

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
Farmacologia e Tossicologia

Ciclo XXII

Settore scientifico-disciplinare di afferenza: BIO/14 Farmacologia

ANALISI FARMACOEPIDEMIOLOGICA
DELLE MODALITÀ DI IMPIEGO E DELLA TOLLERABILITÀ
DEI TRATTAMENTI FARMACOLOGICI PER LA SCLEROSI MULTIPLA

Presentata da: Dott. Carlo Piccinni

Coordinatore Dottorato

Prof. Giorgio Cantelli Forti

Relatore

Dott. Alberto Vaccheri

Esame finale anno 2010

*“Osservare poco e ragionare molto porta a sbagliare;
osservare molto e ragionare poco porta alla verità”*
Alexis Carrel

INDICE

<u>PREMESSA GENERALE.....</u>	<u>6</u>
<u>PARTE 1 - IL MONITORAGGIO REGIONALE (EMILIA-ROMAGNA) DEI TRATTAMENTI DISEASE MODIFYING PER LA SCLEROSI MULTIPLA</u>	<u>7</u>
<u>INTRODUZIONE</u>	<u>7</u>
Quadro generale della sclerosi multipla	7
<i>Evidenze epidemiologiche.....</i>	7
<i>Fisiopatologia</i>	8
<i>Diagnosi e decorso clinico.....</i>	10
Trattamento della sclerosi multipla	12
<i>Terapia sintomatica.....</i>	13
<i>Trattamento delle recidive</i>	13
<i>Terapie disease modifying</i>	14
<i>Caratteristiche dei trattamenti disease modifying.....</i>	15
<i>Terapie emergenti.....</i>	19
Outcome per valutare i farmaci.....	20
<i>Alterazioni delle immagini di risonanza magnetica</i>	20
<i>Liquor cefalorachidiano</i>	21
<i>Tasso di ricadute</i>	21
<i>Valutazione del grado di disabilità.....</i>	21
Efficacia dei Disease Modifying Drug	23
<i>Effetto del farmaco vs. efficacia del trattamento</i>	25
Gestione della terapia	26
<i>Approccio alla terapia: quando iniziarla</i>	27
<i>Induction vs. escalation therapy.....</i>	28
<i>La situazione italiana e il monitoraggio in Emilia-Romagna</i>	29
<u>OBIETTIVO</u>	<u>30</u>
<u>METODI</u>	<u>31</u>
Metodi di analisi	34
Convalida del metodo.....	35
<i>L'utilità dei database nello studio dei trattamenti per la sclerosi multipla.....</i>	35
<u>RISULTATI.....</u>	<u>36</u>
Andamento della raccolta dati	36

<i>Centri attivi e Medici Responsabili</i>	37
<i>Frequenza cumulativa dei pazienti inseriti</i>	37
Descrizione dei pazienti	38
Descrizione dei trattamenti.....	43
<i>Sottotipo di sclerosi multipla</i>	46
<i>Grado di disabilità</i>	47
<i>Esito MRI cerebrale</i>	48
<i>Sesso ed età</i>	48
<i>Descrizione delle interruzioni del trattamento</i>	49
<i>Cambiamenti dei trattamenti</i>	50
Descrizione delle reazioni avverse.....	51
Descrizione dei follow-up e delle ricadute	54
MSSS (Multiple Sclerosis Severity Score)	55
<u>DISCUSSIONE</u>	55
<u>PARTE 2 - IL REGISTRO NAZIONALE TYSABRI (NATALIZUMAB)</u>	60
<u>INTRODUZIONE</u>	60
Gli anticorpi monoclonali nella sclerosi multipla.....	60
<i>Natalizumab</i>	61
<i>Rituximab</i>	61
<i>Alemtuzumab</i>	62
<i>Daclizumab</i>	63
Il natalizumab nella sclerosi multipla	63
<i>Meccanismo d'azione</i>	63
<i>Gli studi clinici</i>	66
Problemi di sicurezza e decisioni delle autorità regolatorie	67
<i>Dati di sicurezza dai trial</i>	67
<i>La PML e le decisioni regolatorie FDA ed EMEA</i>	68
<i>La decisione dell'AIFA</i>	69
<i>Chi sono i non responder all'interferone β</i>	70
<i>Danno epatico da natalizumab</i>	71
<u>OBIETTIVO</u>	71
<u>METODI</u>	72
La creazione del Registro Tysabri.....	72
<i>Il Tavolo Neurologico</i>	72

<i>I criteri Italiani per l'eleggibilità al trattamento con natalizumab</i>	72
<i>I requisiti dei Centri per la prescrizione di natalizumab</i>	76
Convalida del metodo	76
<i>I Registri come strumenti per l'appropriatezza prescrittiva</i>	76
Metodi di analisi	79
<u>RISULTATI</u>	80
Dati di sintesi	80
<i>I Centri accreditati</i>	80
<i>Frequenza cumulativa dei pazienti inseriti</i>	82
Caratteristiche dei pazienti al baseline e confronto con lo studio AFFIRM	83
Le reazioni avverse	84
Le interruzioni del trattamento	86
Gli esiti clinici	87
<u>DISCUSSIONE</u>	89
Addendum	90
<i>Misure aggiuntive per il rischio di PML da natalizumab (raccomandazioni EMEA)</i>	90
<u>PARTE 3 -ASSOCIAZIONE TRA LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCALE PROGRESSIVA (PML) E ANTICORPI MONOCLONALI</u>	92
<u>INTRODUZIONE</u>	92
Quadro generale della PML	92
<i>Le tappe storiche della PML</i>	92
<i>Evidenze epidemiologiche</i>	93
<i>Patogenesi</i>	93
<i>Manifestazione clinica, diagnosi e trattamento</i>	94
Anticorpi monoclonali e PML	95
<u>OBIETTIVI</u>	97
<u>METODI</u>	97
Selezione dei casi di PML da farmaci	97
Metodi di analisi	98
Convalida del metodo	99
<i>Generazione di un segnale di farmacovigilanza da database di segnalazione spontanea</i>	99

<u>RISULTATI.....</u>	101
Comparazione tra le fonti analizzate	101
Analisi delle coppie farmaco-reazione	102
Analisi delle caratteristiche dei pazienti	104
Forza della relazione farmaco-reazione	105
<u>DISCUSSIONE</u>	106
Addendum	109
<i>Recenti ipotesi sul meccanismo alla base della relazione tra PML e anticorpi monoclonali.....</i>	<i>109</i>
<u>CONCLUSIONI GENERALI</u>	111
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	112
<u>INDICE DELLE FIGURE</u>	122
<u>INDICE DELLE TABELLE</u>	123
<u>INDICE DEI BOX</u>	123
<u>L'AUTORE.....</u>	124
Pubblicazioni	125

Abbreviazioni

AERS = Adverse Event Reporting System

AIFA= Agenzia Italiana del Farmaco

DMD = Disease Modifying Drugs (farmaci modificatori della malattia)

EMA = European Medicine Agency

FDA = Food and Drug Administration

MAb = Monoclonal Antibody (anticorpo monoclonale)

MedDRA = Medical Dictionary for Regulatory Activities

MRI = Magnetic Resonance Imaging (Risonanza Magnetica per Immagini)

PML = Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva)

PPMS = Primary Progressive Multiple Sclerosis (sclerosi multipla primariamente progressiva)

RCT = Randomized controlled trial (studio clinico randomizzato e controllato)

RPMS = Relapsing Progressive Multiple Sclerosis (sclerosi multipla progressive con ricadute)

RRMS = Relapsing Remitting Multiple Sclerosis (sclerosi multipla a ricadute e remissioni)

SM = Sclerosi Multipla

SPSM = Secondary Progressive Multiple Sclerosis (sclerosi multipla secondariamente progressiva)

WHO = World Health Organization (organizzazione mondiale della sanità)

EDSS = Expanded Disability Status Scale

MSSS = Multiple Sclerosis Severity Score

Premessa Generale

Esiste un crescente interesse per l'utilizzo di dati osservazionali nella valutazione del ruolo dei trattamenti farmacologici per le malattie croniche, in particolare quelle per le quali l'eziologia risulta non del tutto nota. I trial clinici randomizzati (RCT), infatti, seppure considerati il "gold standard" per determinare l'efficacia di un trattamento, in taluni casi risultano di difficile realizzazione o non etici. Gli studi osservazionali, soprattutto quelli basati su ampie banche dati, possono fornire risposte su efficacia e sicurezza dei farmaci nella popolazione reale e non sul bacino ristretto di una popolazione individuata per un RCT. Essi possono pertanto chiarire il profilo rischio-beneficio dei farmaci nel loro complesso, superando i limiti dei RCT, e offrendo indicazioni per un sempre migliore utilizzo delle terapie.

Tale necessità è ancor più marcata per il campo della neurologia, dove esistono condizioni morbose per le quali la ricerca di base non ha ancora fornito un chiaro quadro eziopatogenetico. Va inoltre considerato che tali condizioni patologiche interessano popolazioni ampie, gravando in maniera consistente sui bilanci dei Servizi Sanitari, soprattutto per ciò che riguarda la spesa farmaceutica.

La presente tesi descrive un'analisi farmacoepidemiologica delle strategie terapeutiche per la sclerosi multipla. Questa malattia, assieme a molte altre patologie neurodegenerative, rappresenta un importante scenario clinico che si sta arricchendo, negli ultimi tempi, di nuovi presidi terapeutici. Tuttavia, non sono state ancora studiate le modalità di impiego nella pratica clinica dei farmaci oggi disponibili e il loro preciso profilo rischio-beneficio.

La tesi consta di tre parti, riguardanti: 1) lo studio delle modalità di impiego dei farmaci per la sclerosi multipla nella reale pratica clinica, con particolare interesse alla raccolta di informazioni di carattere clinico riguardanti i pazienti in trattamento; 2) lo studio dell'inserimento nell'armamentario terapeutico dell'anticorpo monoclonale natalizumab, con l'obiettivo di definire al meglio le caratteristiche dei pazienti che potrebbero avere maggior beneficio da questo trattamento e soprattutto il suo profilo di rischio; 3) lo studio della PML (Progressive Multifocal Leukoencephalopathy), una particolare reazione avversa emersa proprio in seguito al trattamento di pazienti affetti da sclerosi multipla con natalizumab.

