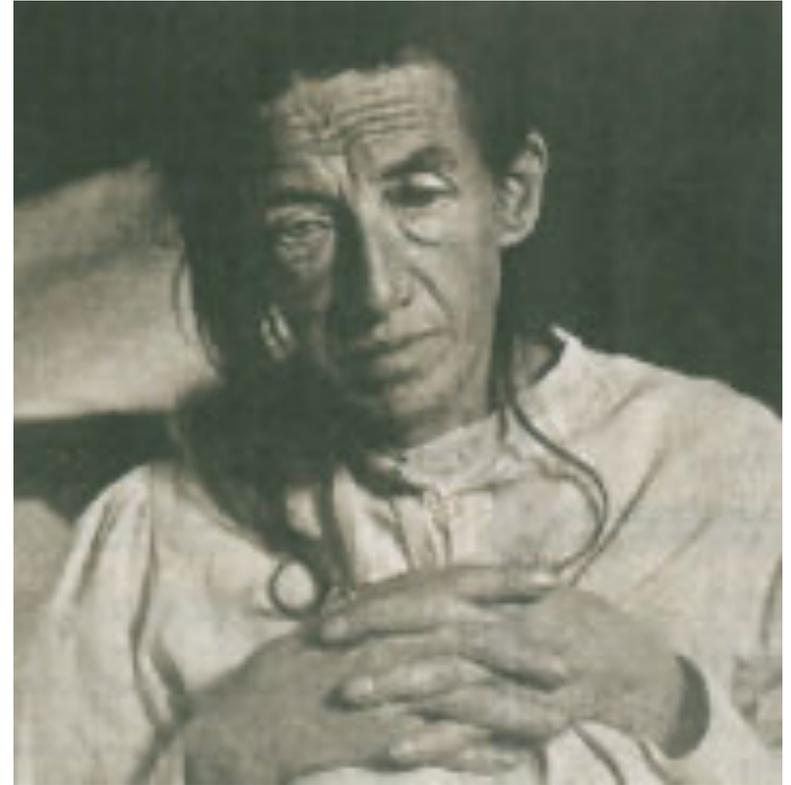


Anticorpi monoclonali in neurologia

Morbo di Alzheimer

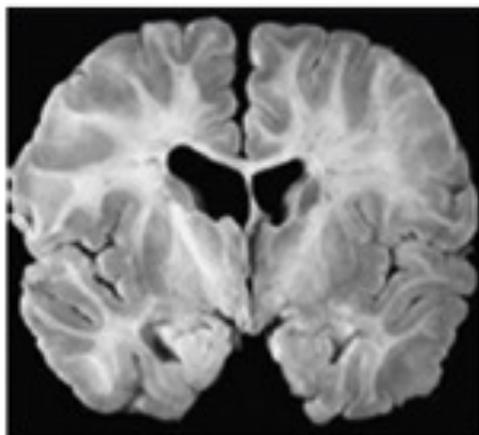
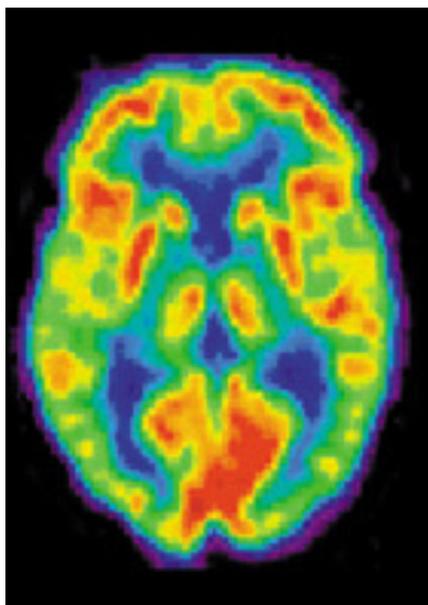
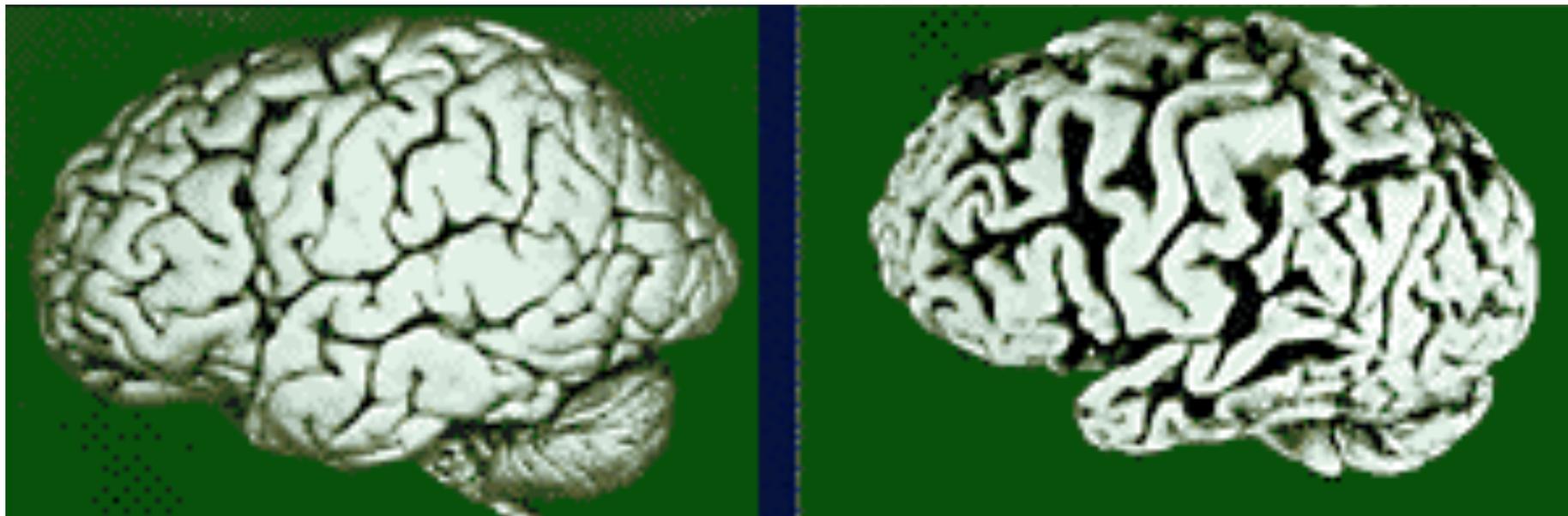
Nel 1907, durante il Congresso Psichiatrico di Tubinga, lo psichiatra e neuropatologo tedesco Aloisius "Alois" Alzheimer presentò il caso di questa donna, Auguste D., di circa 50 anni, sottolineando come, successivamente all'autopsia, il cervello mostrasse "una scarsità di cellule nella corteccia cerebrale e gruppi di filamenti localizzati tra le cellule nervose".

- Malattia neurodegenerativa caratterizzata dalla presenza di placche amiloidi, aggregati neurofibrillari e perdita di neuroni, soprattutto neuroni colinergici del proencefalo (ippocampo e nuclei della base)

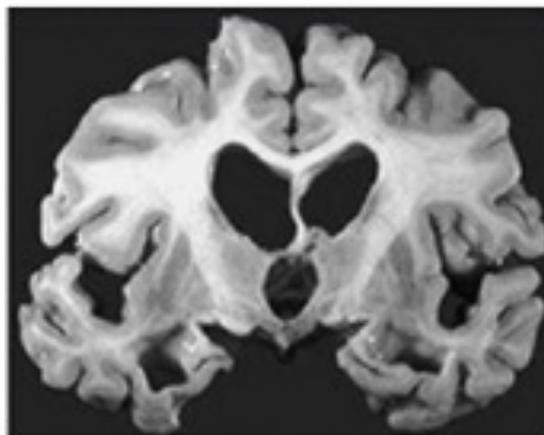


In Italia

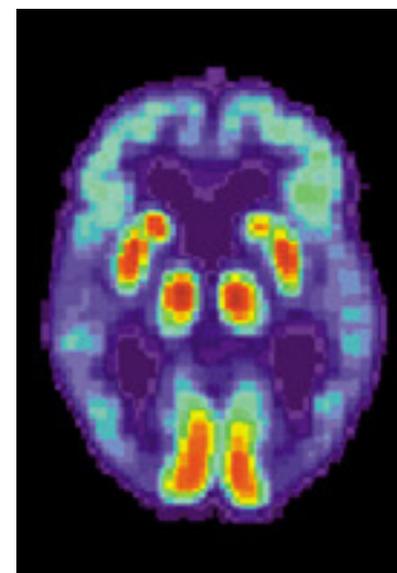
- Incidenza:
 - 7% sopra i 65 anni
 - 30% sopra gli 80 anni
- Ogni anno in Italia 150.000 nuovi casi di demenza
- 1% di forme genetiche



