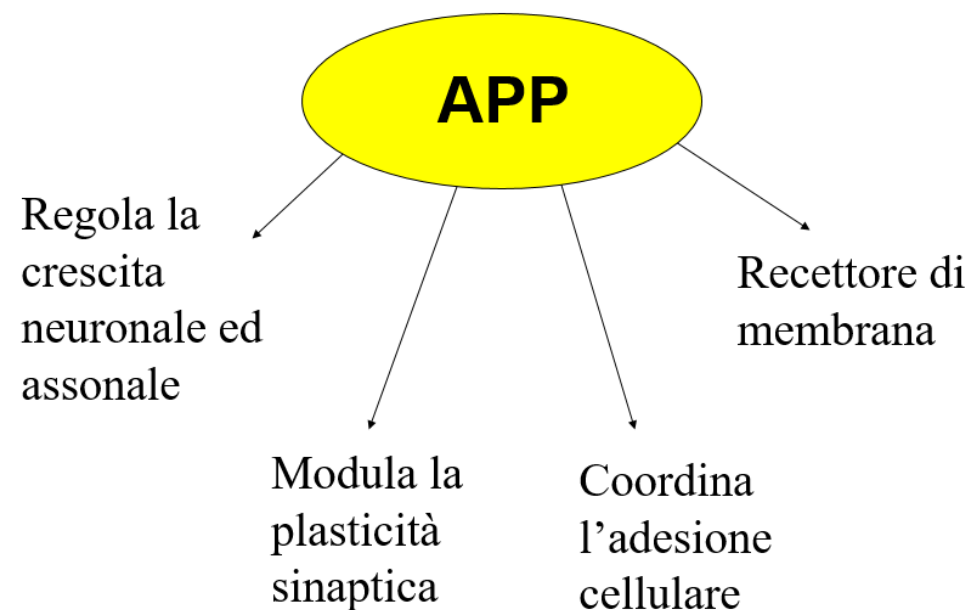


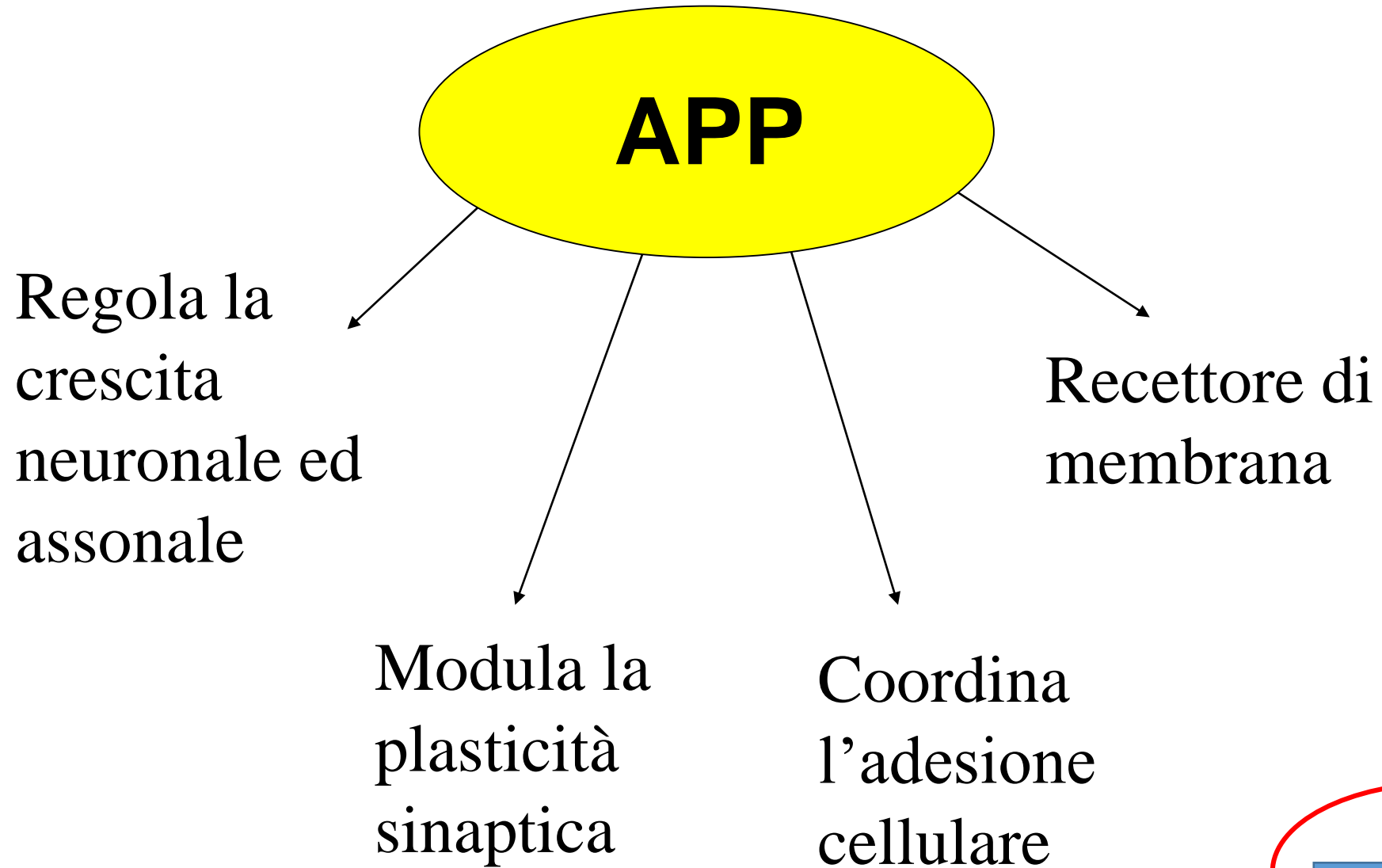
aggregati neurofibrillari
intracellulari della proteina
tau