Per la realizzazione di tali analisi sono state impiegate banche dati create ad hoc o grandi database già esistenti.

PARTE 1 - IL MONITORAGGIO REGIONALE (EMILIA-ROMAGNA) DEI TRATTAMENTI DISEASE MODIFYING PER LA SCLEROSI MULTIPLA

Introduzione

Quadro generale della sclerosi multipla

La sclerosi multipla (SM) è una malattia progressiva autoimmune che interessa il sistema nervoso centrale. Nella maggior parte dei casi colpisce giovani adulti, nel pieno delle potenzialità della loro vita professionale, affettiva e sociale. L'esordio avviene in genere tra i 20 e 40 anni, con difetti neurologici circoscritti e transitori. Il decorso clinico varia da una malattia benigna, per lo più libera da sintomi, a una malattia rapidamente progressiva e disabilitante. Le conseguenze sull'autonomia e sulla qualità della vita degli individui malati sono variabili. Inoltre, il costo sociale di questa patologia è molto elevato a causa della giovane età dei pazienti affetti, della durata della malattia, della perdita di produttività e anche dell'elevato costo delle terapie farmacologiche.

Evidenze epidemiologiche

La SM colpisce oltre un milione di individui nel mondo ed è la più comune causa non traumatica di disabilità neurologica nell'età adulta. Colpisce prevalentemente soggetti di razza caucasica, mentre è rara tra neri e asiatici. La conoscenza della distribuzione geografica della SM è molto importante e dimostra che prevalenza, incidenza e grado di mortalità variano in rapporto alla latitudine, aumentando in particolare con la distanza dall'equatore. Questa diversa distribuzione geografica non può essere spiegata solo sulla base della genetica delle popolazioni; infatti, i tassi di prevalenza della popolazione bianca che vive al di fuori dell'Europa sono la metà di quelli rilevati in Europa e gli studi sui migranti forniscono la prova definitiva dell'importanza dei fattori ambientali sul rischio di acquisizione della malattia¹. Pertanto, le evidenze epidemiologiche mostrano che la prevalenza e l'incidenza risentono di fattori eziologici razziali/genetici e ambientali combinati tra loro in modo variabile^{2,3}.

Come tutte le malattie autoimmuni, la SM è più frequente negli individui di sesso femminile; è stimato che il 70-75% di tutti i pazienti con SM sia donna^{4,5}. L'unica eccezione è rappresentata dal sottotipo primario progressivo che interessa con la medesima frequenza i due sessi⁶.

Per studiare l'epidemiologia della SM in Italia sono stati condotti diversi studi che hanno stimato un tasso di prevalenza all'interno di un intervallo di 40-70 per 100.000 abitanti, con notevoli differenze tra le diverse regioni. Inoltre, nell'intero territorio nazionale l'incidenza annuale media ha registrato un aumento da 2,4-3,9 per 100.000 nel periodo 1990-1993 a 4,2 per 100.000 abitanti nel 1995-1999. L'incidenza è significativamente più alta in Sardegna con un tasso di 6,8 per 100.000 abitanti registrato nel 1993-1997. Tale andamento è rilevabile anche all'interno della regione Emilia Romagna, nella quale sono stati condotti studi epidemiologici relativamente alla provincia di Ferrara⁷. Gli studi più recenti riportano un tasso di incidenza annuo (2004) di 4,35 per 100.000 abitanti e una prevalenza di gran lunga più alta rispetto a quella rilevata negli anni precedenti, pari a 121 casi ogni 100.000 abitanti⁸. Pertanto, considerando che la popolazione dell'Emilia Romagna è di oltre 4.000.000 di abitanti, è possibile stimare una prevalenza annua di 4000-5000 casi di SM sul territorio regionale.

Fisiopatologia

La SM è una patologia cronica, progressiva, che coinvolge il sistema immunitario. Questo disturbo autoimmune è causato da linfociti T autoreattivi nei confronti della mielina, che sono in grado di guidare un evento infiammatorio con coinvolgimento secondario dei macrofagi e conseguente distruzione della mielina. Lo schema sottostante (Figura 1) propone un ipotetico meccanismo patogenetico della SM (si veda anche Box 1).

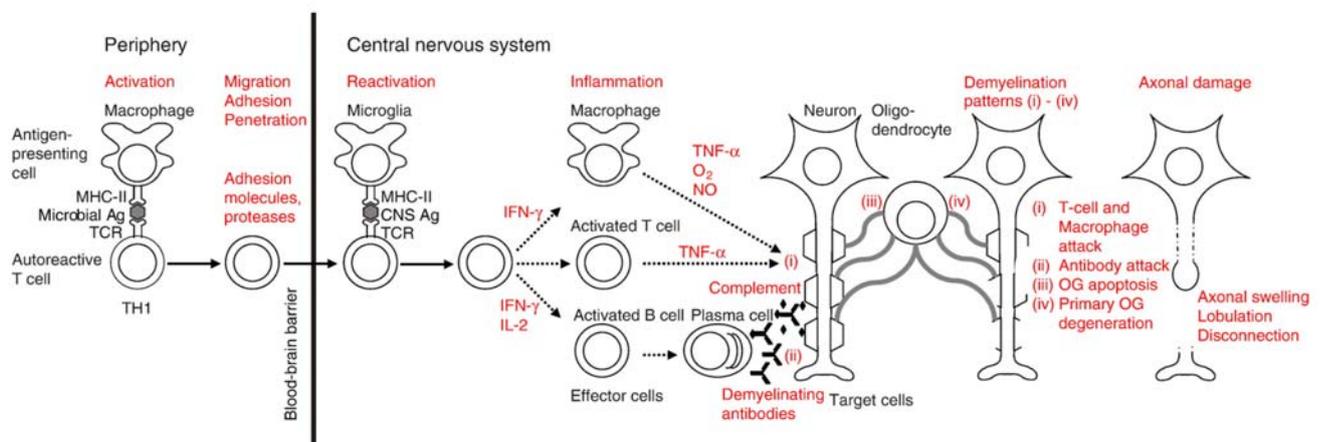


Figura 1 Ipotetico meccanismo patogenetico della SM
Fonte: Neuhaus et al., J.Neurological Sciences 2007

Box 1 Meccanismo patogenetico della SM

Attraverso i loro recettori (TCR), i linfociti T pro-infiammatori sono attivati in periferia da antigeni estranei o del self (Ag) presentati, sul complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (MHC-II), dalle cellule presentanti l'antigene (APC). Una volta attivati, i linfociti T migrano, aderiscono e penetrano la barriera ematoencefalica mediante meccanismi di adesione molecolare, proteasi e citochine. All'interno del sistema nervoso centrale (SNC), i linfociti T vengono riattivati dal MHC-II sulle APC. I linfociti T riattivati secernono citochine pro-infiammatorie, quali interferone (INF- γ) o interleuchine (IL-2) e inducono infiammazione nel SNC con conseguente attivazione di molecole effettrici come macrofagi, linfociti B e altri linfociti T. I macrofagi e i linfociti T attaccano la guaina mielinica attraverso mediatori citotossici, soprattutto il tumor necrosis factor (TNF- α), le specie radicaliche dell'ossigeno (O_2) e l'ossido nitrico (NO). I linfociti B si differenziano in plasmacellule che secernono anticorpi demielinizzanti. Questi ultimi possono attivare altri macrofagi o la cascata del complemento che causa il danno mielinico⁹.

Sebbene a livello cellulare la *demielinizzazione* sia uno dei più importanti meccanismi riconosciuti, anche l'*infiammazione* e il *danno assonale* contribuiscono alla genesi dei sintomi della SM¹⁰.

L'evento patologico di base tipico della SM (definita in passato anche con il termine di "sclerosi a placche"), è la presenza di placche multifocali di demielinizzazione. Queste aree focali di distruzione della mielina si osservano sullo sfondo di una reazione infiammatoria costituita prevalentemente da linfociti T e macrofagi. Proprio l'attivazione macrofagocitaria e la fagocitosi delle proteine della mielina nelle lesioni sono indicatori efficaci della progressione dell'attività di demielinizzazione¹¹.

L'evento più precoce, individuabile tramite MRI (Magnetic Resonance Imaging) nella maggior parte delle nuove lesioni, è rappresentato dalla rottura della barriera ematoencefalica, rilevata dalla captazione di gadolinio, e dall'infiammazione¹². La demielinizzazione inizia nelle fasi precoci dell'infiammazione, fenomeno quest'ultimo che si spegne entro un mese con il conseguente ripristino della normale permeabilità della barriera ematoencefalica. Il meccanismo di danno assonale è tuttora sconosciuto, ma è il fattore prominente della malattia e può essere patologicamente correlato al danno neurologico permanente¹⁰; è noto però che una patologia assonale acuta può verificarsi durante la demielinizzazione attiva e apparire fin dalle prime fasi evolutive della malattia. In aggiunta alla perdita assonale, sono state descritte altre alterazioni dell'assone come cambiamenti di diametro, ispessimento e ridistribuzione dei canali del sodio.

Pertanto, si può delineare un modello di progressione della malattia che prevede all'inizio una fase di infiammazione che porta alla distruzione della mielina, parallelamente si accumula anche il danno assonale. Terminata la fase iniziale della malattia, l'intensità del processo infiammatorio diminuisce, mentre aumenta la distruzione dei tessuti¹³).