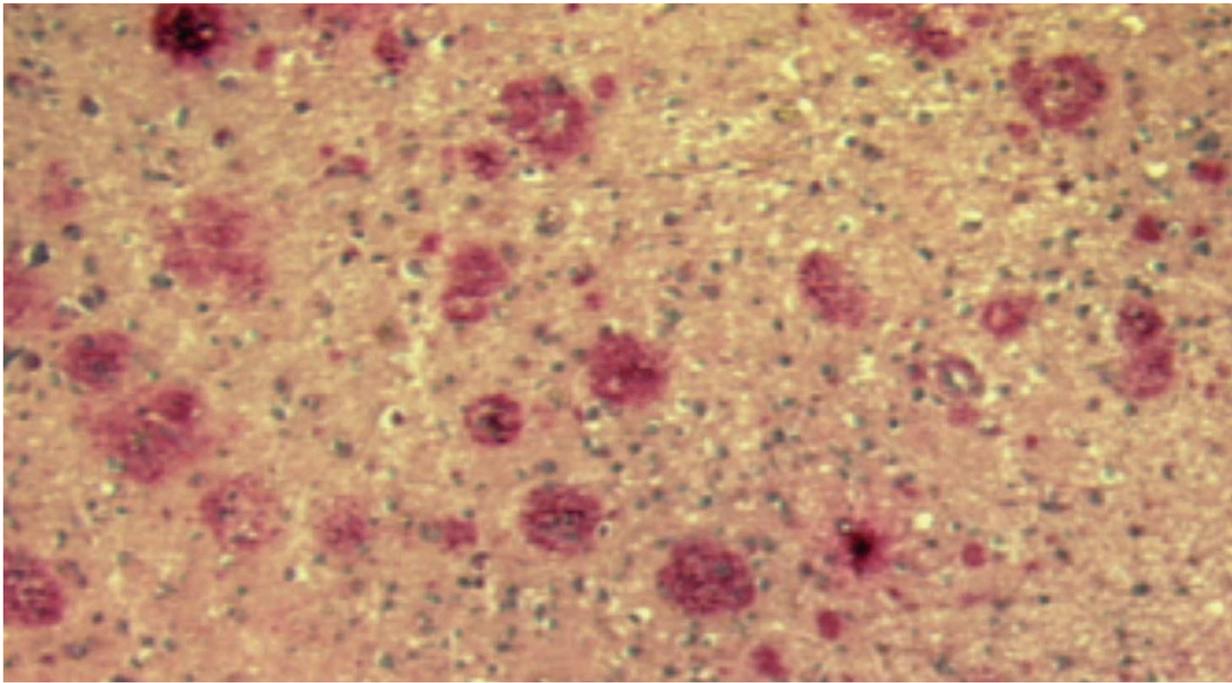
Cervello normale



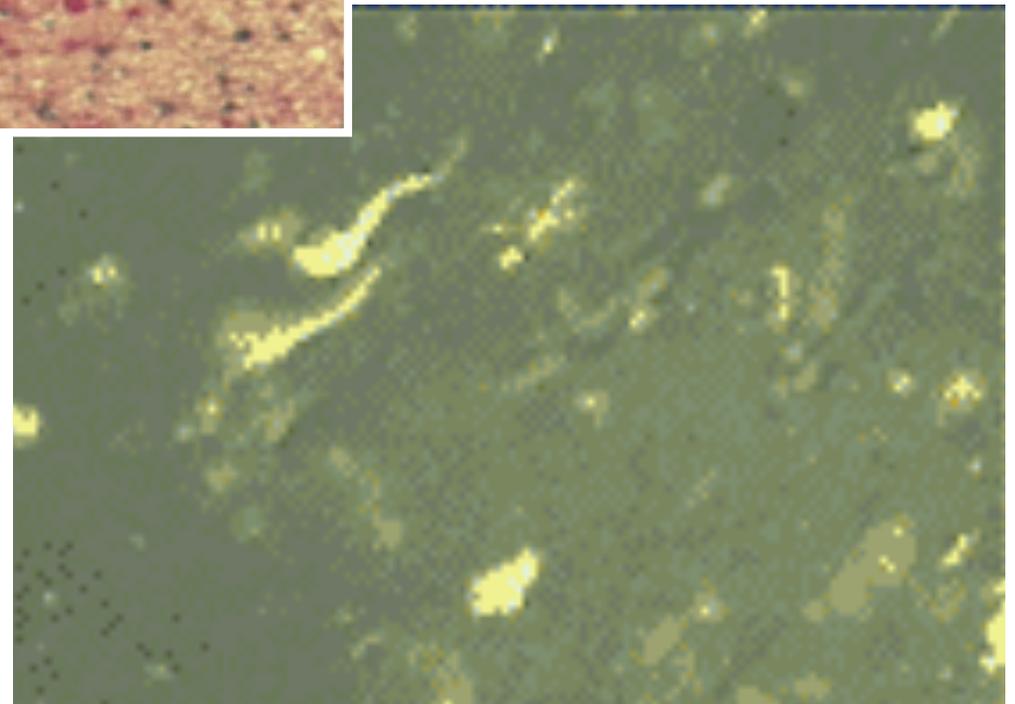
Cervello di malato di Alzheimer



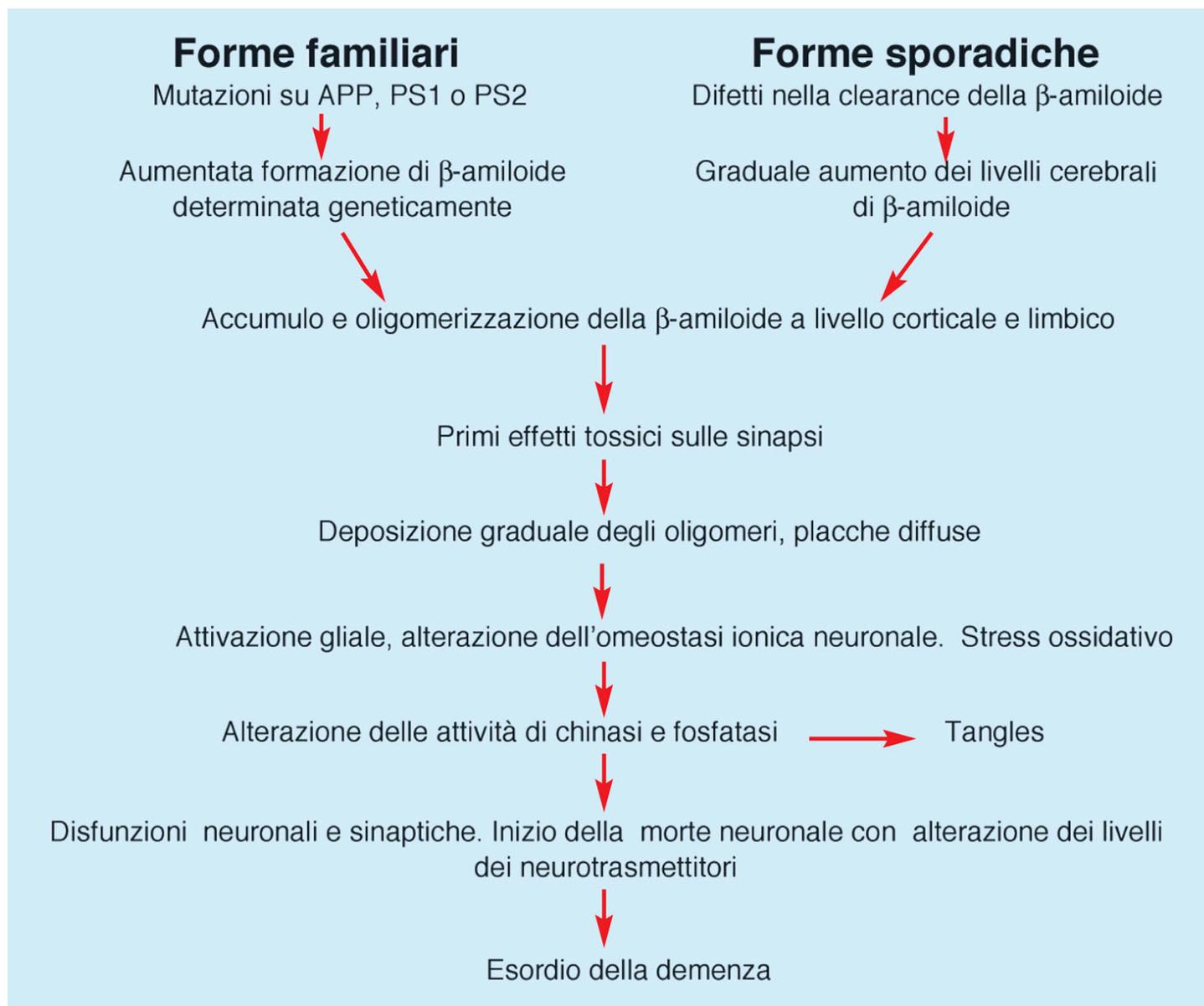
Placche amiloidi costituite da depositi extracellulari amorfi di $A\beta$

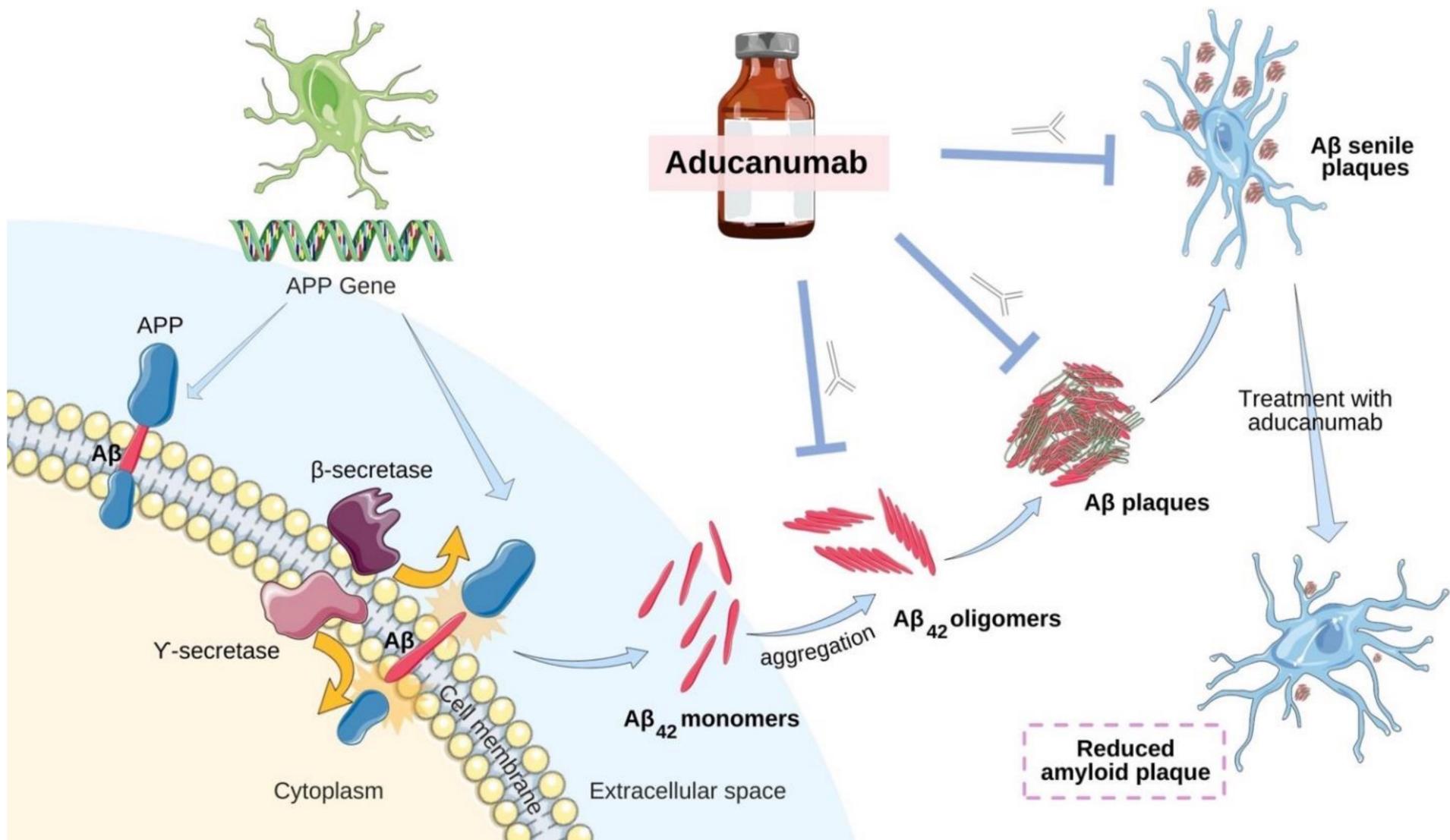


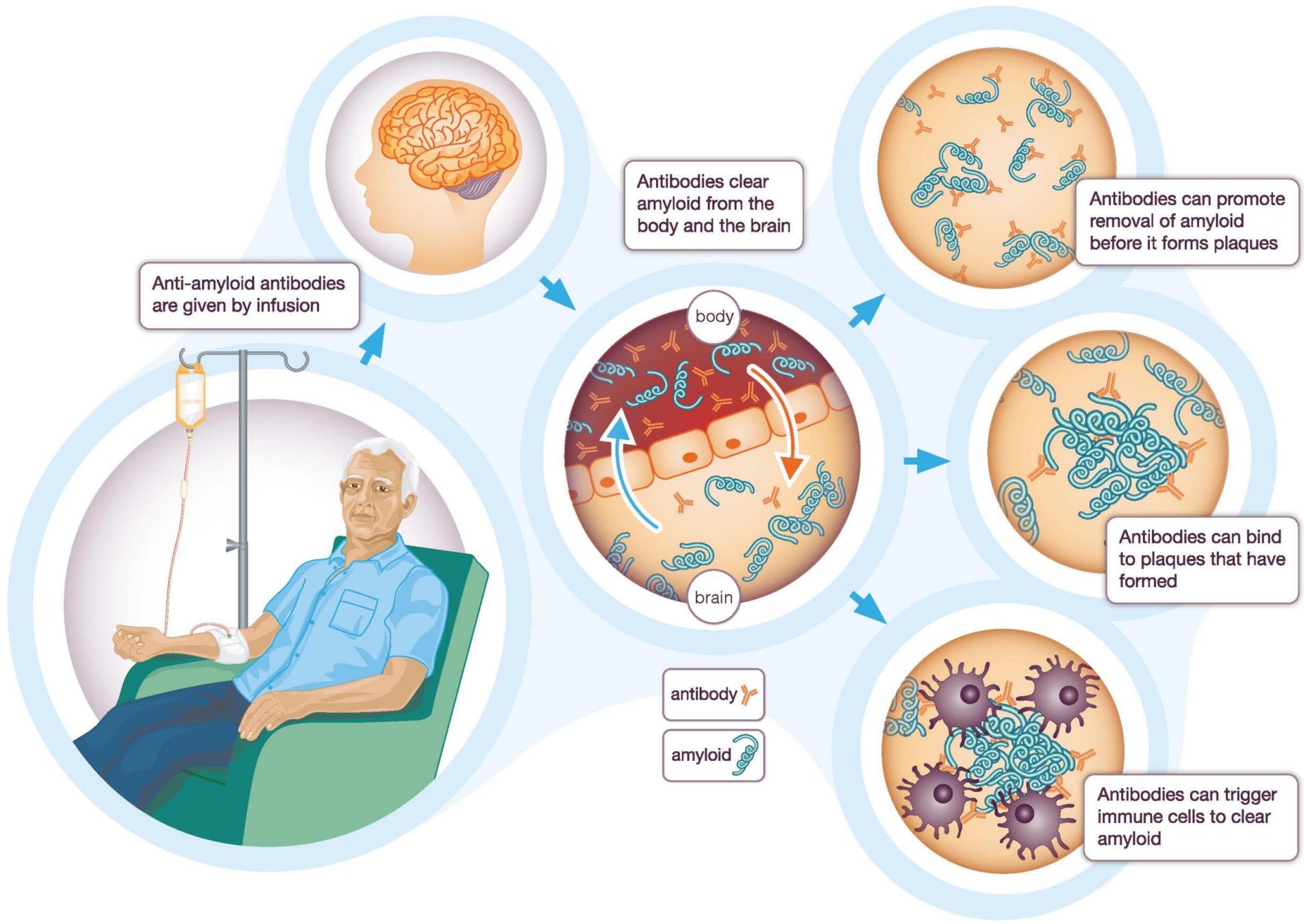
Aggregati neurofibrillari intracellulari costituiti dalla proteina Tau nella sua forma iperfosforilata



Ipotesi dell' amiloide.