Punto centrale del disturbo è l'alterata
processazione della Proteina
Precursore dell'Amiloide (che ha i suoi ruoli)

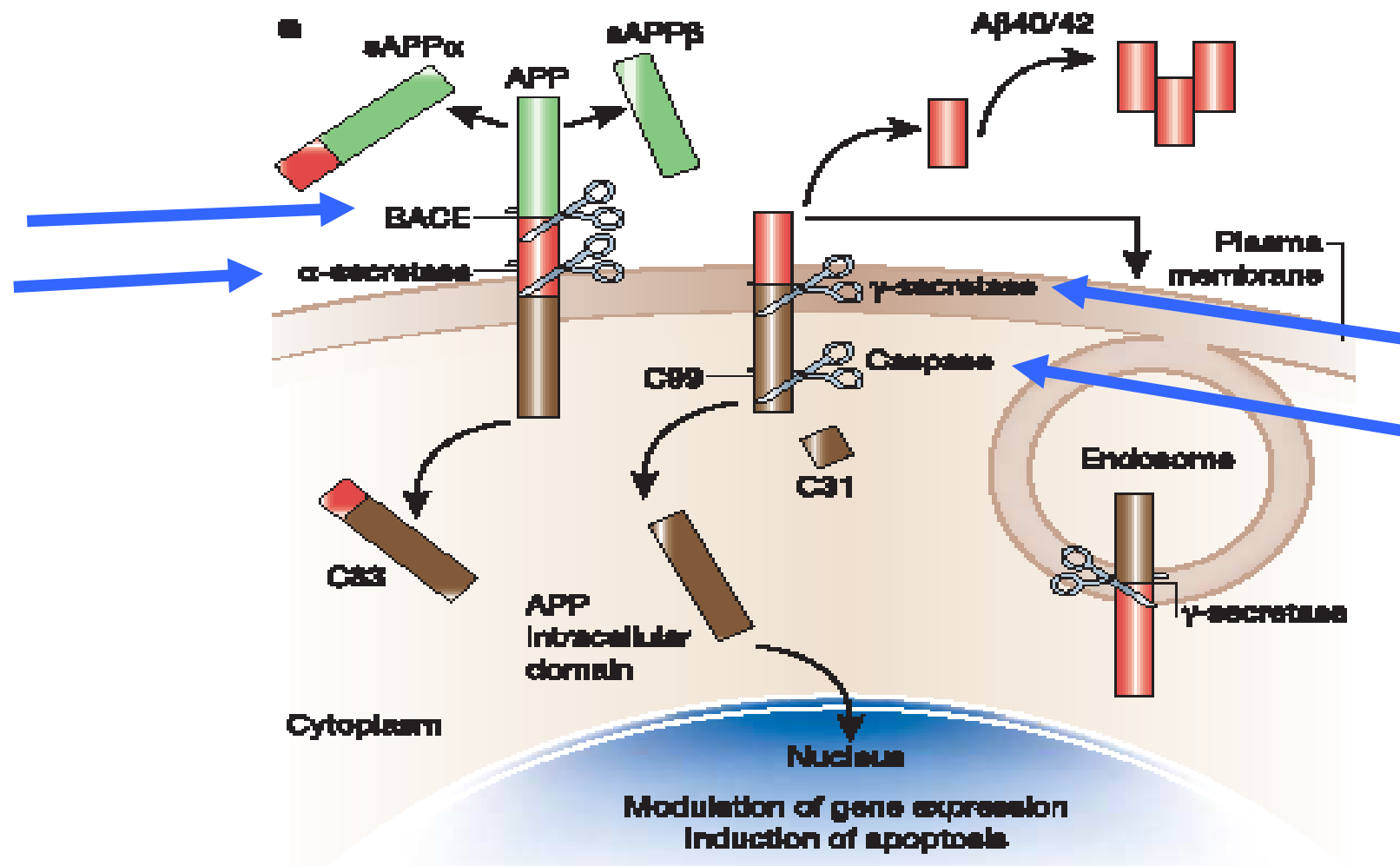


(APP)