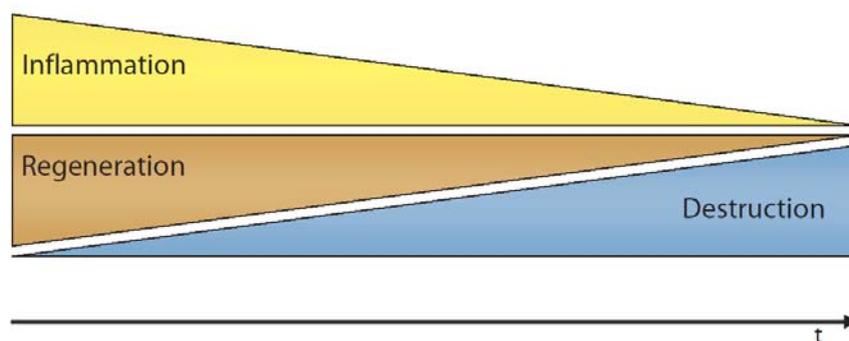


Figura 2 Modello di progressione di malattia
Fonte: Kieseier, J.Neurol 2006

Studi neuropatologici delle lesioni hanno chiaramente dimostrato la presenza di rimielinizzazione; nelle lesioni croniche quest'ultima appare incompleta e limitata ai bordi delle placche di demielinizzazione, mentre nelle lesioni acute e precoci si mostra una intensa rimielinizzazione. Sembra che quest'ultima possa addirittura iniziare contemporaneamente alla demielinizzazione e che le lesioni rimielinizzate possano ugualmente diventare bersaglio di una nuova demielinizzazione. Pertanto questi studi suggeriscono l'esistenza di interazioni dinamiche tra fattori patogenetici e riparativi nell'evoluzione delle lesioni della SM¹⁴.

Diagnosi e decorso clinico

Al fine di diagnosticare una SM occorre dimostrare i segni patologici che indirizzano verso la presenza di lesioni localizzate in due siti necessariamente separati del sistema nervoso centrale, in un individuo con una storia di almeno due episodi di disturbi neurologici tipici della SM e in cui non ci sia una diversa spiegazione per il quadro clinico presentato.

Nel corso degli anni sono stati proposti diversi criteri diagnostici; i primi sono conosciuti come *criteri di Poser*¹⁵, formulati nel 1983 e ulteriormente sviluppati non appena è divenuta disponibile la MRI; mentre a partire dal 2001 si fa riferimento a una serie di criteri raccomandati dal Comitato Internazionale, noti come *criteri di McDonald*¹⁶ che,

grazie alle più recenti acquisizioni in termini di diagnostica e fisiopatologia, hanno affinato e ampliato i criteri già esistenti migliorandone sensibilità, specificità e accuratezza diagnostica. Nel 2005 questi criteri hanno subito ulteriori revisioni^{17,18} alla luce delle più recenti evidenze scientifiche, fino ad arrivare ai criteri diagnostici descritti nella tabella sottostante (Tabella 1).

Tabella 1 Criteri di McDonald 2001¹⁶ revisionati da Polman 2005¹⁷

<i>Presentazione clinica</i>	<i>Richieste aggiuntive per formulare la diagnosi</i>
Due o più attacchi; evidenza clinica oggettiva di due o più lesioni	Nessuna;
Due o più attacchi; evidenza clinica oggettiva di una lesione	Disseminazione nello spazio dimostrata da: <ul style="list-style-type: none"> • MRI <i>oppure</i> • Due o più lesioni alla MRI concordanti con analisi del liquor positiva con una SM <i>oppure</i> • Attendere un successivo attacco in siti differenti
Un attacco; evidenza clinica oggettiva di due o più lesioni	Disseminazione nel tempo dimostrata da: <ul style="list-style-type: none"> • MRI <i>oppure</i> • Secondo attacco
Un attacco; evidenza clinica di una lesione (sindrome clinicamente isolata, CIS)	Disseminazione nello spazio dimostrata da: <ul style="list-style-type: none"> • MRI <i>oppure</i> • Due o più lesioni alla MRI concordanti con analisi del liquor positiva con una SM <i>e</i> Disseminazione nel tempo dimostrata da: <ul style="list-style-type: none"> • MRI <i>oppure</i> • Secondo attacco
Progressione di sintomi neurologici che suggeriscono una SM	Un anno di progressione della malattia (determinato prospettivamente o retrospettivamente) <i>e</i> Due delle seguenti condizioni: <ol style="list-style-type: none"> a. MRI cerebrale positivo (nove lesioni T2 o 4 o più lesioni T2 con potenziali evocati visivi positivi) b. MRI spinale positivo (due lesioni T2 focali) c. Liquor positivo

Anche se i segni e i sintomi della SM sono del tutto imprevedibili, esistono pattern clinici più frequenti; la maggior parte dei pazienti presenta un esordio brusco con successive ricadute e remissioni che portano a un lento deterioramento e a un incompleto recupero funzionale; solo una minoranza presenta un rapido e progressivo peggioramento clinico. L'inasprirsi della malattia è il risultato di due meccanismi: 1) un peggioramento a gradini causato dall'incompleto recupero delle lesioni acute e 2) un lento e graduale peggioramento che caratterizza le forme primariamente progressive.

Si possono quindi delineare quattro diversi tipi di decorso della malattia (Figura 3):

1. *Relapsing remitting* (RRMS) (85% dei casi): ricadute clinicamente evidenti seguite dal completo recupero o da deficit residui dopo la risoluzione della crisi. Nessuna progressione di malattia durante i periodi intercritici.
2. *Primary progressive* (PPMS) (10% dei casi): progressione della malattia *ab initio*, *plateau* occasionali e temporanei, possibili solo minimi miglioramenti. Questi pazienti non mostrano riesacerbazioni acute.
3. *Secondary progressive* (SPMS): continua progressione della malattia dopo un periodo di tempo descrivibile come RRMS con o senza sovrapposizione di ricadute, remissioni o *plateau*.
4. *Relapsing progressive* (RPMS): malattia progressiva *ab initio* ma con chiare riesacerbazioni acute seguite o meno da completo recupero della *functio laesa*.

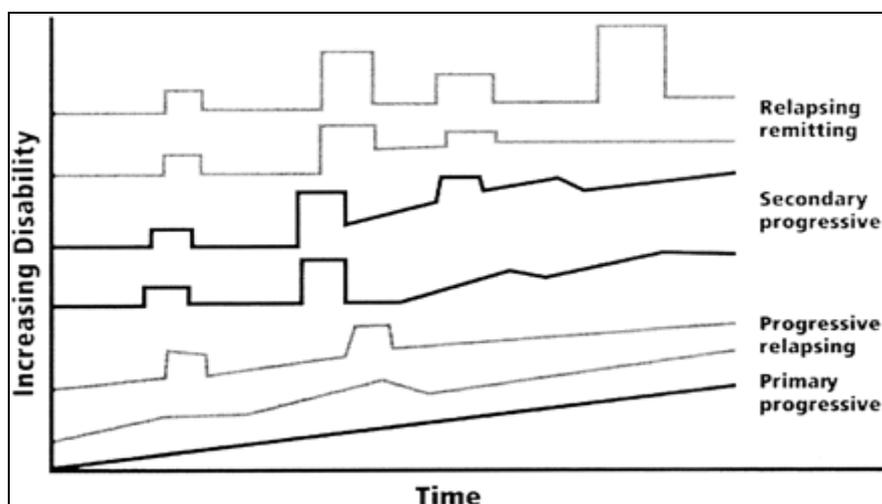


Figura 3 Tipi di decorso nella SM
Fonte: Rizvi et al., Neurology 2004

È stata definita SM benigna l'assenza di riscontro di deficit neurologico a 15 anni dall'esordio; la malattia maligna invece prevede un rapido e progressivo decorso con deficit neurologici multipli e addirittura morte in un breve lasso di tempo.

I tipi di decorso sopra descritti si basano sull'analisi del *follow-up* dopo la diagnosi. Dato che non sono stati ancora identificati dei *marker* biologici che permettano di differenziare un tipo di decorso dall'altro, l'unico modo efficace consiste nel promuovere un solido ed efficace processo descrittivo di come procede la malattia.

Trattamento della sclerosi multipla

Una terapia ottimale per il trattamento della SM dovrebbe agire su vari fronti per ritenersi davvero efficace. Dovrebbe: a) curare i sintomi caratteristici della malattia, b)

ridurre la frequenza, la severità e la durata delle recidive, c) prevenire la disabilità causata dalla progressione della malattia e d) promuovere i processi di riparazione per ripristinare le normali funzioni del sistema nervoso senza particolari effetti collaterali legati al trattamento farmacologico¹⁹.

È possibile distinguere tre campi di applicazione per il trattamento farmacologico della SM: 1) la terapia sintomatica, 2) il trattamento delle recidive e 3) le terapie denominate disease modifying drugs (DMD).

Terapia sintomatica

La terapia sintomatica prevede il trattamento dei sintomi cronici propriamente detti e può avvalersi di trattamenti farmacologici volti a trattare un ben determinato sintomo, e non farmacologici, come la fisioterapia e gli interventi psicologici.

I trattamenti maggiormente utilizzati sono: gabapentin, carbamazepina e anticonvulsivanti per controllare i fenomeni parossistici; amantadina per la fatica; oxibutinina e tolterodina per l'incontinenza urinaria; baclofene, tizanidina e gabapentin per la spasticità; antidepressivi, soprattutto inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (SSRI) nel caso di pazienti che soffrono di depressione¹.

Trattamento delle recidive

Le recidive vengono definite come lo sviluppo di un sintomo neurologico nuovo o recidivante della durata di almeno 24 ore non attribuibile ad altra causa.

Nonostante la diversità di situazioni in cui è possibile riscontrare una recidiva nei diversi tipi di decorso della malattia, la gestione delle recidive nei pazienti con malattia progressiva (PPMS e SPMS) non differisce rispetto a quella delle forme recidivanti (RRMS e RPMS). È importante chiarire che, nonostante le definizioni date, nei casi di SPMS molti pazienti continuano ad avere recidive occasionali acute (proprio in virtù del fatto che i pazienti con SPMS hanno per definizione una storia clinica di RRMS), e nei casi di PPMS si può presentare un improvviso e inaspettato peggioramento clinico che somiglia ad una recidiva²⁰.