Anti-amyloid antibodies are given by infusion

Antibodies clear amyloid from the body and the brain

Antibodies can promote removal of amyloid before it forms plaques

Antibodies can bind to plaques that have formed

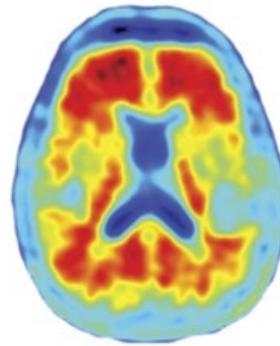
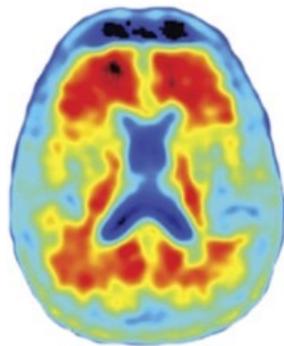
Antibodies can trigger immune cells to clear amyloid

antibody

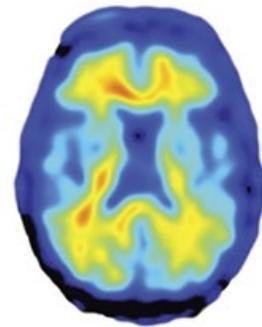
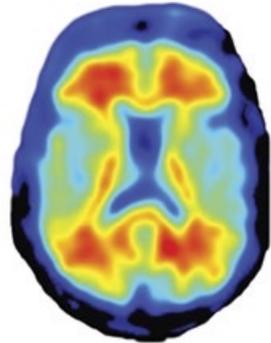
amyloid

Baseline

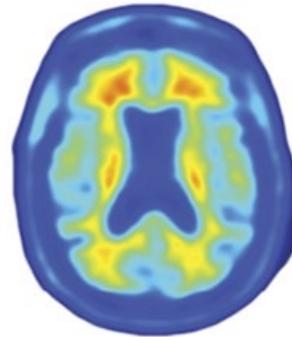
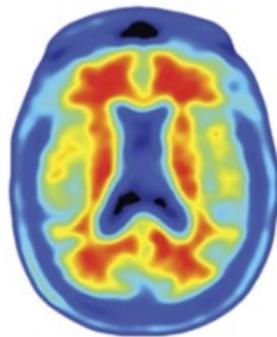
One year



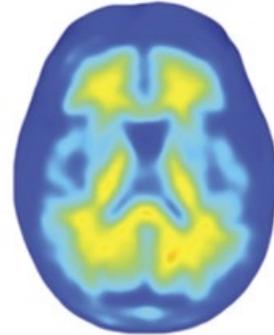
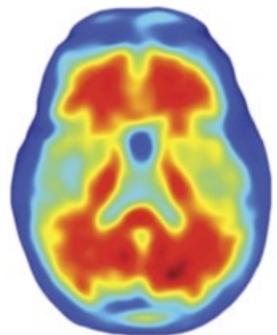
Placebo



3 mg kg⁻¹



6 mg kg⁻¹



10 mg kg⁻¹

Aducanumab

- Approvato da FDA a giugno 2021
- 2 sperimentazioni di fase III
 - Rallentato il declino cognitivo se somministrato precocemente 0,3 punti su una scala che va fino a 18
 - Nessun miglioramento
- Ad alte dosi: edema cerebrale ed emorragie nel 40% dei pazienti

What you should know about aducanumab (brand name Aduhelm)

FDA approval of aducanumab for mild Alzheimer disease is controversial. Although the drug reduces plaque in the brain, experts are uncertain whether this is linked to improved patient symptoms and quality of life.



The bottom line on FDA approval

In clinical trials, aducanumab reduced visible plaque in the brain, which is considered a **surrogate outcome** (a test result with no direct patient benefit).

Aducanumab did NOT have a noticeable effect on **patient outcomes** (something directly felt or experienced by the patient such as improvement in symptoms or quality of life).

Surrogate and patient outcomes for aducanumab treatment

OUTCOME CLASSIFICATION	OUTCOME IMPORTANCE	EFFECT OF ADUCANUMAB
Surrogate outcome <i>Change in a test result</i>	Less important <i>No direct patient benefit</i>	<i>Reduced visible plaques in the brain</i>
Patient outcomes <i>Improved symptoms and increased quality of life</i>	More important <i>Can be directly felt or experienced by patient</i>	<i>Not shown to noticeably improve symptoms of dementia or quality of life</i>

Serious adverse effects are common



Edema (swelling) and hemorrhage (bleeding) in the brain can cause confusion, dizziness, headache, and nausea, sometimes leading to hospitalization and long-term impairment.

Aduhelm Study Findings

The FDA approved ADUHELM primarily on evidence from 2 identically designed randomized trials, involving 3285 people with **early Alzheimer’s disease**: amyloid on brain scan, and mild cognitive impairment (80%) or mild dementia (20%), age 50-85 years old (average 70), about half were female.

Researchers randomly assigned people to get placebo or ADUHELM low or high dose for 18 months. The FDA approved the high dose (10 mg/kg).

In both trials ADUHELM reduced the amount of amyloid plaque in the brain. The trials also tested if ADUHELM affected thinking or function. Here’s what happened:

Did ADUHELM help?

Remembering, learning, reasoning, functioning measured on an 18 point dementia scale

Clinical Dementia Rating-Sum of Boxes [CDR-SB]:

0 [best] – 18 [worst]; differences smaller than 1-2 points are unlikely to be noticeable⁶

Starting CDR-SB values were 2.40 [trial 1] and 2.49 [trial 2]

Summary		High Dose group	Placebo	Compared to placebo
Trial 1: No difference. Trial 2: slightly less worsening with ADUHELM. No difference seen combining the 2 trials	Trial 1¹	1.59 point worse	1.56 point worse	0.03 points worse <i>Unlikely to be noticeable</i> <i>May be a fluke</i>
	Trial 2²	1.35 point worse	1.74 point worse	0.39 points better <i>Unlikely to be noticeable</i>
	<i>Combined</i>			0.18 points better <i>Unlikely to be noticeable</i> <i>May be a fluke</i>

Everyday mental skills (word recall, attention, language, visual-spatial skills) Mini-Mental State Exam

MMSE scale: 0 [worst] – 30 [best]; differences smaller than 1-2 points are unlikely to be noticeable

Summary		High Dose group	Placebo	Compared to placebo*
Little or no difference vs. placebo in both trials. No difference seen combining the 2 trials	Trial 1	3.6 point worse	3.5 point worse	0.1 points worse <i>Unlikely to be noticeable</i> <i>May be a fluke</i>
	Trial 2	2.7 point worse	3.3 point worse	0.6 points better <i>Unlikely to be noticeable</i>
	<i>Combined</i>			0.25 points better <i>Unlikely to be noticeable</i> <i>May be a fluke</i>

What were ADUHELM's harms?

	Recommended Dose (10mg/kg)	Placebo	Compared to placebo
Any brain abnormalities (Amyloid Related Imaging Abnormalities [ARIA E and/or H])	According to the FDA, ARIA is “usually asymptomatic, and when symptomatic, it is rarely serious, though serious asymptomatic (i.e., radiographic) and symptomatic cases can occur”. About 1% to 2% of people can have serious side effects, needing hospitalization or causing long-lasting impairment. ³		
ARIA-E: brain swelling and/or ARIA-H: brain bleeding	41%	10%	31% more
Headache	21%	16%	5% more
Confusion/Delirium/Disorientation	8%	4%	4% more
Fall	15%	12%	3% more
Diarrhea	9%	7%	2% more

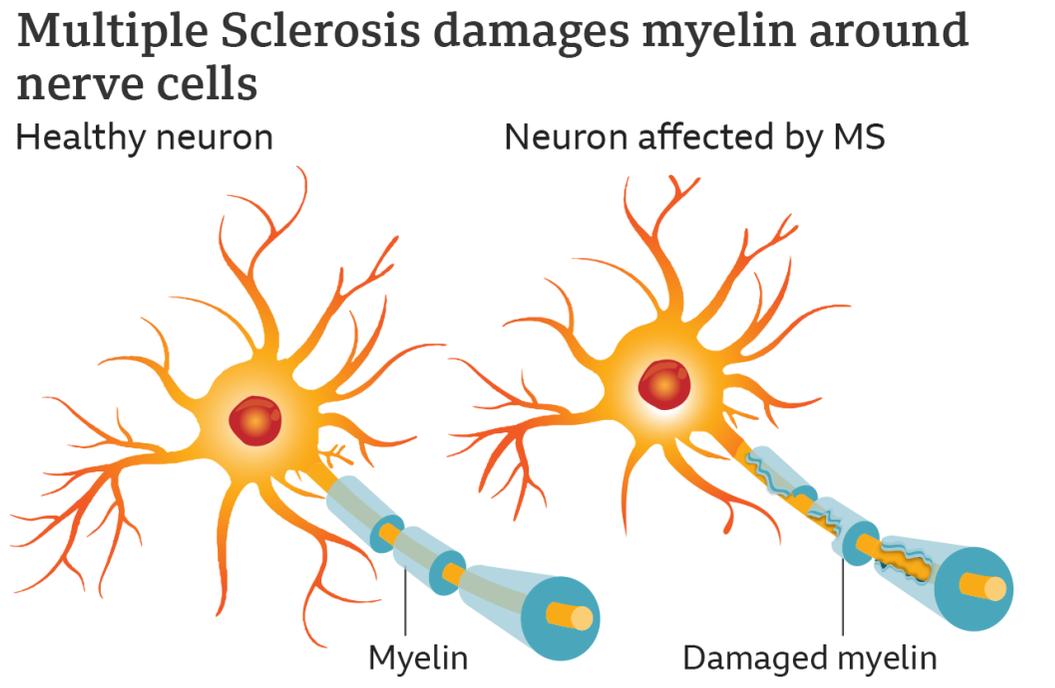
Trial descriptions and benefit data are from ¹ClinicalTrials.gov: ([NCT02477800](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02477800) [trial 1], ²[NCT02484547](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02484547) [trial 2])

³Harm data are from [FDA labeling](#) for Aduhelm, Section 5.1 and 6 (Table 3).

Copyright Lisa Schwartz Foundation for Truth in Medicine [<https://lisaschwartzfoundation.org/>]

Sclerosi multipla

- Malattia neurodegenerativa infiammatoria su base autoimmune, caratterizzata da lesioni demielinizzanti (placche) a carico del sistema nervoso centrale.



Sclerosi multipla

- 3.000.000 malati nel mondo
- 600.000 malati in Europa
- 100.000 malati in Italia

- Rapporto femmine/maschi 2,5 - 3/1

TABLE 1 Commercially available interferons approved for the treatment of RRMS

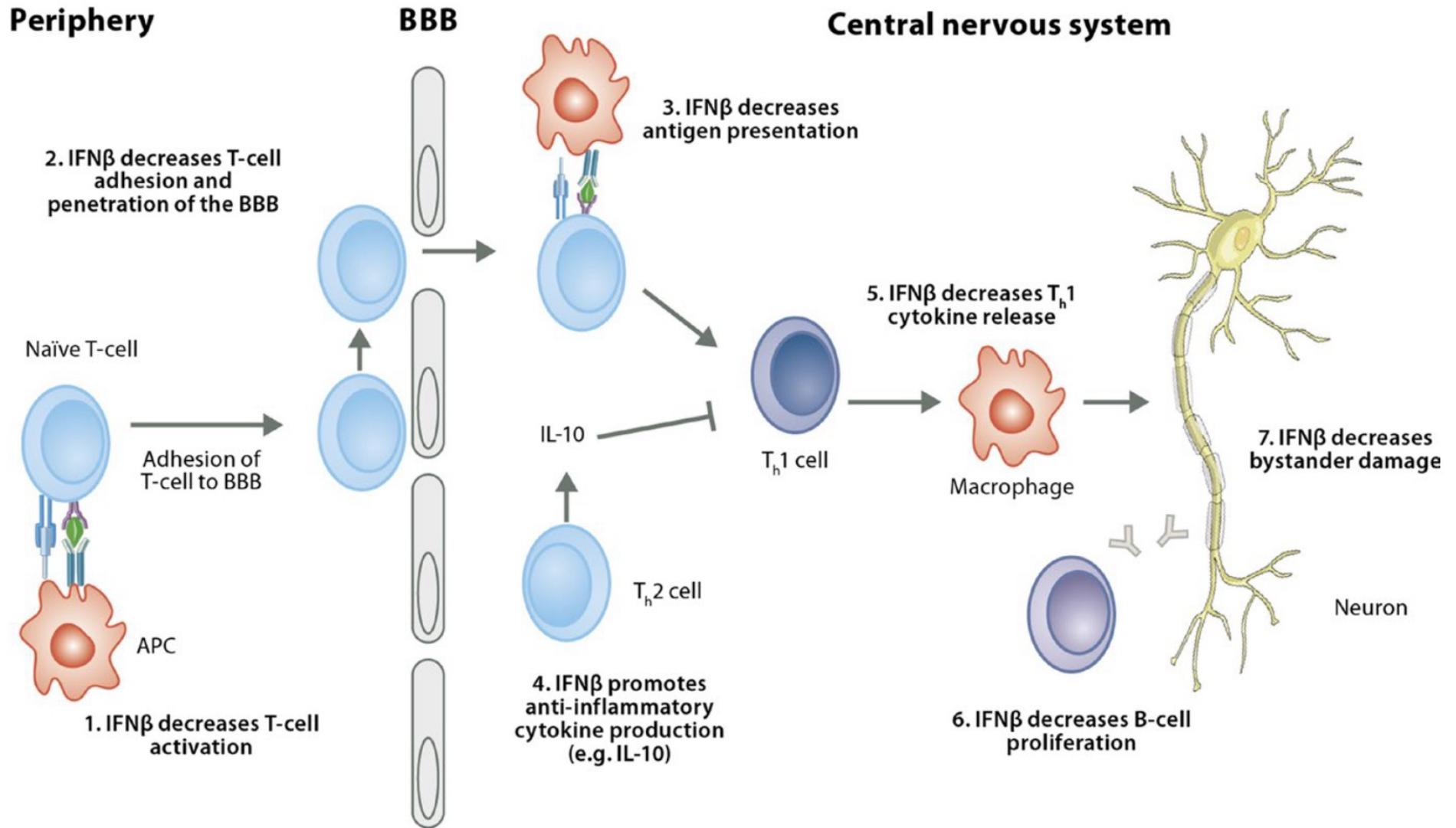
Product	Active substance	Adm.	Dosing	PK assessments	Qualitative composition	Neutralizing antibodies
Plegridy [®]	Pegylated IFN beta-1a	SC	125 µg/2 weeks	$T_{1/2}$: 78 ± 15 hr T_{max} : 1–1.5 days (SmPC Plegridy)	Recombinant from CHO-K1 covalently linked with methoxy-polyethyleneglycol (SmPC Plegridy)	<1% (SmPC Plegridy)
Betaferon [®] / Extavia [®]	IFN beta-1b	SC	250 µg/every other day	$T_{1/2}$: 5 hr T_{max} : 1–8 hr Bioavailability: ~50% (SmPC Betaferon)	Recombinant from <i>Escherichia coli</i> (SmPC Betaferon)	23%–41% (SmPC Betaferon)
Avonex [®]	IFN beta-1a	IM	30 µg weekly	$T_{1/2}$: 10 hr T_{max} : 5–15 hr Bioavailability: ~40% (SmPC Avonex)	Recombinant from CHO-K1 (SmPC Avonex)	5%–8% (SmPC Avonex)
Rebif [®]	IFN beta-1a	SC	22 µg 3 × weekly 44 µg 3 × weekly	Apparent $T_{1/2}$: 50–60 hr T_{max} : 8 hr (SmPC Rebif, 2015)	Recombinant from CHO-K1 (SmPC Rebif, 2015)	24% (SmPC Rebif, 2015) 13–14% (SmPC Rebif, 2015)

The data are extracted from the respective summary of product characteristics and the pivotal registration studies performed in RRMS. IFN, Interferon; $T_{1/2}$, half-life assessed with neopterin; T_{max} , time to peak concentration assessed with neopterin; CHO-K1, Chinese hamster ovary cells; ITT, intention-to-treat. SC, subcutaneous; IM, intramuscular ITT, intention-to-treat analysis; CDP, confirmed disability progression. Data in the columns Active substance, Administration, Dosing, PK assessments, Qualitative composition and neutralizing antibodies are collected from the respective Summary of Product Characteristics (SmPC). NS, not significant.