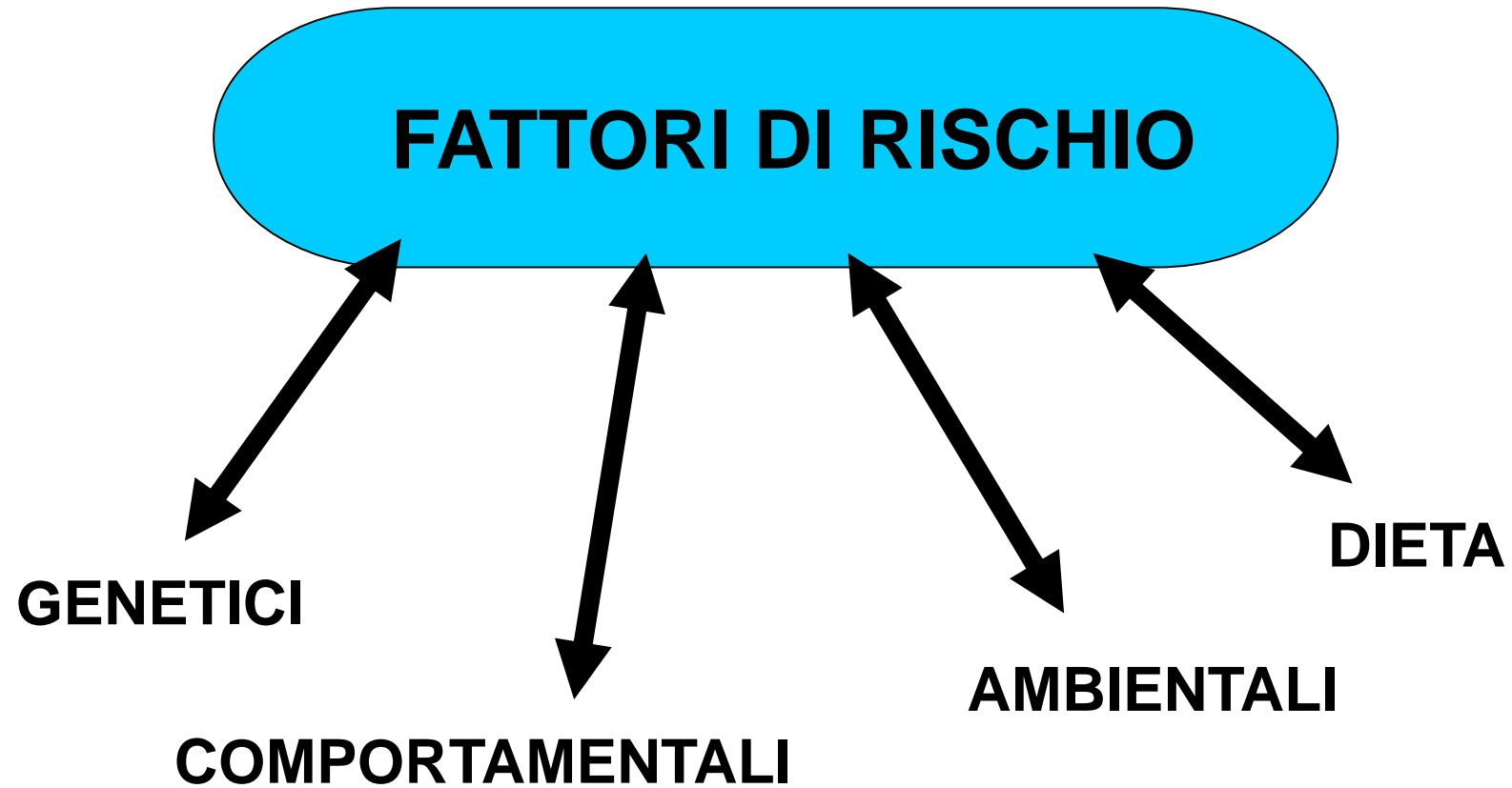




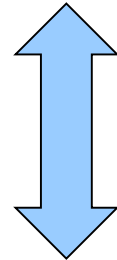
Sono state identificate le attività enzimatiche coinvolte nella scissione della APP



Caratteristiche ricorrenti nell'Alzheimer



DEGENERAZIONE SINAPTICA E NEURONALE

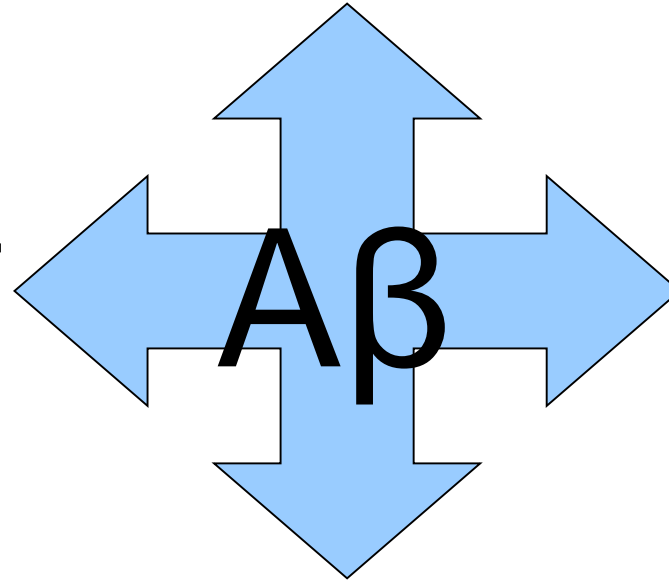


DEPOSIZIONE
(A β)

β -AMILOIDE

**PERTURBAZIONE DEL TRASPORTO
ASSONALE E SINAPTICO
VESCICOLARE**

**ALTERAZIONE
OMEOSTASI
DEL CALCIO**



**STRESS
OSSIDATIVO**

**MODIFICHE DELLA FUNZIONE
MITOCONDRIALE E DEL
RETICOLO ENDOPLASMATICO**

DANNO ALLE CELLULE GLIALI

- ASTROCITI

•ALTERAZIONE
DELL'OMEOSTASI DEL
CALCIO

•DANNO AL TRASPORTO
DEL GLUTAMMATO

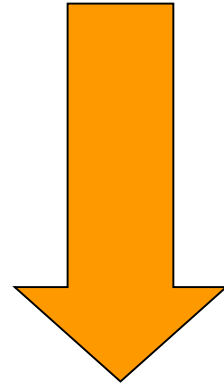
•PRODUZIONE DI
CITOCHINE INFIAMMATORIE

- OLIGODENDROCITI

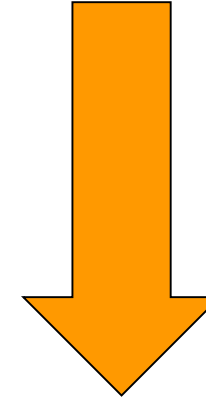
- MICROGLIA

GENESI DI IL-1 E
IL-6

Fattori che contrastano l'Alzheimer



**FATTORI AMBIENTALI,
COMPORTAMENTALI E
LEGATI ALLA DIETA**



TERAPIE

Terapia della MA

I farmaci oggi a disposizione riescono a fornire **solamente** un trattamento **sintomatico** della malattia, ma non sono in grado di modificarne il decorso.

Le opzioni terapeutiche attualmente disponibili nel trattamento della MA includono:

Inibitori della colinesterasi (AChEIs: donepezil, rivastigmina e galantamina

e **modulatori dei recettori del glutammato** (memantina).

I tre AChEIs attualmente in uso sono relativamente sicuri, facili da usare e ben tollerati. Il vantaggio che offrono sui sintomi della malattia è però modesto: un piccolo ma misurabile miglioramento sintomatico senza alcun chiaro effetto sul tasso di progressione della malattia.