Pazienti che presentano recidive cliniche occasionali possono essere gestiti efficacemente solo con una modificazione dello stile di vita e consigli di riposo fino alla scomparsa dei sintomi, mentre quelli con sclerosi recidivante significativa migliorano sostanzialmente meno a seguito di queste episodiche fluttuazioni. Per questi ultimi si prevede una terapia farmacologica basata sul trattamento con corticosteroidi (metilprednisolone o steroidi equivalenti). Numerosi trial clinici hanno accertato come

l'immediata somministrazione di corticosteroidi accelera il recupero di recidive²¹⁻²³, pertanto un trattamento iniziato precocemente nel corso della recidiva clinica suggerisce una migliore risposta da parte del paziente. Tuttavia non esiste alcuna dimostrazione che la prolungata somministrazione di steroidi sia di alcun beneficio nella SM²⁴. I corticosteroidi operano tramite l'effetto immunomodulante e anti-infiammatorio a loro imputabile e per di più migliorano la conduzione assonale²⁵. Nonostante il meccanismo degli steroidi nella SM rimanga incerto, tramite la tomografia computerizzata e l'MRI viene evidenziato il loro effetto immediato sulla permeabilità della barriera ematoencefalica^{26,27}. Tuttavia questo beneficio è di breve durata (meno di 8 settimane) e con il tempo i pazienti tendono a non rispondere più alla terapia, con conseguente sviluppo di progressione clinica della malattia. Il meccanismo di mancata risposta non è stato chiarito, ma potrebbe essere correlato alla progressiva degenerazione assonale di natura non infiammatoria.

Per pazienti che non mostrano miglioramenti, anche in seguito a somministrazioni di alte dosi di steroidi, sono in fase di studio trattamenti basati su plasmaferesi²⁸, immunoglobuline endovenose e impianto di cellule di Swann, ma al momento nessuna di queste opzioni si è dimostrata di efficacia superiore al trattamento con corticosteroidi.

Terapie disease modifying

I farmaci DMD rappresentano il punto di forza dei trattamenti per la SM e il loro principale obiettivo è quello di prevenire o ritardare il più possibile la progressione della malattia e la comparsa di ricadute andando a modificare il decorso della patologia. Le attuali terapie DMD hanno come bersaglio il meccanismo mediato dalle cellule T, che sembra essere la principale causa della SM. Infatti, una volta attivati, i linfociti T superano la barriera ematoencefalica andando a determinare un attacco immunologico con conseguente infiammazione multifocale, demielinizzazione e danno assonale. Tra i trattamenti DMD vengono individuate due classi principali:

- gli immunosoppressori, presi in considerazione fin dal principio per il trattamento della malattia, perché inibitori di quei componenti del sistema immunitario che risultano cruciali nel causare le disfunzioni a livello del sistema nervoso centrale.

Esempi sono il mitoxantrone, l'unico approvato per il trattamento della SM, l'azatioprina, la ciclofosfamida e il metotrexato, usati nella pratica clinica al di fuori delle indicazioni registrate. La loro efficacia nel trattamento della patologia trova

limitazioni a causa dei numerosi e gravi effetti avversi e nella carenza di trial clinici a loro supporto⁹.

- gli immunomodulanti, quali interferone β , glatiramer acetato, hanno avuto la loro ascesa agli inizi degli anni '90. Questi farmaci sono caratterizzati dallo spostamento della risposta immunitaria da una condizione pro-infiammatoria autoimmune (mediata dalle citochine TH-1 rilasciate dalle cellule T autoreattive), verso un più benefico ambiente anti-infiammatorio (mediato dalle citochine TH-2 rilasciate dalle cellule T regolatorie)⁹.

Caratteristiche dei trattamenti disease modifying

La Tabella 2 mostra una sintesi delle caratteristiche farmacologiche dei singoli trattamenti per la SM.

Tabella 2 Tabella riassuntiva della caratteristiche dei trattamenti per la SM

	<i>Descrizione farmaco</i>	<i>Farmacodinamica</i>	<i>Posologia e via di somministrazione</i> (REFI 2006 125 /id)	<i>Indicazioni d'uso</i>
IFN B-1a: <i>Avonex</i>	<p>Polipeptide naturale prodotto dai fibroblasti umani: IFNβ1a è prodotto da CHO (chinese hamster ovary cells) ed è farmacologicamente identico a quello naturale; IFNβ1b è prodotto da <i>E. Coli</i> e presenta piccole differenze rispetto alla forma naturale: non è glicosilato, Met1 è mancante e Cys17 è sostituito da Ser. Ha proprietà antivirali, antiproliferative e immunomodulatorie.</p>	<p>Legandosi a specifici recettori, attiva una cascata di segnali implicati a vari livelli del processo patologico della SM: 1)inibisce l'attivazione delle cellule-T; 2)inibisce l'attraversamento della BEE inducendo una diminuzione di IL-2, rilasciata a sua volta da enzimi degradanti la matrice; 3) determina una diminuzione della citochina proinfiammatoria IL-2 e l'espressione dei recettori per la stessa; 4) ha azione antagonista verso gli effetti dell'IFN-γ che ha azione proinfiammatoria; 5) induce un decremento della presentazione dell'antigene, riducendo l'espressione delle molecole co-stimolatorie e di MHC II sulle APCs; 6) inibisce la proliferazione delle cellule della microglia, che secernono enzimi proteolitici, radicali e citochine, implicati direttamente nel danno assonale, della mielina e della BEE</p>	30 mcg/sett. i.m.	<p>Indicato nella forma RRMS sia per ridurre la frequenza delle esacerbazioni cliniche, sia per rallentare la progressione della disabilità fisica²⁹ (L'Avonex è anche indicato per pazienti che hanno manifestato un singolo evento demielinizzante, se sono state escluse altre diagnosi e se c'è un alto rischio di sviluppare la SM clinicamente definita)³⁰.</p>
<i>Rebif 22</i>			22 mcg x 3/sett. s.c.	
<i>Rebif 44</i>			44 mcg x 3/sett. s.c.	
IFN B-1b: <i>Betaferon</i>			250 mcg a giorni alterni s.c.	
glatiramer acetato	<p>Sale acetato di un polimero sintetico costituito da: L-Ala, acido L-glutammico, L-Lys, L-Tyr in rapporto variabile.</p>	<p>Progettato come "imitatore" della mielina, fungendo così da esca per il sistema immunitario. Sono stati proposti diversi meccanismi: 1)determina il passaggio delle cellule T da un fenotipo Th1 a uno Th2, promuovendo la produzione di citochine anti-infiammatorie; 2)compete con la proteina basica della mielina (MBP) inibendone il legame con il MHC II, inducendo così la formazione di cellule T-glatiramer acetato specifiche con supposta azione antinfiammatoria e inibendo la proliferazione di cellule T-mielina specifiche o altre APCs.</p>	20 mg/die s.c.	<p>Indicato nella forma RRMS per ridurre la frequenza delle recidive in pazienti con basso grado di EDSS all'inizio del trattamento³⁰. Utilizzato nei pazienti che non hanno mostrato un miglioramento, o sono intolleranti all'IFNβ1b; questo aspetto potrà essere meglio definito in seguito ad una comparazione con IFNβ1a e 1b³¹.</p>
natalizumab {Sweet 2007 128 /id}	<p>Anticorpo monoclonale ricombinante umanizzato che agisce come antagonista della α4 integrina.</p>	<p>Inibitore selettivo dell'adesione molecolare dei leucociti all'endotelio vascolare. Blocca quindi la migrazione leucocitaria nel tessuto infiammato causando una diminuzione dell'infiammazione.</p>	300 mg/mese per lenta infusione i.v.	<p>Approvato come monoterapia per il trattamento delle forme recidivanti della SM per quei pazienti che non hanno risposto adeguatamente, o sono intolleranti alle alternative terapeutiche della SM.</p>
mitoxantrone	<p>Derivato dell'antracendione correlato alle antracicline come la doxorubicina e daunorubicina. Ha proprietà immunosoppressive e immunomodulanti</p>	<p>1)si intercala al DNA determinando rotture della doppia elica; 2)interferisce con la sintesi dell'RNA; 3)inibisce la Topoisomerasi II esercitando effetti immunosoppressivi e antineoplastici; 4)interagisce con Cyt p450 reductasi in presenza di NADPH producendo radicali attivi.</p>	12 mg/m ² ogni 3 mesi per infusione i.v.	<p>Indicato nei "pazienti ambulatoriali" per il trattamento della forma SPMS con o senza attacchi intermittenti e in fase attiva della malattia³⁰.</p>
azatioprina	<p>Profarmaco della 6-mercaptopurina</p>	<p>Inibisce la proliferazione dei linfociti mediante il blocco della sintesi delle purine, agendo così nella fase di sintesi del DNA (S) del ciclo cellulare.</p>	1-3 mg/kg/die per os	<p>Non autorizzati per il trattamento della SM, bensì utilizzati "off-label" in un ristretto numero di pazienti, sia con decorso moderato che severo, o con frequenti ricadute.</p>
ciclofosfamide	<p>Derivato delle mostarde azotate</p>	<p>Alchilante del DNA, in particolare della guanina in posizione 7 N. Entra nella cellula dopo l'idrossilazione da parte delle monossigenasi a funzione mista Cyt p450-dipendente, determinando l'anomalo appaiamento dei nucleosidi, la loro delezione e la formazione di legami crociati del DNA.</p>	da 2 mg/kg/die a 80-100 mg/kg/die per os o e.v.	
metotrexato	<p>Antagonista dell'acido folico</p>	<p>Blocca la produzione del folato ridotto, importante cofattore della timidina sintetasi e della glicinamide ribonucleotidi sintetasi: impedisce quindi la produzione di nucleosidi per il DNA e RNA, agendo esclusivamente durante la fase S.</p>	7,5-20 mg/settimana per os, e.v., i.m.o per via intratecale	