*Compared to placebo.

†Proportion with ≥1-point progression on EDSS.

There are several proposed mechanisms of action for IFN β in MS



Ag=antigen; APC=antigen-presenting cell; BBB=blood-brain barrier; IFN=interferon; IL=interleukin; MMP=matrix metalloproteinase; MS=multiple sclerosis; TH=T helper cell
 Figure adapted from: Wiendl H et al. Expert Opin Investig Drugs 2003;12:689-712

Interferoni

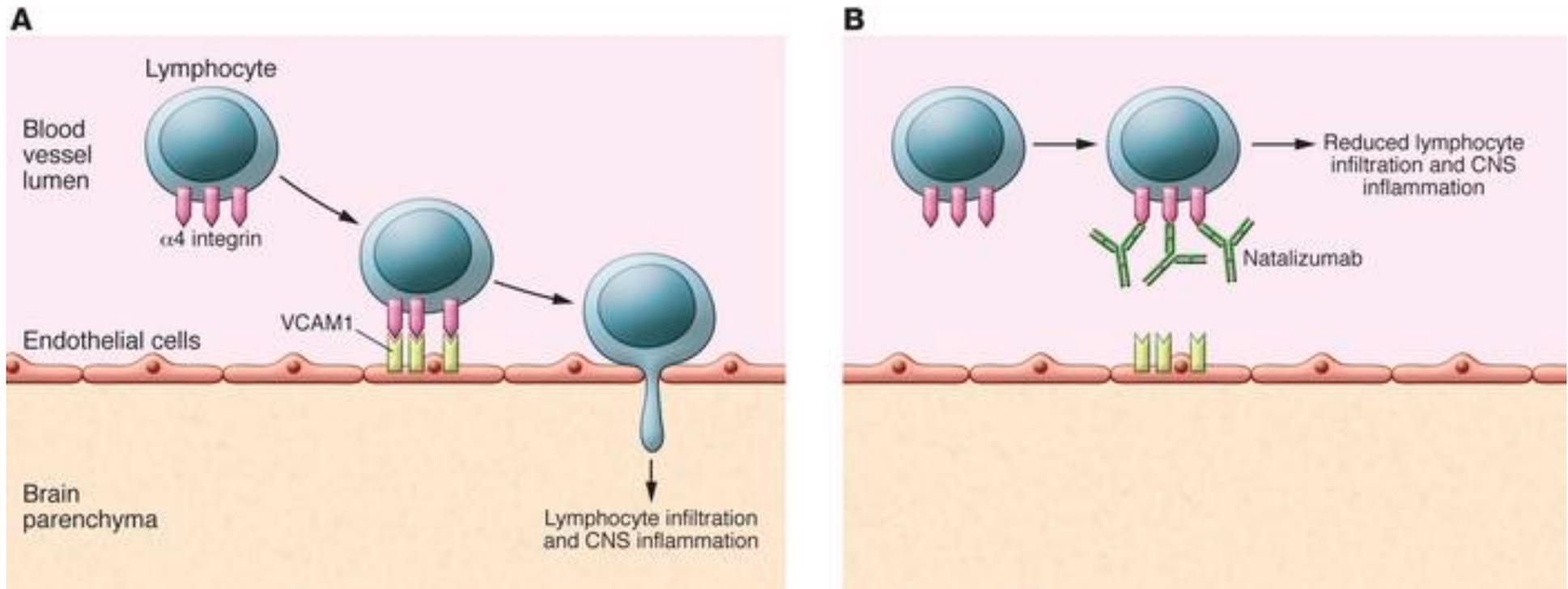
TABLE 1 (Continued)

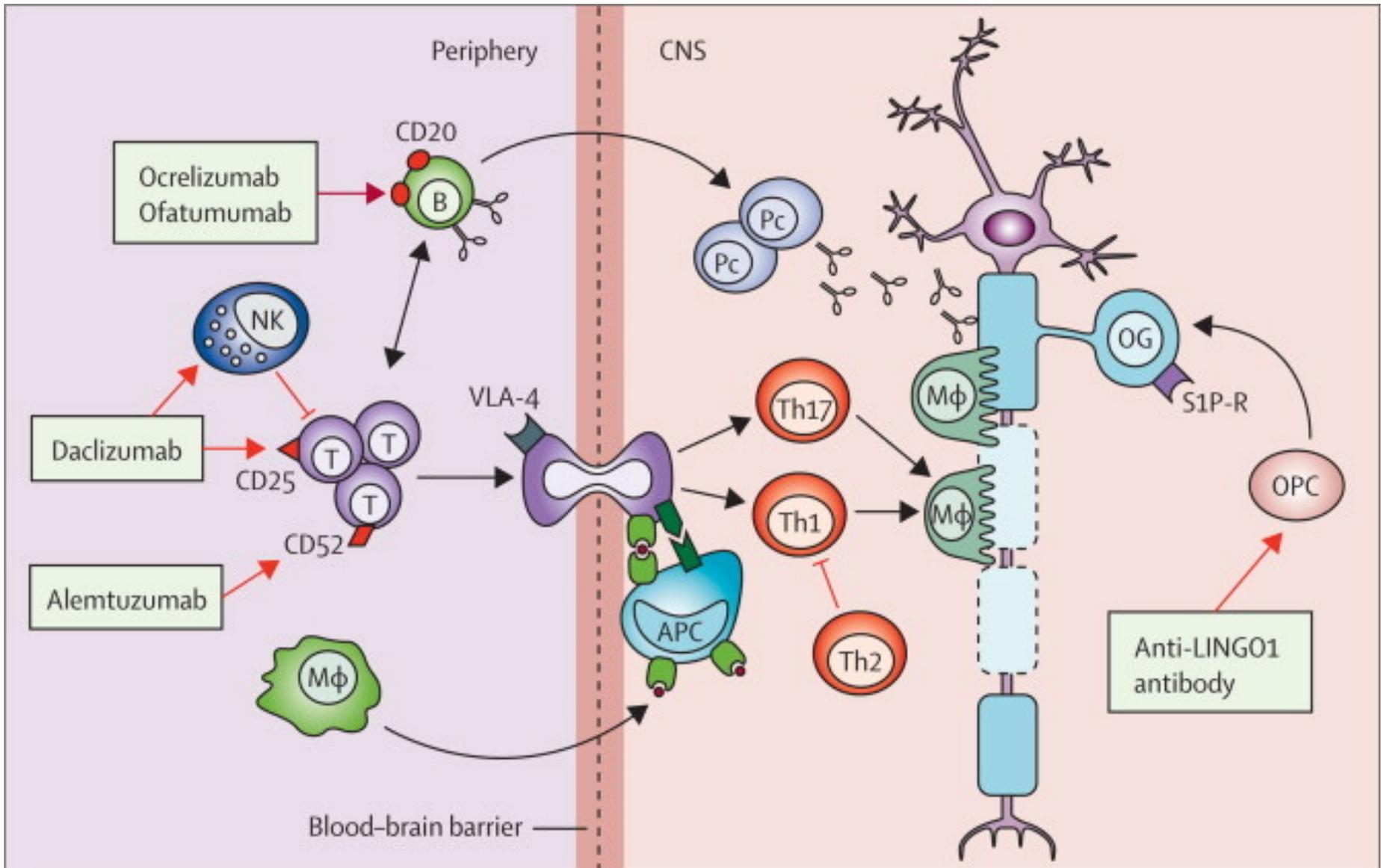
Reduction of the annual attack rate (ITT)*	Reduction of disability progression (EDSS) [†]	Common adverse effects		References
		Flu-like symptoms	Injection site reactions	
36% (Calabresi et al., 2014)	38% (12 w-CDP; Calabresi et al., 2014) 54% (24 w-CDP; SmPC Plegridy, 2014)	47% (SmPC Plegridy, 2014)	66% (SmPC Plegridy, 2014)	SmPC Calabresi et al. (2014) Kieseier et al. (2014)
30% (The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, 1993)	31% (The IFNB Multiple Sclerosis Study Group, 1993) (12 w-CDP; SmPC Betaferon, 2016) NS	52% (SmPC Betaferon, 2016)	85% (SmPC Betaferon, 2016)	SmPC The IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993)
32% (Jacobs et al., 1996)	37% (24 w-CDP; Jacobs et al., 1996)	61% (Jacobs et al., 1996)	15% (Jacobs et al., 1996)	SmPC Jacobs et al. (1996) Rudick et al. (1997)
27% (PRISMS Study Group, 1998) 33% (PRISMS Study Group, 1998)	30% (12w-CDP; SmPC Rebif, 2015) 39% (12w-CDP; SmPC Rebif, 2015)	70% (SmPC Rebif, 2015)	30% (SmPC Rebif, 2015)	SmPC PRISMS Study Group, (1998)

SM: anticorpi monoclonali

Farmaco	Dosaggio	Frequenza di somministrazione	Via di somministrazione
Natalizumab	300 mg	Ogni 4 settimane	i.v.
Alemtuzumab	12 mg	5 gg consecutivi (primo ciclo) 3 giorni consecutivi (secondo ciclo dopo 12 mesi)	i.v.
Ocrelizumab	600 mg	2 iniezioni (300 mg) a 14 giorni di distanza (primo ciclo), poi 1 iniezione (600 mg) ogni 6 mesi	i.v.
Daclizumab	Ritirato dal commercio nel marzo 2018 a seguito di alcuni casi di gravi disturbi infiammatori a livello cerebrale		