TERAPIE

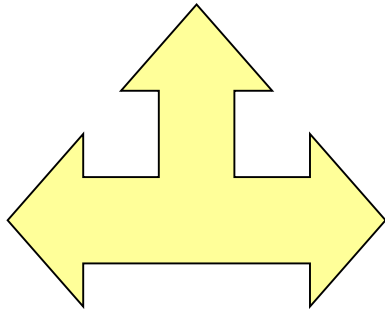
**1) Stimolazione
colinergica**

**2) Limitazione delle
lesioni**

**3) Rallentamento del
processo
neurodegenerativo**

1) STIMOLAZIONE COLINERGICA

- Inibitori della colinesterasi



- Agonisti nicotinici

PRECURSORI DELLA SINTESI DI ACETILCOLINA

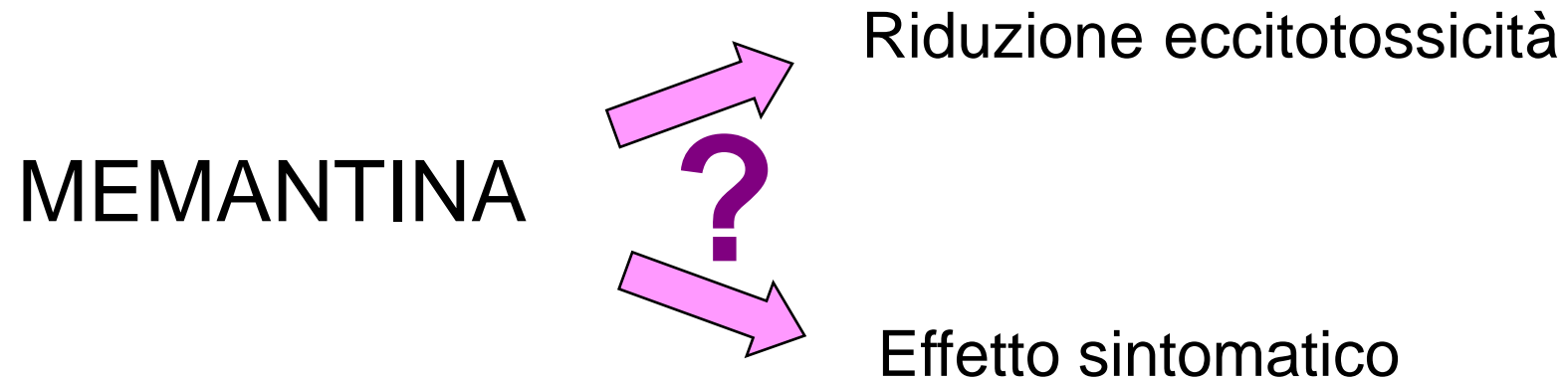
- Colina cloridrato
- Fosfatidilcolina

Ben tollerati ma privi di efficacia clinica significativa

INIBITORI DELL'ACETILCOLINESTERASI

- Fisostigmina
sintomi sistemici da eccesso di attività colinergica
- Tacrina (irreversibile)
epatotossicità, crampi addominali, anoressia, nausea, diarrea, vomito, insonnia
- Donepezil, rivastigmina e galantamina
nausea, diarrea, vomito, insonnia