	<i>Studi di efficacia</i> (++ ampia documentazione in letteratura, + discreta documentazione, - scarsa documentazione, -- assente documentazione)	<i>Principali reazioni avverse</i> (Wingerchuk 2006 33 /id)	<i>Anno di approvazione in Italia</i> (EMEA 2007 135 /id)	<i>Costo annuo di terapia per paziente in €</i>
IFN B-1a: <i>Avonex</i>	(++) La sua efficacia è stata dimostrata nella riduzione del rischio di ricadute e nel rallentare la progressione della disabilità in RRMS; effetti significativi sono stati evidenziati nel diminuire la probabilità di sviluppo della SM clinicamente definita in pz che hanno mostrato un primo evento demielinizante ³¹	Sintomi simil-influenzali (mialgia, affaticamento, malessere generalizzato, mal di testa e febbre); Reazioni al sito di iniezione (eritema, dolore, gonfiore, e lesione alla cute); Disturbi comportamentali (depressione e tentativi di suicidio); Fenomeni autoimmuni (sviluppo di anticorpi anti-tiroide, contro antigeni nucleari e muscolari, disfunzioni tiroidee e epatiche, miastenia gravis, lupus eritematosus sistemico); Comparsa di anticorpi neutralizzanti (NAb).	1997	-16.100
<i>Rebif 22</i>			1998	-15.600
<i>Rebif 44</i>				-21.000
IFN B-1b: <i>Betaferon</i>	(++) Il farmaco si è dimostrato efficace nel diminuire la frequenza delle esacerbazioni, aumentare il tempo della prima ricaduta, rallentare l'aumento dell'area totale delle lesioni valutata all'MRI in pazienti con RRMS; effetti significativi si sono osservati nella riduzione del valore di EDSS, del tasso di ricadute e del volume delle lesioni all'MRI in SPMS ³¹ .		1995	-16.300
glatiramer acetato	(++) Il farmaco ha riportato significativi miglioramenti nella riduzione della frequenza di ricadute nei pz con RRMS, specialmente in quelli con minima disabilità neurologica all'inizio del trattamento; effetti significativi sono stati evidenziati nella riduzione dello sviluppo di nuove lesioni T-1 in accrescimento riportate all'MRI ³¹ .	Reazioni al sito di iniezione (dolore, eritema e indurimento della pelle); Reazioni idiosincrasiche meno frequenti (vampate, dispnea, palpitazione e ansia); Altre reazioni che compaiono in seguito ad una terapia prolungata (lipoatrofia, linfadenopatia e alterazione dei parametri ematologici e epatici).	2002	-15.700
natalizumab {Sweet 2007 128 /id}	(+) Il farmaco si è dimostrato efficace nel diminuire l'accrescimento delle lesioni e la formazione di nuove ma non ha mostrato effetti sul recupero clinico delle esacerbazioni acute o nella variazione del tasso di ricadute.	I pazienti immuno-compromessi presentano un alto rischio di sviluppare la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML). Altri effetti avversi: emicrania, fatica, infezioni del tratto urinario, depressione, artralgia e infezioni del tratto respiratorio.	1° approvazione 2004; riapprovazione 2006	-32.200
mitoxantrone	(+) Il farmaco è risultato efficace nel ridurre la frequenza delle ricadute e la disabilità neurologica in pz con SPMS ma anche in pz con RRMS in peggioramento ³¹ .	Cardiotossicità in seguito a captazione dal farmaco da parte dei miociti e formazione di chelati con il ferro; Alterazioni ematologiche (leucopenia, neutropenia, anemia e trombocitopenia); Infezioni del tratto urinario; nausea; amenorrea; alopecia.	>20 anni	-1.300 (calcolata considerando un adulto di 1,8 mq)
azatioprina	(-) Il farmaco si è dimostrato efficace nel ridurre la frequenza delle ricadute ma non è chiaro se questo beneficio clinico prevale sul rischio di tossicità ³¹ .	Alterazione del metabolismo epatico (colestasi); Nausea, vomito, anemia aplastica, ulcerazioni delle mucose; Raro rischio di neoplasie	>20 anni	-100-500
ciclofosfamide	(-) Alte dosi di Cyc in terapia combinata con ACTH hanno riportato una stabilizzazione nella SM progressiva; dosi pulsanti di Cyc ad intervalli mensili sono state valutate per il trattamento della forme progressive ma il regime della terapia risulta essere troppo tossico per una terapia a lungo termine per pz con SM; inoltre trattamenti mensili di Cyc hanno riportato benefici nel trattamento della RRMS ma non sono statisticamente significativi ³¹ .	Alopecia, cistite emorragica; Nausea, vomito, anemia aplastica; Raro rischio di neoplasie	>20 anni	-200 (calcolato per il dosaggio minimo, x os)
metotrexato	(-) La terapia con il metotrexato ha mostrato un rallentamento della progressione della malattia nella SPMS.	Polmonite, cirrosi; Nausea, vomito, anemia aplastica; Raro rischio di neoplasie	>20 anni	-1.600-3.900 (calcolato x e.v.)

I vari meccanismi d'azione proposti per i farmaci DMD riflettono il complesso meccanismo immunitario implicato nel processo della malattia. Nello schema sottostante (Figura 4) si possono visualizzare i vari livelli sui quali agiscono i farmaci indicati per il trattamento della SM (si veda anche Box 2)⁹.

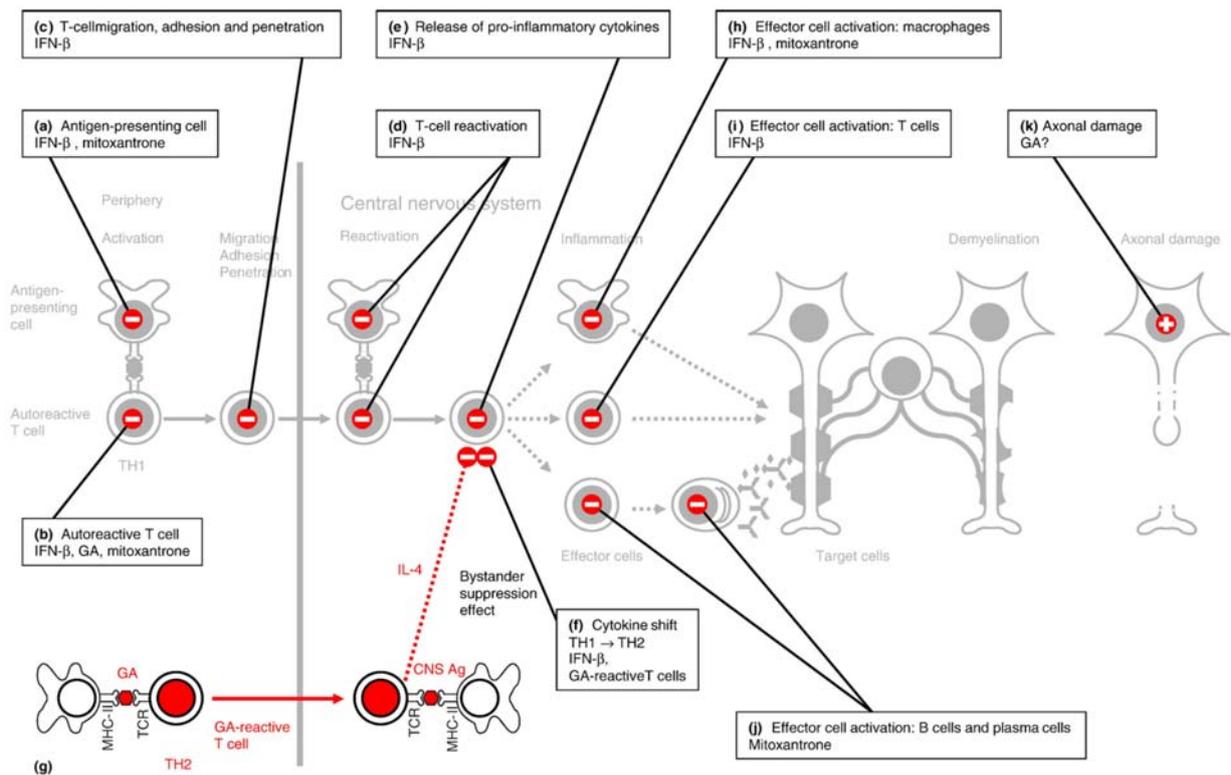


Figura 4 Siti d'azione di interferone β, glatiramer acetato e mitoxantrone
 Fonte: Neuhaus et al., J.Neurological Sciences 2006

Box 2 Siti d'azione di interferone β, glatiramer acetato e mitoxantrone

- (a) Viene inibita la presentazione dell'antigene sulle APC (Cellule Presentanti l'Antigene)
- (b) Viene inibita l'attivazione dei linfociti T
- (c) Vengono inibiti i meccanismi di penetrazione, migrazione e adesione molecolare
- (d) Viene bloccata la riattivazione dei linfociti T all'interno del SNC
- (e) Viene diminuito il rilascio di citochine pro-infiammatorie dai linfociti T
- (f) Viene indotta la trasformazione da citochine TH-1 pro-infiammatorie a TH-2 anti-infiammatorie
- (g) Vengono indotti i linfociti T con conseguente rilascio di citochine TH2 all'interno del SNC
- (h) Viene diminuita l'attivazione dei macrofagi o la secrezione di mediatori pro-infiammatori
- (i) Viene indotta l'apoptosi dei linfociti T autoreattivi
- (j) Viene bloccata l'attivazione dei linfociti B e la loro differenziazione in plasmacelle
- (k) Può essere ridotto il danno assonale

Terapie emergenti

Nella SM, così come in altre malattie, il razionale della terapia dipende dalla totale comprensione dell'eziologia e della patogenesi. Proprio in questo senso si stanno muovendo le moderne biotecnologie, che iniziano a fornire validi mezzi per lo sviluppo di una generazione completamente nuova di farmaci, attivi sul sistema immunitario. Chiaramente tutto questo aumenterà le possibilità di creare un approccio terapeutico più differenziato e selettivo.