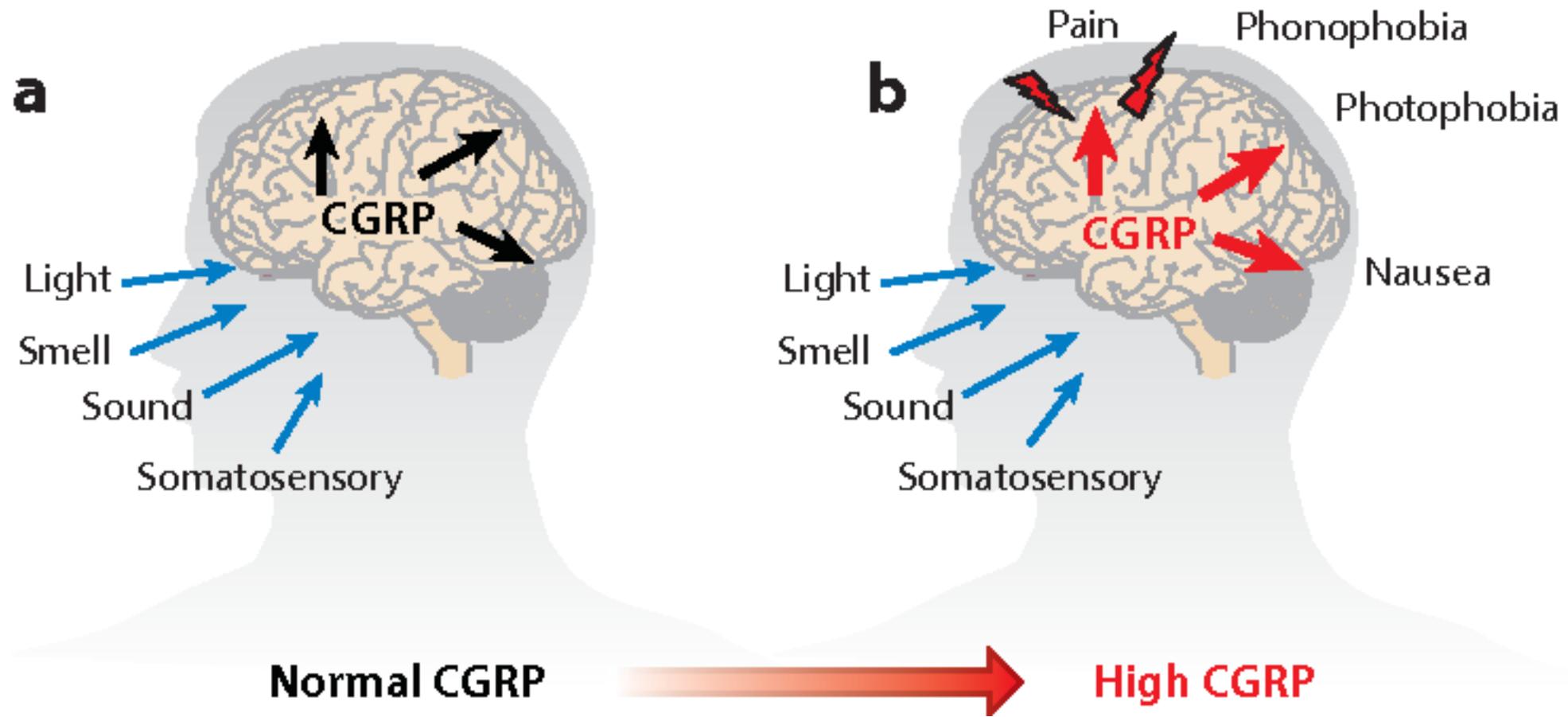
Natalizumab

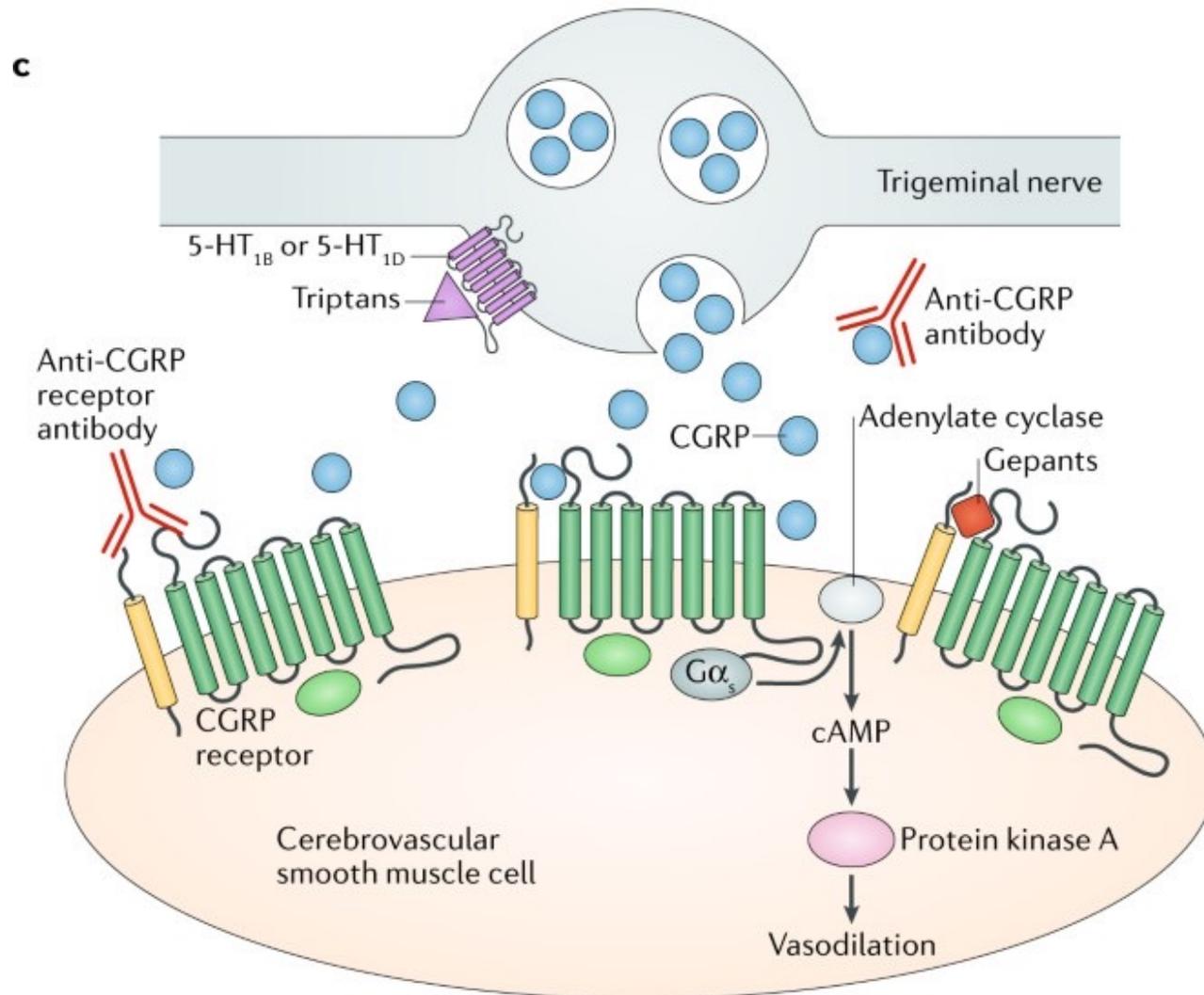
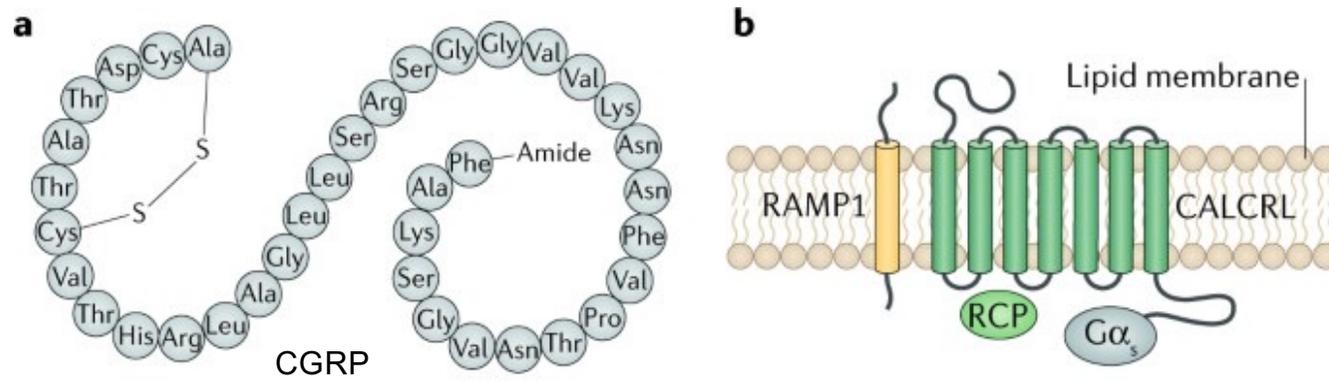




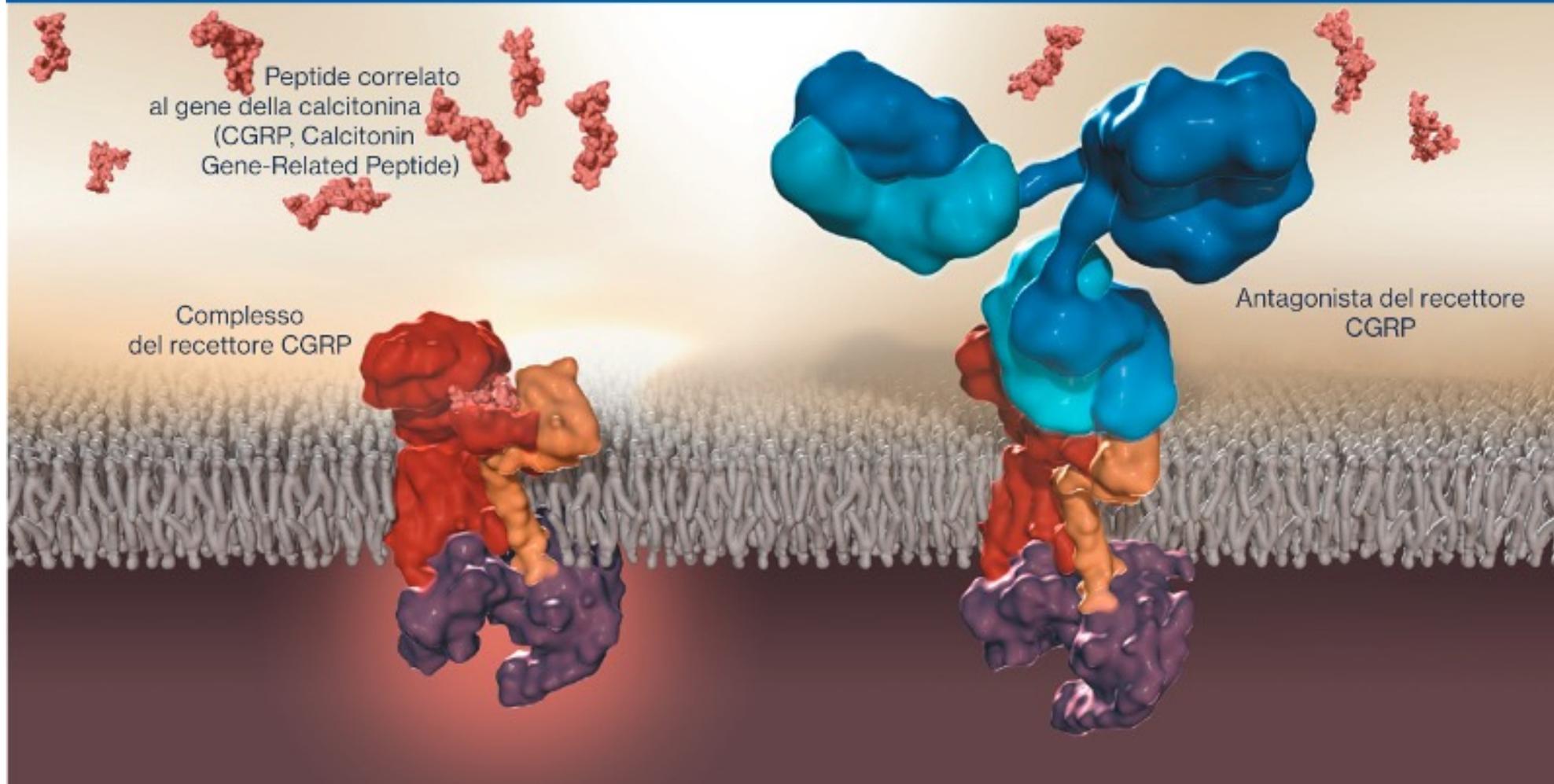
Emicrania

- Indicata dall'OMS come una delle sei malattie maggiormente debilitanti
- Colpisce principalmente tra i 35 e i 45 anni ed è tre volte più frequente nelle donne
- Patogenesi complessa e multifattoriale, studi recenti indicano un'attivazione alterata del sistema nocicettivo trigemino-vascolare, influenzata da fattori genetici e ambientali, è coinvolto il peptide correlato al gene della calcitonina (CGRP)





Meccanismo d'azione di un antagonista del recettore CGRP



Anticorpi monoclonali per l'emicrania

Farmaco	Nome commerciale	Posologia	Costo x 1 mese di terapia
Erenumab	Aimovig®	70 mg ogni 4 settimane s.c.	633,03 €
Fremanezumab	Ajovy®	225 mg ogni mese o 675 mg ogni 3 mesi s.c.	701,43 €
Galcanezumab	Emgality®	120 mg 1 x al mese s.c.	666,35

Ottimo profilo di sicurezza

Fattori di crescita

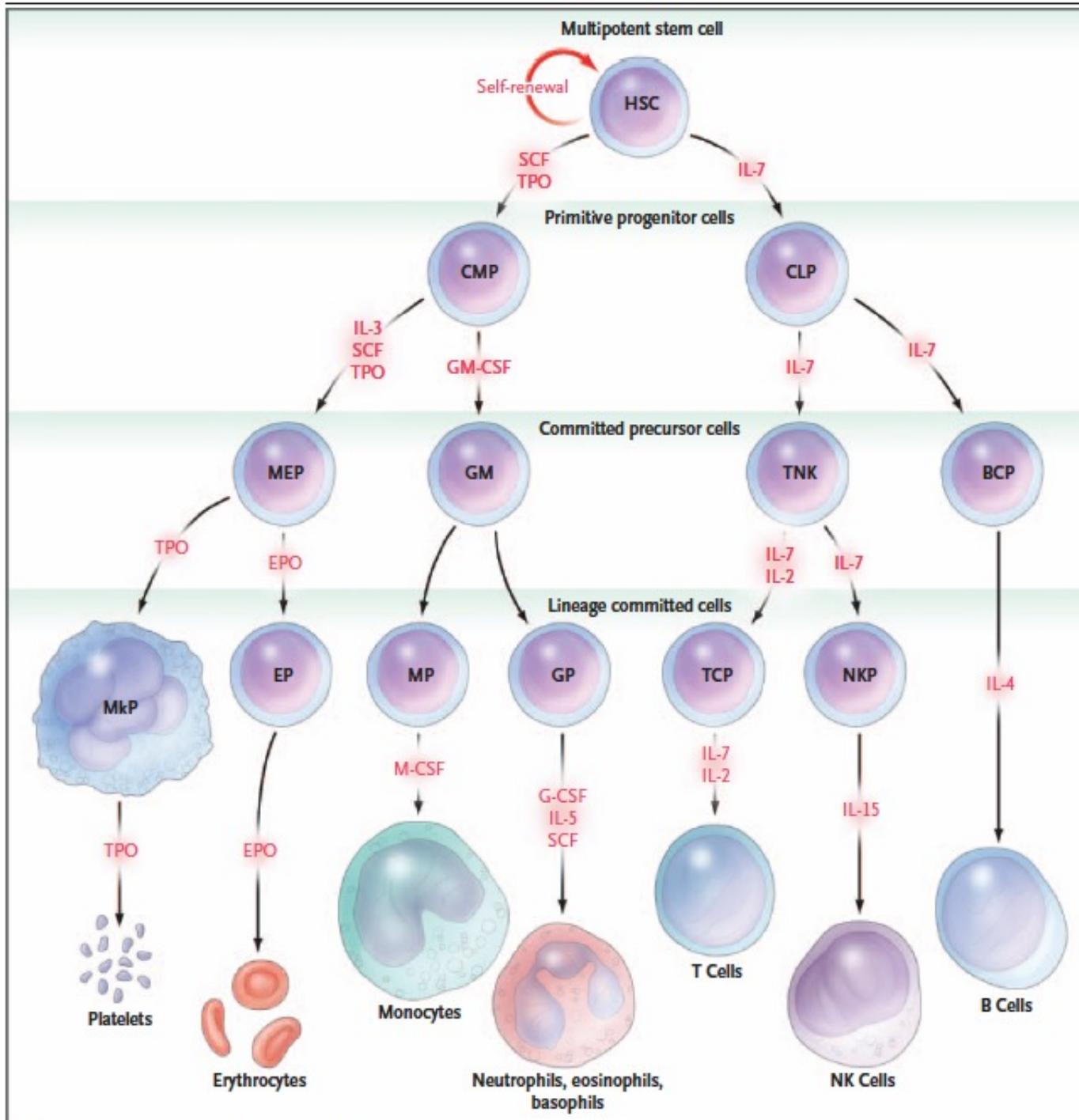


Figure 1. A General Model of Hematopoiesis.