ANTAGONISTA AL RECETTORE NMDA DEL GLUTAMMATO



Effetti collaterali reversibili e di lieve entità, cefalea e capogiri

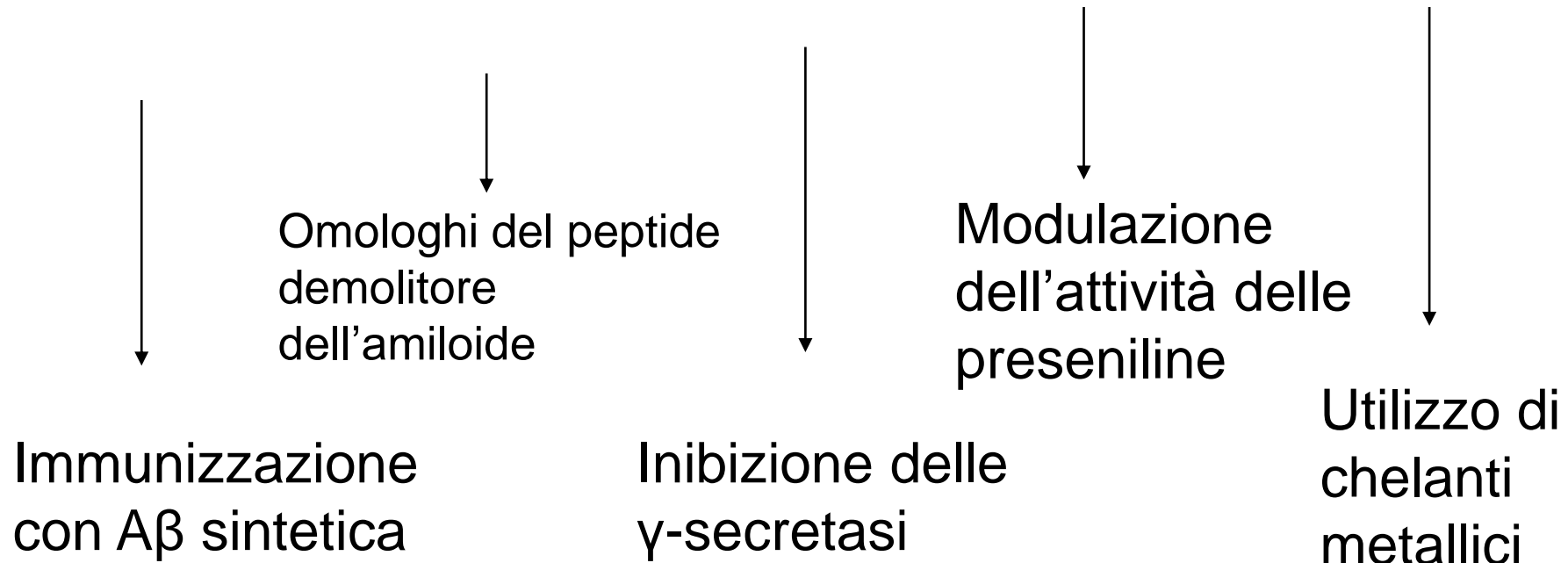
2) LIMITAZIONE DELLE LESIONI

Esistono tre tipi di lesioni neuronali:

1. Placche senili
2. Lesioni neurofibrillari
3. Lesione infiammatorie

PLACCHE SENILI

1. Limitare la sintesi dell'amiloide
2. Limitare l'aggregazione dell'amiloide
3. Promuovere la disaggregazione dell'amiloide



LESIONI NEUROFIBRILLARI

```
graph TD; A[LESIONI NEUROFIBRILLARI] --> B[Inibizione delle proteine chinasi]; A --> C[Modulazione indiretta della fosforilazione];
```