Nuovi ritrovati delle biotecnologie sono gli anticorpi monoclonali (MAB) che promettono una certa potenzialità clinica, una selettività d'azione mai raggiunta fino ad ora ma presentano anche numerosi inconvenienti, quali la difficoltà di somministrazione - solo per via sottocutanea, intramuscolare o endovenosa - e l'immunogenicità - stimolazione di anticorpi neutralizzanti - e non necessariamente si dimostrano superiori agli immunomodulanti di tipo chimico (per maggiori approfondimenti sui MAB nella SM si veda pag. 60).

Stanno emergendo anche nuovi approcci per la terapia della SM. La disponibilità di strategie di trattamento per via orale sono più accettate dai pazienti e possono migliorare l'aderenza al trattamento. In *un trial* clinico è stata tentata una formulazione orale di glatiramer acetato ma non ha dimostrato nessuna efficacia³²; migliori risultati sono stati ottenuti con il Fingolimod (FTY720). Questo derivato (fungale metabolita myriocin) ha proprietà immunoregatorie e agisce come antagonista non selettivo del recettore S1P presente sui linfociti T e linfociti B, inducendo queste cellule a rimanere nel linfonodo e riducendo il loro ingresso nel sistema nervoso centrale. È un farmaco innovativo, perché a differenza degli immunosoppressori che causano distruzione delle cellule, in questo caso l'attivazione dei linfociti T e B rimane intatta³². Inoltre, ha dimostrato di ridurre il numero di lesioni evidenziate all'MRI e di rallentare la progressione della malattia³³.

Anche ulteriori farmaci, già utilizzati per altre malattie, sono stati proposti come possibili agenti per il trattamento della malattia, come ad esempio il micofenolato mofetile, un membro degli immunosoppressori antimetaboliti. La sua efficacia nel trattamento della SM è stata valutata in uno studio di fase II in aperto³⁴, in cui è stato studiato in associazione con interferone β -1a in pazienti con RRMS. I dati iniziali suggeriscono che tale associazione determinerebbe una diminuzione dell'incidenza di ricadute e una stabilizzazione della disabilità. Sarebbe quindi necessario uno studio più approfondito del farmaco nella terapia della SM.

Fino ad ora sono stati presi in considerazione solo i trattamenti diretti verso la componente infiammatoria delle lesioni della SM, che però non hanno alcuna influenza sulla protezione e sulla riparazione tessutale. Considerato che evidenze sempre più numerose confermano che il danno tessutale progredisce anche al termine della fase infiammatoria, appare logico combinare le terapie immunomodulanti con terapie neuro protettive³⁵ e perciò la rimielinizzazione costituisce un importante obiettivo terapeutico. Ad esempio alcuni anticorpi umani diretti contro gli antigeni di superficie degli oligodendrociti promuovono una significativa rimielinizzazione in un modello di SM³⁶. Un'altra strategia, la cui messa a punto è sicuramente più lontana nel tempo, prevede l'impianto di cellule staminali o cellule gliali all'interno delle lesioni più rilevanti dal punto di vista clinico. Probabilmente in un prossimo futuro sarà possibile non solo ottenere una rimielinizzazione ma anche la ricrescita degli assoni stessi. A tal proposito la proteina Nogo-A è di particolare interesse in quanto previene la ricrescita degli assoni del sistema nervoso centrale^{26,37}. Pertanto, mettendo a punto anticorpi diretti verso di essa, si potrà permettere la rigenerazione dell'assone. Questa e altre strategie possono aiutare lo sviluppo di nuovi approcci per la riparazione del danno assonale.

Outcome per valutare i farmaci

Per valutare gli interventi terapeutici potenzialmente utili nella SM esistono svariati outcome, alcuni dei quali validati, come ad esempio la valutazione della disabilità con la scala EDSS, altri invece compatibili con la normale pratica clinica, come l'analisi della risonanza magnetica (MRI) e del liquor cefalorachidiano.

L'outcome clinico ideale dovrebbe avere le seguenti caratteristiche: (1) validazione, (2) specificità per i deficit della SM, (3) responsività (sensibilità al cambiamento dello status di malattia), (4) riproducibilità, (5) oggettività, (6) facilità di applicazione e (7) costo-efficacia³⁸.

Alterazioni delle immagini di risonanza magnetica

Le lesioni cerebrali individuate tramite la MRI forniscono indicazioni circa lo stato di disseminazione delle lesioni nel tempo e nello spazio. Ad esempio i parametri valutati all'MRI sono le lesioni T2 pesate, il numero di lesioni captanti gadolinio, il numero di lesioni ipointense T1 e la misura di atrofia del cervello. Pertanto l'MRI può essere utilizzato come un marker surrogato per monitorare l'evoluzione della malattia, tenendo

in considerazione anche che gli eventi infiammatori rivelati all'MRI sono 5-10 volte più frequenti delle ricadute³⁹.

Le lesioni si distinguono in attive e inattive: le prime sono fortemente infiltrate da macrofagi contenenti frammenti di mielina, spesso associate alle guaine mieliniche in attiva disintegrazione; mentre le placche croniche inattive sono lesioni nettamente circoscritte, con ridotta componente cellulare, senza evidenze di distruzione attiva della mielina. Può tuttavia essere presente un grado variabile di infiammazione⁴⁰.

Liquor cefalorachidiano

L'analisi del liquor può rivelare due tipi di alterazioni entrambe a supporto della natura immunitaria e infiammatoria delle lesioni, che possono aiutare quando i criteri radiologici falliscono o perdono di specificità (ad esempio nei pazienti anziani) o quando la presentazione clinica è atipica. Da questa analisi è possibile rivelare le alterazioni delle immunoglobuline G (IgG) differenti da qualsiasi altra banda nel siero e/o la presenza di un elevato IgG index.

Tasso di ricadute

Le ricadute, dette anche attacchi, esacerbazioni o episodi neurologici, vengono definite come un periodo in cui sono presenti disturbi neurologici tipici della SM, con un esordio acuto o subacuto, della durata di almeno 24 ore. Devono essere distinte da un periodo di peggioramento, definito come pseudo-ricaduta, che spesso si accompagna a malattie intercorrenti come la febbre. Numerosi studi hanno mostrato che un crescente numero di ricadute nel corso dei primi anni di malattia è associato con un alto rischio di sviluppare una grave disabilità in futuro³⁹.

La riduzione del tasso di ricadute, dunque, è un importante obiettivo dell'azione farmacologica dei trattamenti per la SM ma la valutazione di questo parametro per definire il successo del trattamento implica qualche inconveniente. In primo luogo, le ricadute divengono meno frequenti al progredire della malattia, pertanto il tasso di ricadute è meno attendibile per pazienti con una lunga durata di malattia. Inoltre l'osservazione del tasso di ricadute dipende dalla frequenza dell'esame clinico.

Valutazione del grado di disabilità

Lo strumento più comunemente utilizzato per quantificare il danno funzionale e la progressione della malattia è la Expanded Disability Status Scale (EDSS, si veda Figura 5). Si tratta di una scala che varia da 0 (paziente senza alcun problema di

deambulazione) a un valore 10 (impossibilità totale di deambulare e quindi morte), con valori intermedi legati proprio alla possibilità del paziente di compiere determinati atti motori. La scala presenta una bassa variabilità intra- e inter-esaminatore, a fronte di una debole sensibilità. Questo strumento mostra però dei punti deboli, come la difficoltà di interpretazione dei deficit accumulati in quanto, stesse variazioni in diversi livelli della scala non misurano lo stesso incremento di deficit⁴¹.

È importante verificare che il valore EDSS sia confermato dopo un certo periodo per evitare di confondere il peggioramento temporaneo, dovuto a una recidiva, con la vera progressione della malattia. Si deve anche considerare che possibili fonti di errore per la valutazione del grado di disabilità derivano dalle malattie concomitanti, dalla depressione, dalla fatica o spasticità, indotte dai farmaci e dal dolore³⁹.

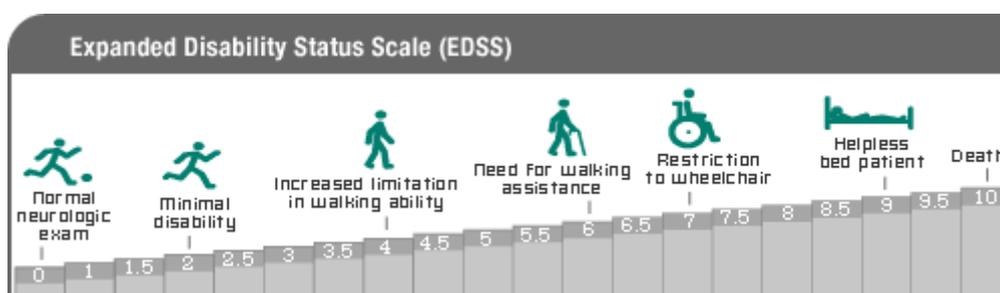


Figura 5 Scala di disabilità EDSS
Fonte: Kurtzke, Neurology 1983

Un altro metodo per valutare il grado di disabilità e più precisamente la progressione della malattia in un gruppo di pazienti, è il Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS, si veda Figura 6). Si tratta di un metodo matematico che corregge l'EDSS con la durata della malattia in anni, in modo tale da poter raffrontare la disabilità di pazienti con lo stesso periodo di durata della malattia. Tale metodo sfrutta un algoritmo che, partendo dal valore degli anni di malattia e dall'EDSS valutato all'ultima visita, fornisce un ulteriore parametro: l'MSSS. Esso rappresenta la velocità di progressione di quel paziente rispetto all'intero gruppo preso in considerazione. Ad esempio, un paziente con MSSS pari a 9,0 è in rapida progressione della malattia, poiché ha una progressione più rapida del 90% della popolazione⁴² (Figura 1).