Fattori di crescita

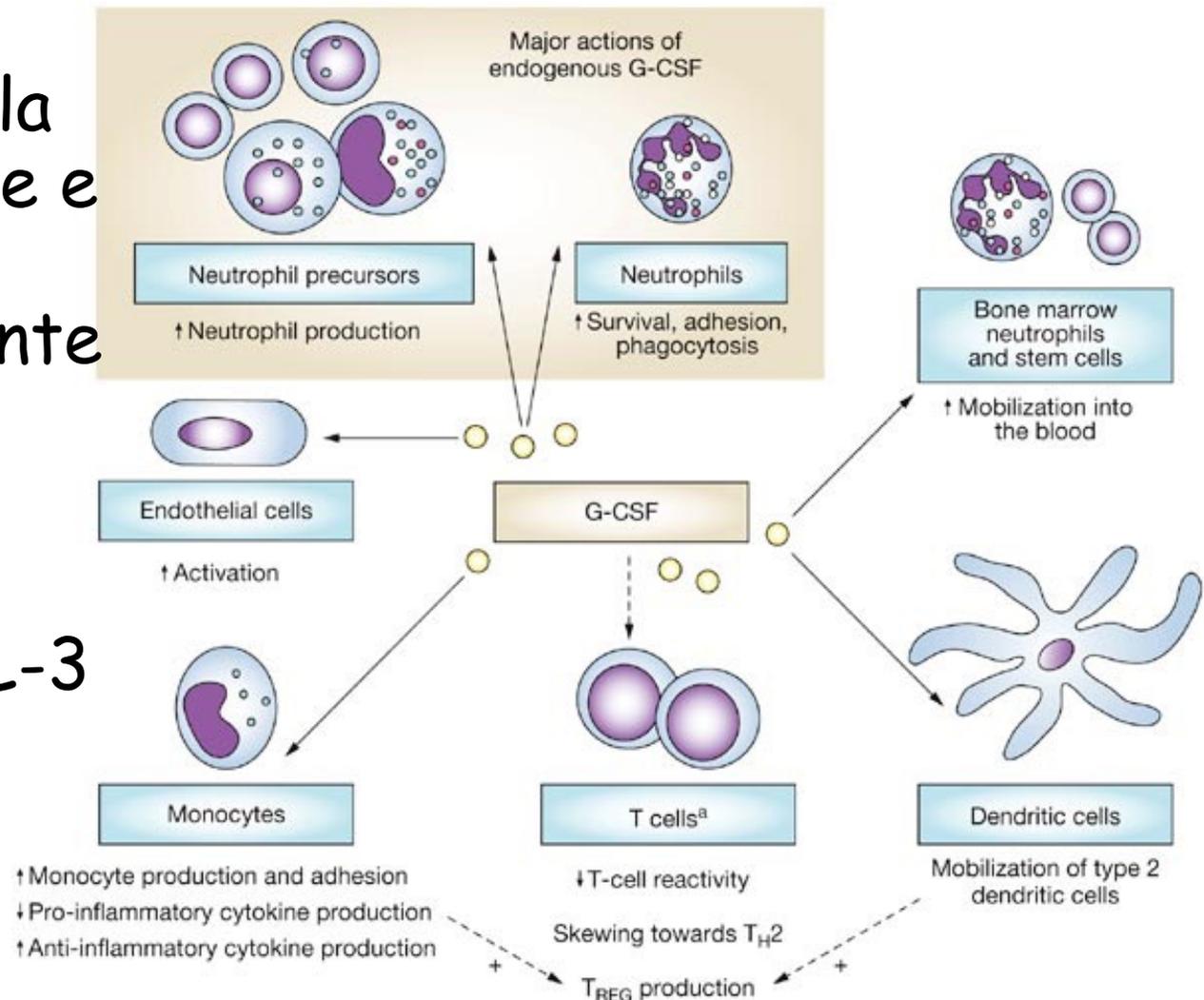
- Glicoproteine che stimolano la proliferazione e la differenziazione di una o più linee cellulari mieloidi.
- Attualmente sono state prodotte forme ricombinanti di diversi fattori di crescita che comprendono:
 - G-CSF (fattore stimolante le colonie di granulociti)
 - GM-CSF (fattore stimolante le colonie di granulociti e macrofagi)
 - M-CSF (fattore stimolante le colonie di monociti e macrofagi)
 - Trombopoietina
 - PIXY321 proteina di fusione di GM-CSF e Il-3 con potenzialità di fattore di crescita sia per le linee cellulari mieloidi che per i megacariociti

Fattori di crescita emopoietici e linfopoietici

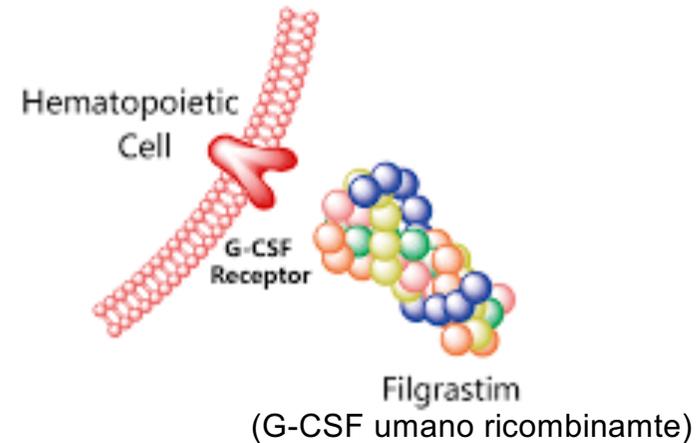
- Sono prodotti da numerose cellule midollari e tessuti periferici
- Sono glicoproteine attive a bassissime concentrazioni (10^{-12} - 10^{-10} mol/l)
- Sono in genere attivi su più di una linea cellulare

G-CSF: fattore stimolante le colonie di granulociti

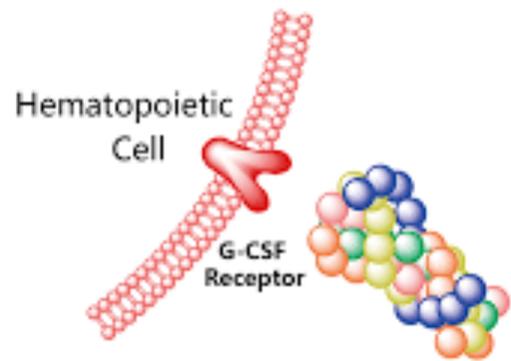
- Stimola la proliferazione, la differenziazione e la funzione preferenzialmente delle linee granulocitarie
- Ha un ruolo sinergico con IL-3 e GM-CSF nello stimolare altre linee cellulari



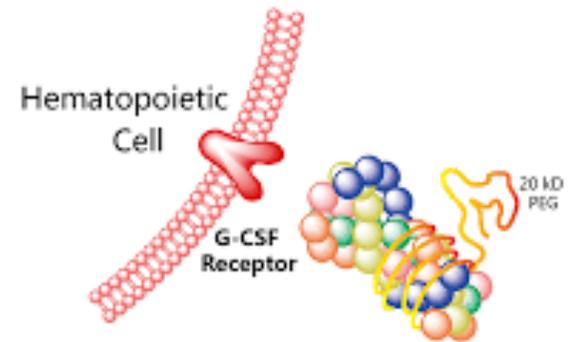
G-CSF umano ricombinante (filgrastim)



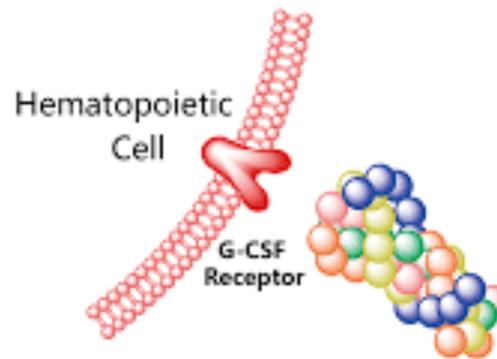
- È una proteina di 175 aa, prodotta in *Escherichia coli*
- A differenza del G-CSF non è glicosilata e contiene una metionina N-terminale supplementare
- Aumenta principalmente la produzione di neutrofili e ne potenzia l'azione fagocitica e citotossica



Filgrastim
(G-CSF umano ricombinante)



Pegfilgrastim
Lipegfilgrastim



Lenograstim (forma glicosilata di G-CSF umano ricombinante)

G-CSF umano ricombinante: usi clinici

- Nella neutropenia grave conseguente a trapianto autologo di midollo e a chemioterapia ad alte dosi
- Nel trattamento di neutropenie congenite gravi
- In pazienti con anemia aplastica
- Nella neutropenia dei malati di AIDS in trattamento con zidovudina
- Viene somministrato per via sottocutanea o e.v. rapida
- Viene somministrato giornalmente e il dosaggio viene aggiustato sulla base degli esami emocitometrici
- La terapia viene usualmente continuata per 14-21 giorni

G-CSF umano ricombinante: effetti collaterali

Nei pazienti che ricevono dosi elevate
per un tempo protratto

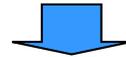
- Dolori ossei di media intensità
- Reazioni cutanee locali dopo somministrazione sottocutanea
- Rare reazioni allergiche

G-CSF umano ricombinante: effetti collaterali

- Sindrome da perdita capillare. Si tratta di una condizione grave che può essere letale e che si manifesta con ipotensione, ipoalbuminemia, edema ed emoconcentrazione.
- Molto rara
- Rivolgersi immediatamente al medico in caso di edema, aumento della frequenza delle minzioni, difficoltà respiratoria, gonfiore addominale e astenia.

Eritropoietina

1977: Miyake isola e purifica l'eritropoietina dall'urina umana



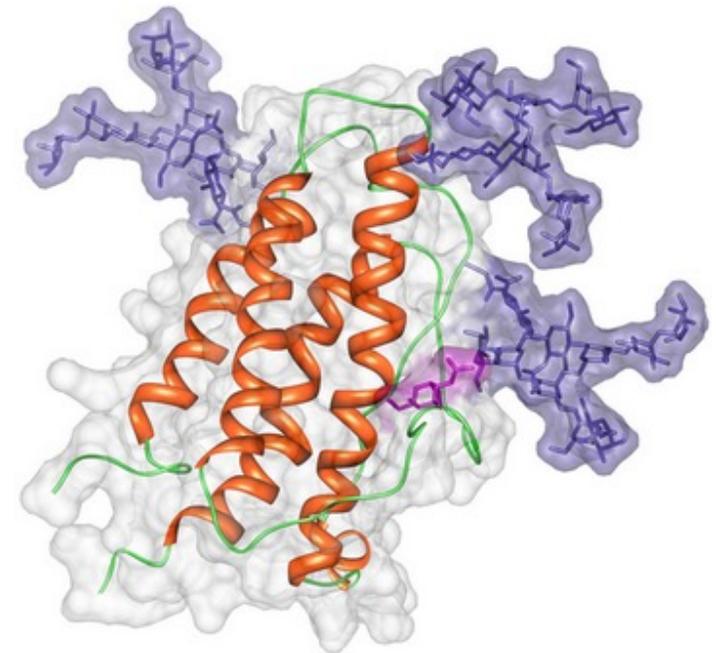
1985: il gene che codifica per la proteina viene clonato ed espresso in cellule di mammifero (CHO)



Viene prodotto un ormone umano ricombinante (epoietina), quasi indistinguibile dell'eritropoietina umana

Eritropoietina

- È il più importante regolatore della proliferazione delle cellule progenitrici eritroidi e in sua assenza è invariabilmente presente anemia grave
- È una proteina di 193 aa, i primi 27 dei quali vengono rimossi durante la secrezione; si ha quindi la rimozione del gruppo aminoacidico C-terminale risultante in una proteina funzionale di 165 aa
- La proteina è glicosilata (4 siti di glicosilazione; gli oligosaccaridi possono avere 0, 2, 3 o 4 residui di acido sialico) ed ha un PM di 30400 Da.
- La glicosilazione è importante per prolungare la vita dell'eritropoietina in circolo; la rimozione dell'acido sialico dalla molecola risulta in una rapida inattivazione a livello epatico e scomparsa dal circolo.