**Inibizione delle
proteine chinasi**

**Modulazione
indiretta della
fosforilazione**

LESIONI INFIAMMATORIE

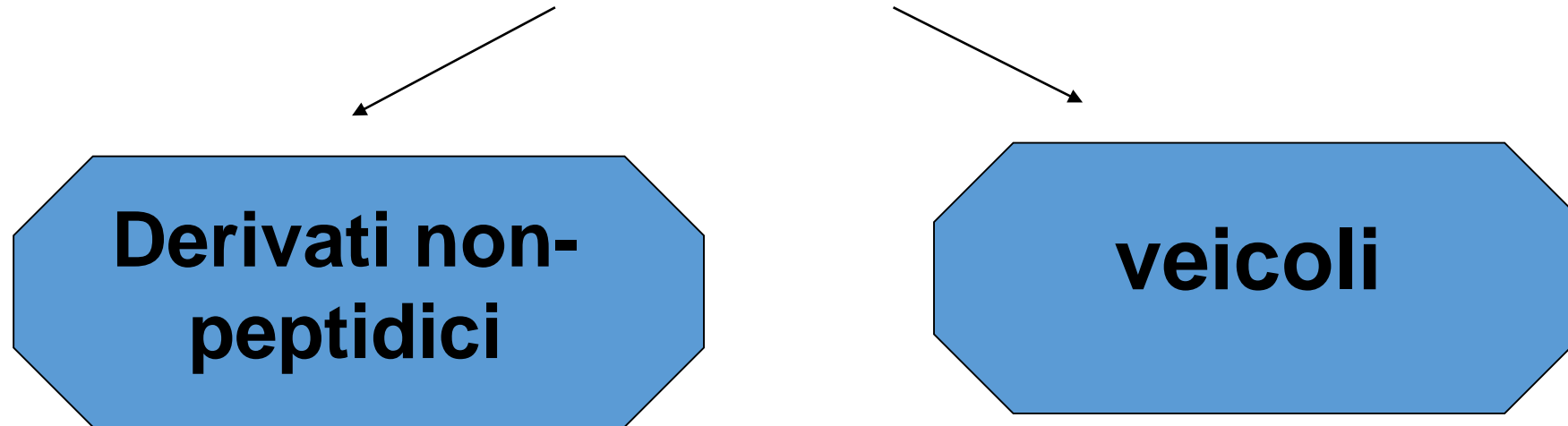


Farmaci anti-infiammatori

3) RALLENTAMENTO DEL PROCESSO NEURODEGENERATIVO

- **Stimolazione GABAergica**
- **Antagonisti dei recettori ionotropici del glutammato**
- **Agonisti dei recettori metabotropi del glutammato**
- **Ca-antagonisti**
- **Blocco della ricaptazione dell'adenosina**
- **Promozione della ricaptazione del glutammato a livello astrocitario**

- **Somministrazione di fattori che promuovono la crescita neuronale**



- **Stimolazione della produzione di fattori di crescita da parte delle cellule del SNC**

**TERAPIA
GENICA**

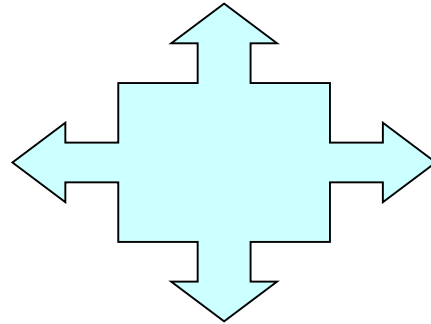
E

**TERAPIA
CELLULARE**

LINEE DI RICERCA PIU' PROMETTENTI

INIBITORI DI APOPTOSI

MINOCICLINA



**FATTORI
TROFICI
(EPO)**

**STIMOLAZIONE DOPAMINERGICA E
SEROTONINERGICA**

Farmaci biologici in sviluppo per la MA

A β svolge un ruolo centrale nella patogenesi della MA, pertanto l'immunoterapia contro A ha attirato nel tempo un notevole interesse in quanto offre la possibilità di raggiungere gli obiettivi terapeutici con farmaci altamente specifici. L'immunizzazione attiva e l'immunizzazione passiva sono stati i due approcci maggiormente utilizzati nello sviluppo di farmaci biotecnologici per la MA.

L'immunizzazione attiva prevede la somministrazione di un vaccino contenente antigeni o altri stimoli progettati per indurre una risposta immunitaria che generi anticorpi nel destinatario, mentre nell'immunizzazione passiva si somministrano anticorpi monoclonali (mAbs) umanizzati o anticorpi umani derivanti da donatore.

Il primo approccio risale al 1999 quando iniziarono le sperimentazioni cliniche del **vaccino AN1792**, che si era mostrato efficace in modelli murini di MA nel ridurre i depositi di amiloide in corteccia e ippocampo. La sperimentazione clinica dell'AN1792 fu bloccata in fase II a causa dello sviluppo di meningoencefalite mediata da cellule T in circa il 6% dei pazienti vaccinati. Un ulteriore elemento negativo in questo studio fu la constatazione che solo il 20% dei pazienti vaccinati incrementò il titolo anticorpale al di sopra del livello prefissato per avere un effetto terapeutico, Si è quindi passati a un approccio di immunizzazione passiva, utilizzando anticorpi indirizzati a specifici epitopi target. Questo approccio ha avuto successo nella clinica in una serie di malattie tra cui disturbi autoimmuni e cancro.

Diversi anticorpi anti-Ab sono entrati negli studi clinici seppur con diverse caratteristiche e con risultati molto diversi. Tra questi **bapineuzumab**, **solanezumab**, **aducanumab**, (gantenerumab e crenezumab).

Bapineuzumab

Il bapineuzumab è un mAb umanizzato, derivante dal mAb murino 3D6, progettato per legare e rimuovere i depositi di A β che si accumulano nel cervello. Si lega alla regione N-terminale dell'Abeta, compresa tra gli amminocidi 1-5, che rimane esposta nel momento della formazione di fibrille di Ab.

Il bapineuzumab è un anticorpo della classe IgG1 che lega maggiormente le forme fibrillari di Ab rispetto a quelle solubili. Esso è stato oggetto di trattamento in studi clinici di fase I, II e III per la sua potenziale efficacia nel ridurre la formazione di placche amiloidi e nel rallentare la progressione della malattia in pazienti con MA da lieve a moderata.