Figura 6 Scala MSSS valutata per un gruppo di pazienti
Fonte: Roxburgh et al. 2005

	0	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5	9	9.5	EDSS
1	0.67	2.44	4.30	5.87	7.08	7.93	8.64	9.09	9.35	9.50	9.63	9.74	9.84	9.90	9.94	9.97	9.98	9.98	9.99	
2	0.53	2.01	3.69	5.24	6.46	7.27	7.98	8.58	8.95	9.18	9.38	9.59	9.79	9.88	9.93	9.97	9.99	9.99	9.99	
3	0.45	1.77	3.34	4.82	6.00	6.81	7.54	8.14	8.55	8.83	9.07	9.35	9.63	9.77	9.86	9.92	9.97	9.98	9.99	
4	0.35	1.45	2.87	4.27	5.41	6.24	6.98	7.65	8.12	8.42	8.70	9.08	9.47	9.68	9.80	9.88	9.95	9.98	9.99	
5	0.30	1.28	2.60	3.90	4.95	5.79	6.58	7.26	7.75	8.08	8.38	8.83	9.32	9.60	9.76	9.86	9.95	9.98	9.99	
6	0.25	1.13	2.33	3.54	4.55	5.38	6.14	6.81	7.33	7.86	7.98	8.50	9.08	9.45	9.68	9.81	9.93	9.97	9.99	
7	0.24	1.04	2.10	3.17	4.13	4.96	5.75	6.46	6.98	7.32	7.65	8.24	8.91	9.33	9.59	9.76	9.90	9.95	9.99	
8	0.21	0.94	1.92	2.93	3.81	4.57	5.36	6.10	6.61	6.95	7.32	7.97	8.71	9.21	9.55	9.74	9.89	9.96	9.99	
9	0.21	0.88	1.76	2.65	3.45	4.17	4.93	5.64	6.14	6.50	6.90	7.65	8.53	9.09	9.47	9.70	9.87	9.95	9.99	
10	0.19	0.78	1.53	2.34	3.10	3.79	4.55	5.28	5.77	6.14	6.58	7.39	8.31	8.92	9.34	9.61	9.83	9.94	9.99	
11	0.17	0.71	1.40	2.13	2.82	3.46	4.21	4.94	5.42	5.82	6.30	7.18	8.15	8.79	9.24	9.52	9.78	9.92	9.98	
12	0.16	0.64	1.28	1.98	2.64	3.25	3.94	4.63	5.13	5.54	6.03	6.92	7.93	8.63	9.13	9.43	9.71	9.88	9.97	
13	0.13	0.57	1.14	1.80	2.44	3.05	3.70	4.38	4.91	5.32	5.80	6.74	7.83	8.55	9.03	9.34	9.65	9.85	9.96	
14	0.11	0.49	1.03	1.70	2.33	2.91	3.55	4.26	4.82	5.23	5.70	6.56	7.59	8.34	8.86	9.20	9.57	9.82	9.95	
15	0.10	0.45	0.99	1.64	2.26	2.82	3.44	4.14	4.68	5.09	5.51	6.33	7.41	8.17	8.70	9.11	9.51	9.78	9.94	
16	0.09	0.38	0.85	1.42	1.99	2.56	3.17	3.86	4.41	4.81	5.18	6.00	7.14	7.97	8.54	9.04	9.49	9.75	9.94	
17	0.05	0.32	0.76	1.28	1.77	2.30	2.95	3.65	4.17	4.55	4.94	5.74	6.89	7.77	8.38	8.99	9.52	9.79	9.96	
18	0.04	0.26	0.66	1.12	1.57	2.09	2.70	3.37	3.89	4.27	4.62	5.43	6.62	7.54	8.23	8.94	9.51	9.78	9.96	
19	0.05	0.28	0.63	1.00	1.39	1.89	2.50	3.19	3.72	4.12	4.49	5.35	6.59	7.51	8.22	8.98	9.57	9.81	9.96	
20	0.05	0.26	0.59	0.94	1.29	1.71	2.29	2.99	3.51	3.93	4.30	5.15	6.43	7.45	8.23	8.98	9.58	9.80	9.95	
21	0.05	0.30	0.66	1.02	1.39	1.77	2.34	2.97	3.43	3.83	4.21	5.09	6.35	7.33	8.08	8.87	9.49	9.77	9.96	
22	0.04	0.23	0.54	0.90	1.28	1.66	2.20	2.82	3.29	3.69	4.09	5.04	6.35	7.35	8.10	8.84	9.42	9.73	9.95	
23	0.05	0.27	0.58	0.91	1.26	1.64	2.19	2.78	3.21	3.69	4.19	5.16	6.47	7.46	8.20	8.87	9.43	9.75	9.95	
24	0.05	0.24	0.52	0.86	1.25	1.63	2.15	2.71	3.09	3.52	4.01	5.03	6.36	7.38	8.15	8.81	9.39	9.74	9.96	
25	0.05	0.23	0.47	0.77	1.15	1.56	2.05	2.53	2.84	3.21	3.74	4.88	6.26	7.24	8.00	8.73	9.35	9.75	9.98	
26	0.05	0.20	0.45	0.78	1.17	1.58	2.08	2.63	2.99	3.40	3.95	5.02	6.39	7.44	8.21	8.89	9.48	9.80	9.96	
27	0.05	0.22	0.48	0.78	1.15	1.56	2.03	2.56	2.91	3.29	3.86	4.93	6.33	7.38	8.14	8.91	9.56	9.85	9.98	
28	0.04	0.17	0.40	0.74	1.16	1.52	1.88	2.39	2.76	3.04	3.46	4.54	5.99	7.07	7.90	8.75	9.45	9.80	9.98	
29	0.03	0.18	0.47	0.80	1.19	1.51	1.79	2.27	2.68	3.01	3.41	4.35	5.88	6.76	7.66	8.62	9.38	9.75	9.96	
30	0.01	0.13	0.45	0.82	1.19	1.45	1.69	2.23	2.75	3.13	3.50	4.35	5.61	6.66	7.54	8.47	9.27	9.67	9.91	

Years



Efficacia dei Disease Modifying Drug

Non esiste un consenso generale sul modo di valutare l'efficacia del trattamento e la prova che una terapia ritardi o prevenga lo sviluppo della disabilità a lungo termine rimane incompleta. Come in tutti i casi di patologie croniche, la possibilità di evidenziare benefici aggiuntivi, rispetto a quelli parziali inizialmente verificati, richiede un ampliamento del campione e una più lunga durata dei follow-up per i trial svolti.

Dopo l'approvazione dell'interferone β nel trattamento della RRMS, e in seguito anche nella forma SPMS, numerosi studi controllati e randomizzati hanno dimostrato che questi agenti riducono la frequenza delle recidive cliniche. Ogni agente ha un effetto variabile sui marker MRI di demielinizzazione infiammatoria e sull'accumulo di carico lesionale.

I principali trial per l'interferone β sono i seguenti:

- lo studio PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis)⁴³;
- il trial eseguito dall'European Study Group on interferon- β 1b in SPMS⁴⁴;
- lo studio INCOMIN (Independent Comparison of Interferon)⁴⁵;
- lo studio EVIDENCE⁴⁶.

Tali studi hanno dimostrato l'efficacia dell'interferone β nei sottotipi di SM più comuni (RRMS e SPMS) e nei diversi dosaggi a cui è disponibile questo farmaco.

Per quanto riguarda il glatiramer acetato, gli studi hanno dimostrato l'efficacia di questo trattamento nella sola forma RRMS. In particolare dallo studio di Johnson et al.⁴⁷ è emerso che il trattamento con glatiramer acetato influenza notevolmente la comparsa di recidive; a questo risultato incoraggiante, però, non sempre sono associati miglioramenti neurofisiologici valutabili tramite test specifici. Di notevole interesse è inoltre l'influenza del glatiramer acetato sull'attività MRI, incluso la formazione di nuove lesioni, valutata da uno studio Europeo-Canadese del 2001⁴⁸.

Sul mitoxantrone sono disponibili solo pochi trial clinici. Complessivamente sono stati pubblicati i risultati completi di tre studi, controllati in doppio cieco, che hanno coinvolto meno di 300 pazienti in totale. I primi due studi⁴⁹ risalgono al 1997, e da entrambi risulta una riduzione dell'incidenza di ricadute molto marcata e un aumento del numero di pazienti senza alcuna ricaduta durante il trattamento. Un terzo trial, più grande, nel quale sono stati arruolati 194 pazienti con SPMS, è il MIMS (Mitoxantrone in Multiple Sclerosis Study Group)⁵⁰. Tale studio ha dimostrato l'effetto benefico del mitoxantrone sulle recidive e sulla progressione clinica della malattia. Per tutti gli studi riguardanti il mitoxantrone non sono disponibili dati relativi all'MRI.

Per gli immunosoppressori convenzionali utilizzati nella SM mancano trial di buona qualità. Tranne pochi casi, gli studi per il mitoxantrone sono relativamente piccoli rispetto ai trial sull'interferone, perdendo in tal modo potenza statistica nella valutazione dei benefici; tuttavia i risultati sono paragonabili, in termini di efficacia, con quelli delle altre terapie DMD. In generale, è possibile affermare che gli immunosoppressori convenzionali mostrano efficacia sulla frequenza di recidive nella RRMS, con una riduzione sia del numero che della gravità delle recidive; mentre l'effetto sulla progressione è molto meno chiaro. Gli studi più consistenti e con dati maggiormente incoraggianti riguardano l'azatioprina⁵¹. Da questi è emerso un significativo effetto dell'azatioprina sulla frequenza di recidive e sulla probabilità che un paziente rimanga libero da ricadute dopo il trattamento, al contrario gli effetti sulla progressione sono meno chiari. Un altro farmaco immunosoppressore che ha mostrato un potenziale beneficio sull'attività della malattia è il metotrexato. I trial^{52,53} che prendono in esame questo trattamento, tuttavia, hanno coinvolto un numero esiguo di soggetti e per un tempo abbastanza limitato, quindi sono necessari studi di gran lunga più ampi per determinare quale gruppo di pazienti potrebbe presentare i maggiori benefici

dall'utilizzo del farmaco. I restanti trial sugli immunosoppressori convenzionali nella SM risultano spesso imprecisi nel disegno e nella conduzione e sono molto disomogenei tra loro, come nel caso di quelli riguardanti la ciclofosfamide.