• Il recettore per l'eritropoietina è una proteina di 508 aa (66 kDa) con un unico dominio transmembrana, che fa parte della superfamiglia dei recettori per le citochine

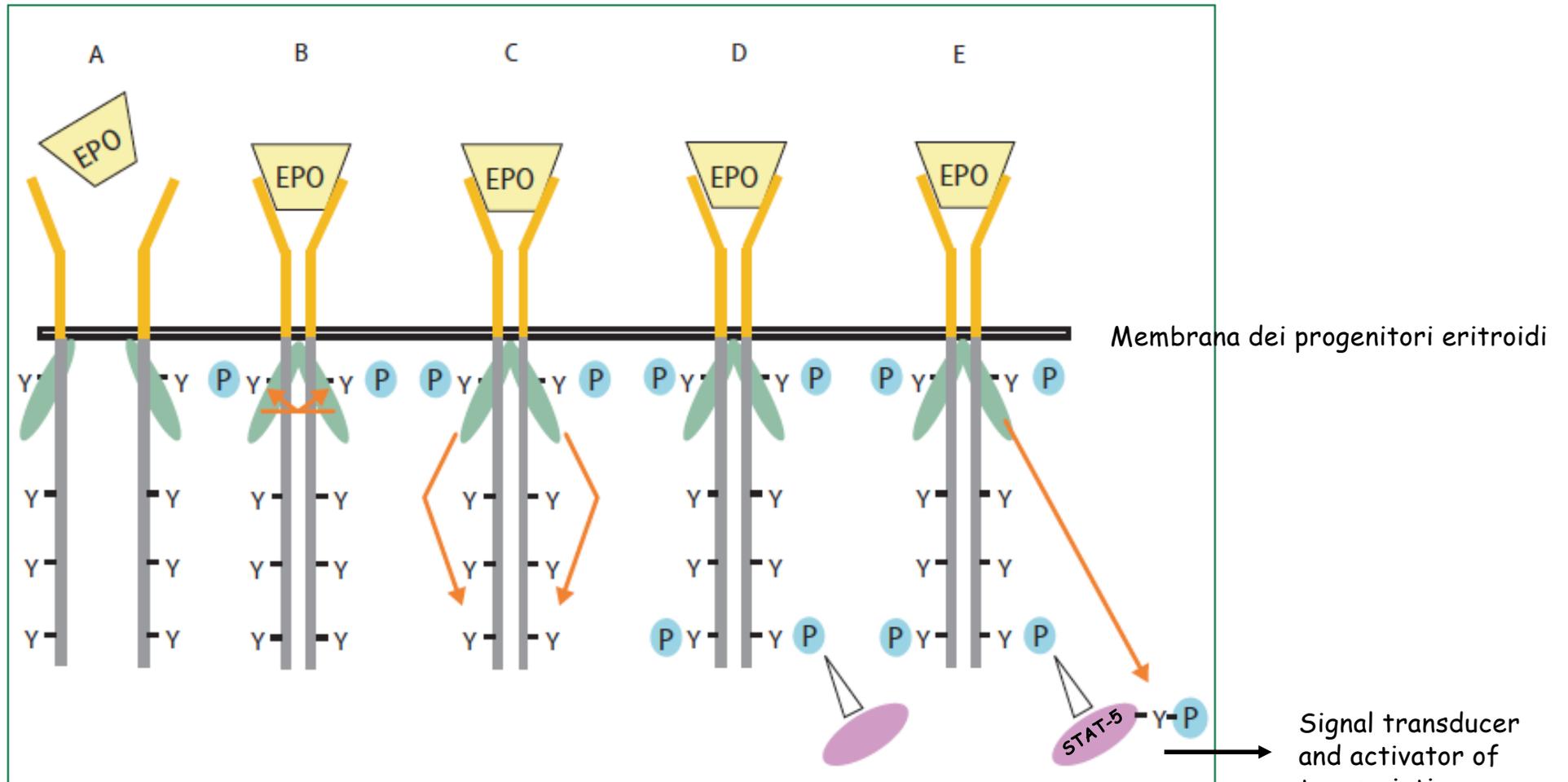
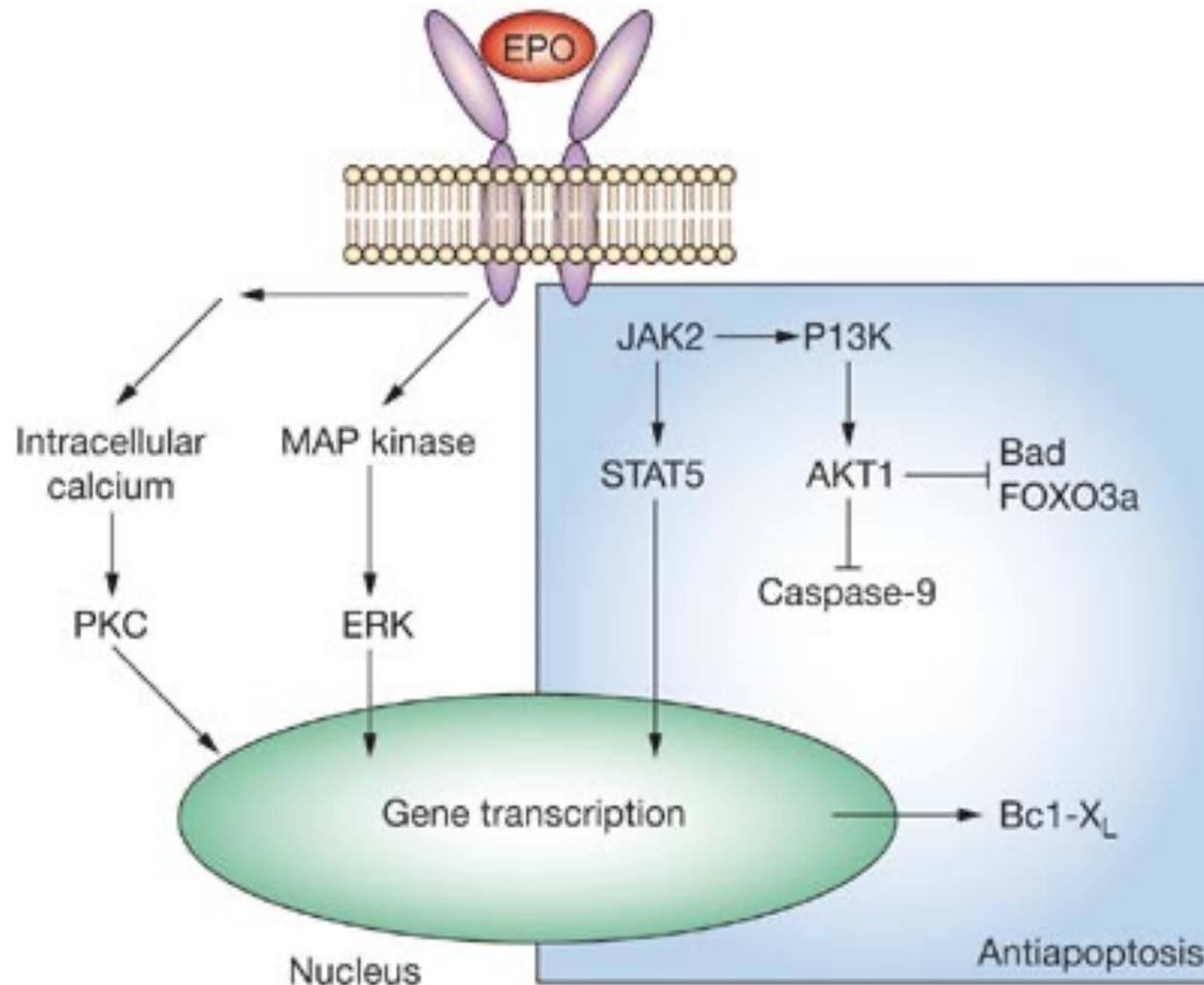


Figure 1: Schematic representation of intracellular mechanism of action of erythropoietin (EPO)

Adapted from Lacombe and Mayeux¹¹ with permission. EPO activation leads to dimerisation of the EPO receptor (A). The pre-associated JAK2 kinases are in close contact and activated by transphosphorylation (B). The tyrosine residues of the EPO receptor are then phosphorylated (C,D), providing docking sites for intracellular signalling proteins with Src homology 2 (SH2) domains (E).

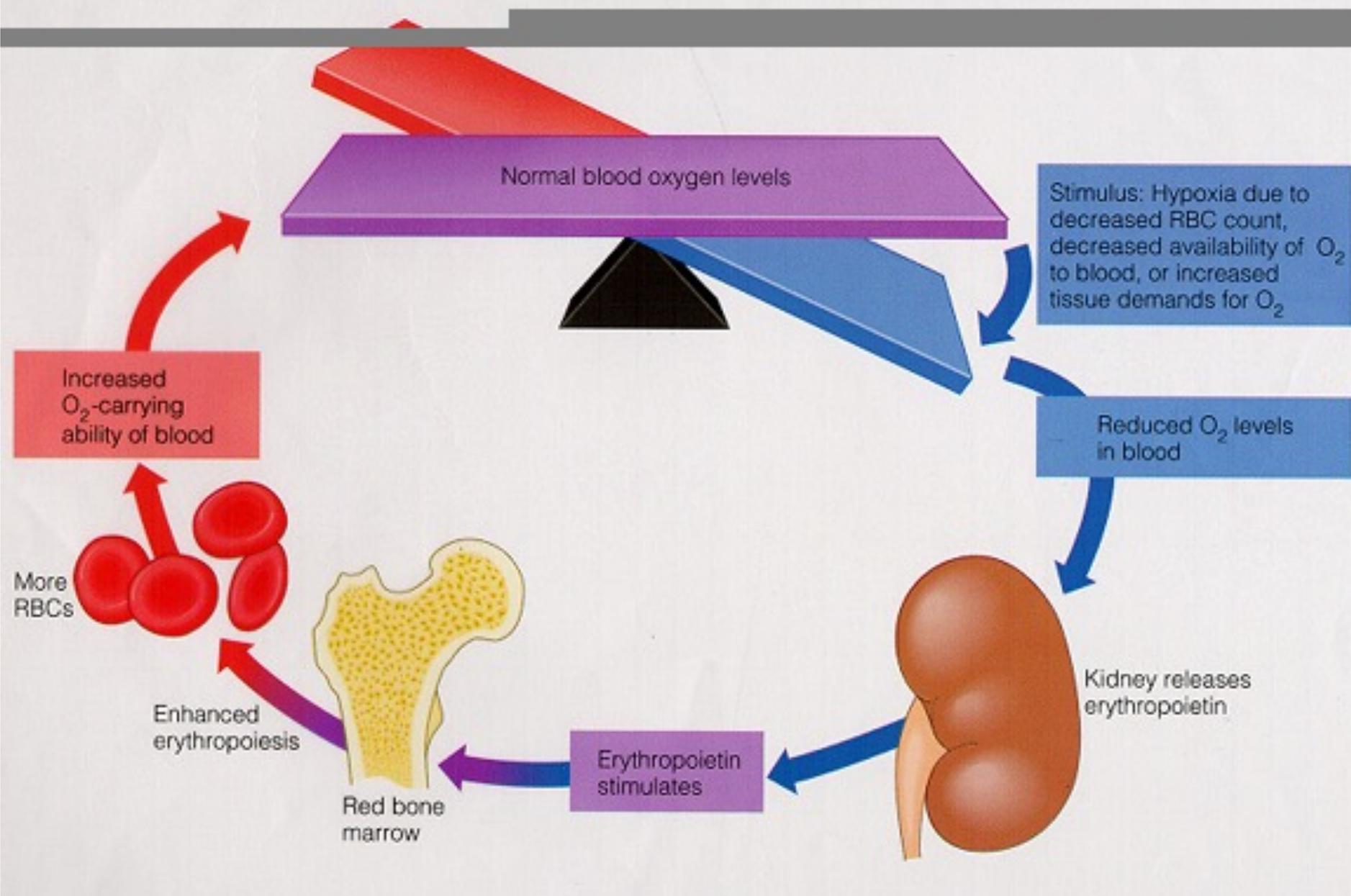
Signal transducer and activator of transcription
 ↓
 Cell proliferation
 ↓
 Inhibition of apoptosis in erythroid progenitor cells