Tuttavia, già negli studi di fase I, tre dei dieci pazienti che hanno assunto la dose più elevata hanno sviluppato edema vasogenico, attualmente identificato col termine ARIA-E, per indicare anomalie dell'imaging connesso alla amiloide (Amyloid-Related Imaging Abnormalities; ARIA) in riferimento allo spettro di immagini ottenute mediante risonanza in seguito a terapie che riducono l'amiloide. L'ARIA-E è stato l'unico evento noto per essere correlato alla dose anche in studi di fase II e III.

Sulla base della mancanza di efficacia clinica e degli effetti avversi riportati in questi studi, sono stati interrotti gli studi di fase III che indagavano efficacia e tollerabilità a lungo termine del bapineuzumab.

Solanezumab

Il solanezumab è un mAb umanizzato della classe delle IgG1 diretto **contro la regione centrale dell'Aβ compresa tra gli aminoacidi 12-28.**

Ha dimostrato di legare preferenzialmente le forme solubili di Aβ rispetto a quelle fibrillari. Viene somministrato endovena e circa lo 0,1% della dose attraversa la BEE. Il razionale terapeutico è quello di trarre vantaggio sequestrando l'Ab spostando l'equilibrio tra diverse specie di Ab e rimuovendo piccole specie solubili di A che sono direttamente tossiche per la funzionalità sinaptica.

Le differenze negli epitopi legati da solanezumab e bapineuzumab inducono effetti differenti.

Il solanezumab lega la regione centrale delle forme solubili di Aβ mentre il bapineuzumab interagisce con il dominio N-terminale di Amiloide: questa differenza potrebbe essere alla base del minor tasso di incidenza di ARIA-E con il solanezumab verso il bapineuzumab.

Gli studi di fase II consistevano nel somministrare da 100 a 1600 mg al mese di solanezumab per 12 settimane; il monitoraggio della sicurezza e dei biomarcatori per un anno ha confermato la sicurezza e la tollerabilità del solanezumab. Gli studi di fase II hanno mostrato un aumento dose-dipendente di varie specie di Ab nel plasma e nel CSF ma non hanno rilevato nessuna indicazione di beneficio clinico.

Studi di fase III sono stati condotti successivamente ma hanno fallito nel dimostrare un'efficacia terapeutica significativa su pazienti con MA di grado lieve.

Aducanumab

L'aducanumab è un mAb umano della classe delle IgG1 derivante da una libreria di linfociti B raccolte da donatori anziani sani senza segni di deterioramento cognitivo. Il rationale che sta alla base di tale scelta è che se i sistemi immunitari di questi soggetti avevano resistito con successo allo sviluppo della MA, gli anticorpi da essi derivanti potevano essere trasformati in farmaci mediante un processo noto come **reverse translational medicine**. L'aducanumab è l'unico mAb in grado di legare in maniera altamente selettiva sia gli oligomeri solubili sia gli aggregati fibrillari insolubili di Amiloide

Le comparazioni con altri mAb diretti contro la regione N-terminale dell'Ab rivelano che l'aducanumab lega un epitopo particolarmente compatto, il quale contribuisce all'avidità e all'alta selettività nei confronti degli oligomeri e delle fibrille di A β , inclusi gli aggregati composti da varianti troncate di A, senza nessuna affinità nei confronti dell' A β fisiologico in forma monomeric.

Gli studi preclinici con l'aducanumab si sono rivelati particolarmente promettenti e hanno rivelato che questo farmaco (somministrato in singola dose ip di 30 mg/kg) è in grado di legare placche compatte e diffuse di A β .

La somministrazione di una singola dose di aducanumab non ha influenzato la concentrazione plasmatica e cerebrale di Ab, in accordo con l'osservazione che questo mAb non è in grado di legare i monomeri di A.

*Negli studi clinici l'aducanumab ha mostrato un buon livello di sicurezza e tollerabilità fino alla dose di 60 mg/kg e non è stato osservato l'effetto collaterale ARIA-E durante il trattamento. Gli effetti avversi erano di lieve o moderata entità correlati con il farmaco ma non con la dose somministrata. In studi di fase II, il trattamento con l'aducanumab ha ridotto le placche di Ab in maniera dipendente dalla dose e dal tempo, così come mostrato dalle scansioni PET con 18F-florbetapir. E' stato rilevato un rallentamento nella progressione clinica della malattia, come mostrato dalle variazioni, rispetto al basale, dei punteggi rilevati da scale di valutazione cognitiva. **Tuttavia, gli studi di fase III non hanno evidenziato un'efficacia terapeutica significativa su pazienti con MA.***