Molecular actions of erythropoietin

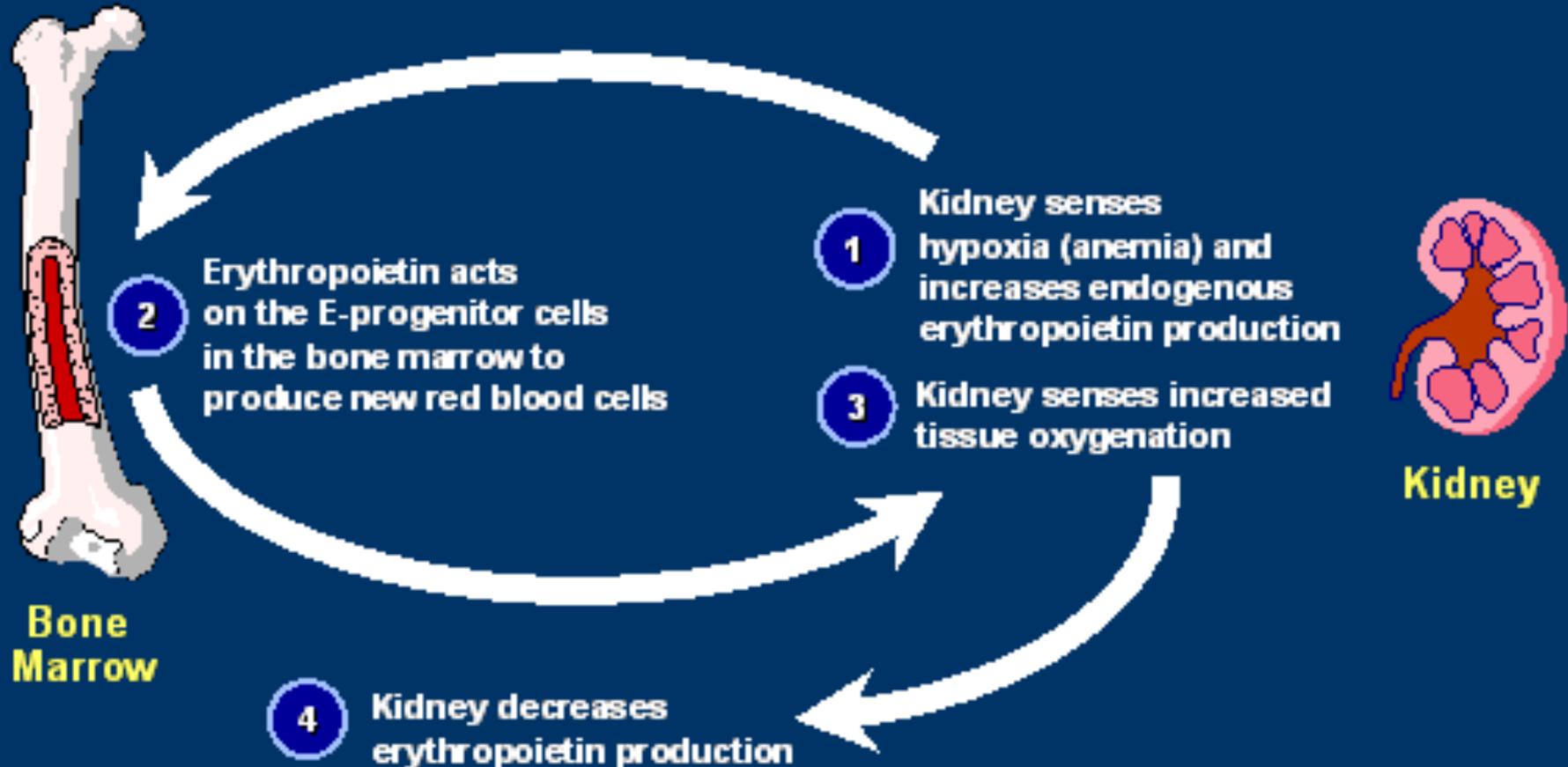


Fliser D *et al.* (2006) Mechanisms of Disease: erythropoietin—an old hormone with a new mission?
Nat Clin Pract Cardiovasc Med 3: 563-572 doi:10.1038/ncpcardio0609

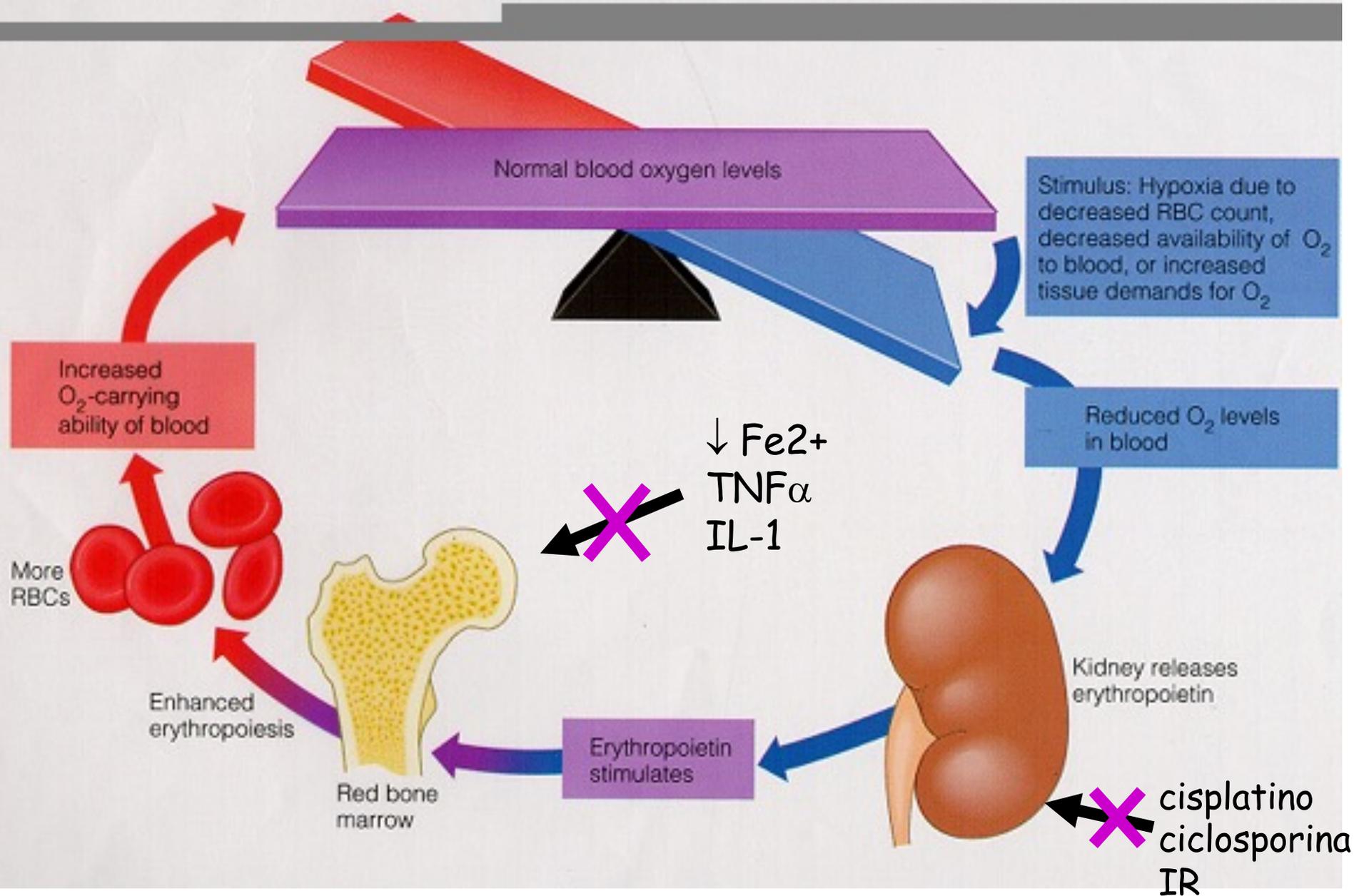
Erythropoietin mechanism for regulating the rate of erythropoiesis (Figure 18.6)



Erythropoiesis



Erythropoietin mechanism for regulating the rate of erythropoiesis (Figure 18.6)



Eritropoietina umana ricombinante: epoietina alfa

- Ha la stessa composizione aminoacidica dell'eritropoietina naturale ed è quasi identica anche per quanto riguarda gli oligosaccaridi
- Viene somministrata i.v. o s.c.
- Ha una emivita plasmatica di circa 10 ore (si somministra 2 - 3 x alla settimana)
- La dose viene aggiustata sulla base dell'ematocrito (valori normali 37-46% nelle donne, 42-52% nell'uomo).

Eritropoietina: impieghi terapeutici

- Anemia da insufficienza renale cronica
- Anemia associata a chemioterapia antineoplastica (cisplatino)
- Pazienti con sindrome da immunodeficienza acquisita in terapia con zidovudina
- Nell'anemia associata a malattie croniche (artrite reumatoide, neoplasie)
- Nelle autotrasfusioni
- Nell'anemia del prematuro
- *Nel doping*



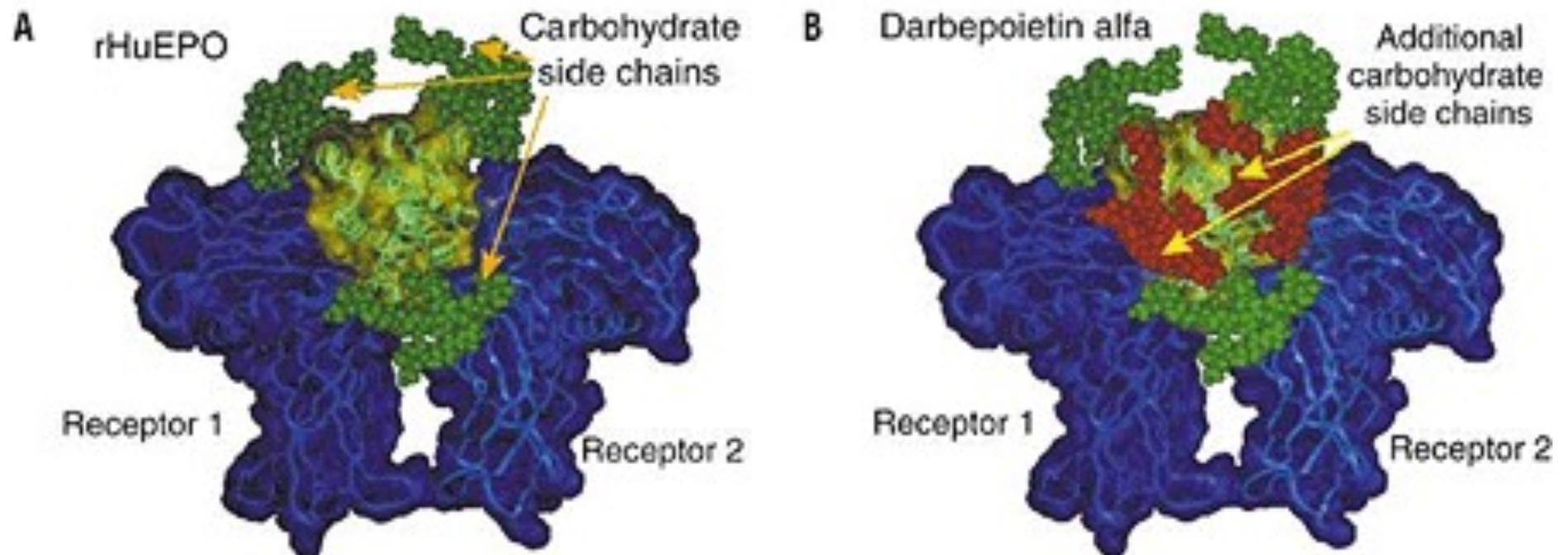
Eritropoietina: effetti collaterali

- Ipertensione
- Trombosi vascolare
- Sintomi pseudoinfluenzali e dolori ossei
- Immunogenicità molto bassa (ma alcuni pazienti hanno sviluppato anticorpi neutralizzanti contro la proteina ricombinante che sono cross reattivi con l'eritropoietina nativa e hanno causato aplasia delle cellule della serie rossa)

- in Italia sono disponibili sul mercato sei differenti eritropoietine: epoetina alfa (Eprex[®], prodotto di riferimento; Binocrit[®] e Abseamed[®], biosimilari), epoetina beta (Neorecormon[®]), epoetina zeta (Retacrit[®], biosimilare dell'epoetina alfa), metossipoli-etileneglicol-epoetin beta (Mircera[®]) e epoetina teta (Eporatio[®]) darbepoetina alfa (Aranesp[®]).

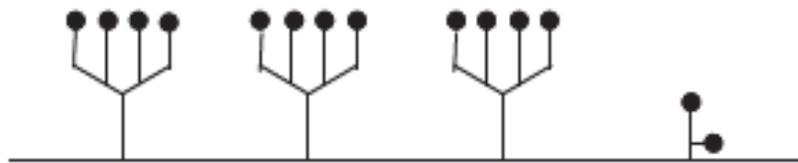
Darbepoetina alfa

- L'emivita dell'eritropoietina dipende dal numero di residui di acido sialico presenti sulla molecola.



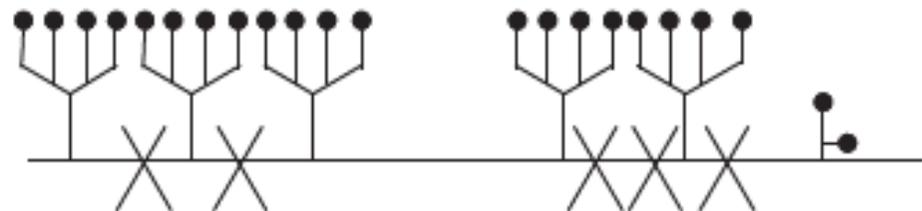
Darbepoetina alfa

- Nella darbepoetina la sequenza aminoacidica è stata modificata in cinque punti in modo permettere l'aggiunta di due catene oligosaccaridiche, con un aumento dei residui di acido sialico da 14 a 22, senza causare alterazioni della struttura terziaria della proteina o della sua affinità per il recettore, ma allungando l'emivita della molecola che può quindi essere somministrata una sola volta alla settimana o ogni 2 settimane.



Epoetin

- 3 N-linked carbohydrate chains
- ≤ 14 sialic acid residues
- 30 400 Da
- 40% carbohydrate



Darbepoetin alfa

- 5 N-linked carbohydrate chains
- ≤ 22 sialic acid residues
- 37 100 Da
- 52% carbohydrate