Effetto del farmaco vs. efficacia del trattamento

Confrontando i risultati dei trial e l'osservazione degli esiti nella pratica clinica, sembra esserci un grande divario tra l'effetto del farmaco nella modulazione del sistema immunitario e l'efficacia del trattamento nelle varie forme di SM. Diverse teorie offrono una spiegazione a questa discrepanza e possono distinguersi in cause associate alla malattia e cause associate al farmaco. Tra le prime vi sono:

- la duplice azione dell'infiammazione, che da un lato è coinvolta nella demielinizzazione e nel danno assonale, e dall'altro sembra stimolare la remielinizzazione e la neuroprotezione con il rilascio di fattori neurotrofici;
- il duplice meccanismo della malattia, che coinvolge una componente infiammatoria e una neurodegenerativa;
- la compartimentalizzazione dell'infiammazione: ad esempio la RRMS è caratterizzata da un'infiammazione localizzata e dal danno della barriera ematoencefalica, mentre la SPMS da un'infiammazione generale del sistema nervoso centrale che non causa rottura della barriera ematoencefalica;
- la ridondanza del sistema immunitario, per i numerosi sistemi e differenti e paralleli processi infiammatori.

Tra le cause associate al farmaco vi sono:

- la mancanza di farmaci che entrano nel sistema nervoso centrale, come IFN- β , glatiramer acetato, natalizumab e molti agenti immunosoppressori che non attraversano la barriera ematoencefalica, e la loro azione si esplica prevalentemente nel sopprimere i linfociti T in periferia;
- la parziale efficacia dei farmaci, che agiscono solo sul processo antinfiammatorio e non sul processo neurodegenerativo della SM.

Dunque, per colmare il divario tra l'effetto del farmaco e l'efficacia del trattamento, occorrerebbe sviluppare farmaci che non solo esercitino un'efficace e sicura immunomodulazione o immunosoppressione dell'infiammazione in periferia, ma che abbiano anche proprietà neuroprotettive⁵⁴⁻⁵⁶.

Gestione della terapia

Considerando che a) esistono delle enormi lacune per ciò che riguarda l'eziologia della patologia e il meccanismo d'azione dei farmaci DMD, b) i dati relativi all'efficacia dei singoli trattamenti sono molto variabili e non sempre accurati, c) non esiste una metodologia standard in termini di outcome e di conduzione degli studi, d) i maggiori trial sono stati condotti prima della pubblicazione dei criteri diagnostici attualmente in uso (McDonald criteria¹⁶, appare evidente che è alquanto complesso applicare al trattamento di questa patologia i concetti di evidence-based-medicine, ossia della pratica clinica basata sulle prove di efficacia pubblicate in letteratura.

Nonostante ciò, un gruppo di neurologi (International Working Group for Treatment Optimization in MS), partendo dalle linee guida disponibili⁵⁷ e utilizzando un modello analogico sviluppato da Bashir et al.⁵⁸, ha cercato di mettere a punto un metodo per l'ottimizzazione del trattamento della SM. Il metodo è basato su un sistema di misuratori dell'EDSS, dell'MRI e del tasso di ricadute che permette una corretta collocazione del paziente in una scala di gravità della patologia e di conseguenza la migliore, o quantomeno più accettabile, scelta terapeutica da adottare⁵⁹.

Partendo dall'assunto che "il successo della terapia con i farmaci DMD non è basato su un solo aspetto della malattia (es. ricadute), ma dovrebbe essere basato su un'analisi complessiva di tutte le informazioni in possesso per ogni singolo paziente", il gruppo ha stabilito una serie di disposizioni che dovrebbero essere seguite per la decisione della terapia da adottare e per la gestione della stessa.

In tale decisione l'interferone β e il glatiramer acetato rappresentano le terapie di prima linea, mentre il mitoxantrone viene considerato come trattamento di seconda linea, ciò considerando da una parte gli studi eseguiti su questi farmaci, dall'altra la tossicità dei singoli trattamenti.

Tenendo conto della risposta individuale al trattamento e della diversa tollerabilità ai farmaci, è possibile valutare se e quando è necessario cambiare la terapia, in termini di dose (es. passando da una dose bassa di interferone a una più alta in caso di scarsa risposta al trattamento) oppure in termini di farmaco (es. passando dalla somministrazione di interferone a quella da glatiramer acetato per intolleranza al trattamento, sempre dopo aver vagliato altre ipotesi). Solo in rari casi, e tassativamente per periodi mai superiori ai 3 mesi, si consiglia l'uso di mitoxantrone considerando la sua elevata tossicità. L'algoritmo contempla anche l'utilizzo di farmaci in sperimentazione, o che non riportano la precisa indicazione per la SM. Questi devono essere utilizzati

come ultima alternativa sempre in modalità sperimentale e solo qualora i trattamenti precedenti siano risultati inefficaci.

Approccio alla terapia: quando iniziarla

Gli aspetti pratici relativi all'inizio e al monitoraggio della terapia con i farmaci approvati sono conosciuti dai diversi centri che si occupano di SM grazie anche all'impiego di linee guida e materiali informativi pratici per i clinici e i pazienti stessi. Ma la scelta del momento in cui iniziare la terapia e la scelta di uno specifico farmaco rimangono ancora qualcosa di personalizzato. I pazienti variano moltissimo per la soglia oltre la quale iniziano la terapia. Sembra esistere un consenso sul fatto che l'inizio della terapia dovrebbe essere preso in considerazione nel caso di una SM definita (ad esempio RRMS).

Da studi di patogenesi eseguiti con le metodologie MRI è emerso che nella prima fase della malattia (es. all'inizio del decorso RRMS) avviene soprattutto la demielinizzazione infiammatoria, a questo primo stadio già è presente la perdita assonale ma la funzione neurologica potrebbe essere mantenuta grazie a un meccanismo compensatorio. In seguito, superato un determinato punto critico, vi è ulteriore perdita assonale e progressiva neurodegenerazione che è la causa dell'evoluzione continua della disabilità neurologica (ciò costituisce il quadro della forma secondariamente progressiva) (si veda Figura 7).

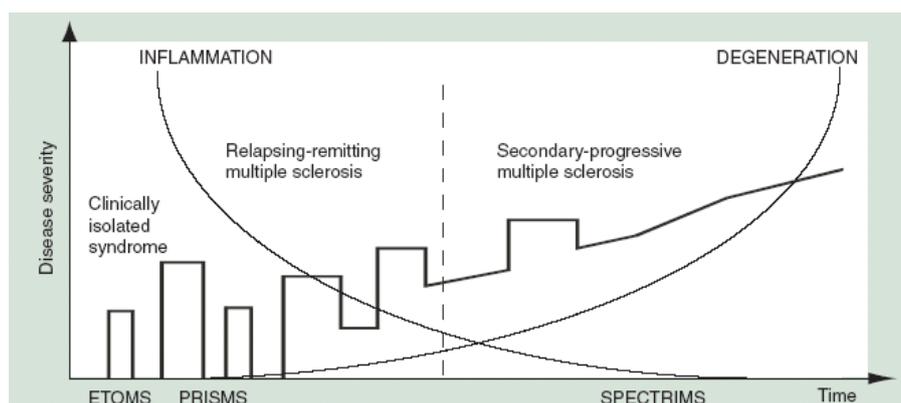


Figura 7 Infiammazione e degenerazione assonale durante il decorso della SM
Fonte: Flachenecker et al., Expert Rev. Neurotherapeutics 2004

Questa ipotesi porta ad affermare che i farmaci DMD dovrebbero essere usati immediatamente, all'inizio della SM, per prevenire la perdita assonale iniziale e l'accumulo di disabilità⁶⁰. Studi a sostegno di ciò sono il CHAMPS (Controlled High-Risk Subjects Avonex Multiple Sclerosis Prevention Study)⁶¹, l'ETOMS (Early Treatment of MS

Study)⁴⁸ e il BENEFIT (Betaferon in Newly Emerging multiple sclerosis For Initial Treatment)⁶². Tali studi sono randomizzati, controllati con placebo e multicentrici, utilizzano preparazioni di interferone β : il primo Avonex 30 mcg intramuscolo; il secondo Rebif 22 mcg sottocutaneo e l'ultimo Betaferon 250 mcg sottocutaneo. I primi due dimostrano che, se il trattamento con interferone è intrapreso precocemente, il tempo di comparsa del secondo attacco risulta ritardato di 9-13 mesi, con miglioramenti anche sui parametri MRI, e dai risultati dell'ultimo studio si dimostra che il rischio di progressione della malattia viene ridotto del 40% in un periodo di 3 anni, in termini di peggioramento della scala EDSS.

Induction vs. escalation therapy

Si è già discusso di come un approccio precoce al trattamento della malattia possa ritardare il danno neurologico irreversibile, agendo sulla riduzione del tasso di ricadute e sul processo infiammatorio in sviluppo. Esistono comunque due principali metodiche per iniziare una terapia precoce: l'escalation therapy e l'induction therapy^{39,63,64}.

La prima, schematizzata in Figura 8, è supportata da molti consensus groups in America e in Europa, e rappresenta una strategia di trattamento che prevede come prima linea di terapia interferone β e glatiramer acetato, trattamenti che solitamente mostrano effetti clinici che superano gli effetti avversi. Tuttavia un terzo dei pazienti non risponde alla terapia con questi farmaci, in questo caso aumentare il dosaggio dei farmaci citati o passare dall'uno all'altro trattamento può mostrarsi un'utile strategia. Una seconda linea di trattamento prevede l'utilizzo di immunosoppressori, quali mitoxantrone e cilofosfamide, per pazienti con una risposta sub-ottimale alla prima linea di trattamento; sebbene risultino efficaci il loro uso è limitato dalla tossicità e dal potenziale rischio a lungo termine. La combinazione di agenti immunomodulanti e immunosoppressori, già descritta in precedenza, rappresenta un ulteriore passaggio nell'escalation therapy, soprattutto nella gestione dei pazienti non-responder. L'ultima ed estrema linea è rappresentata dal trapianto di midollo osseo (Bone Marrow Transplantation, BMT).

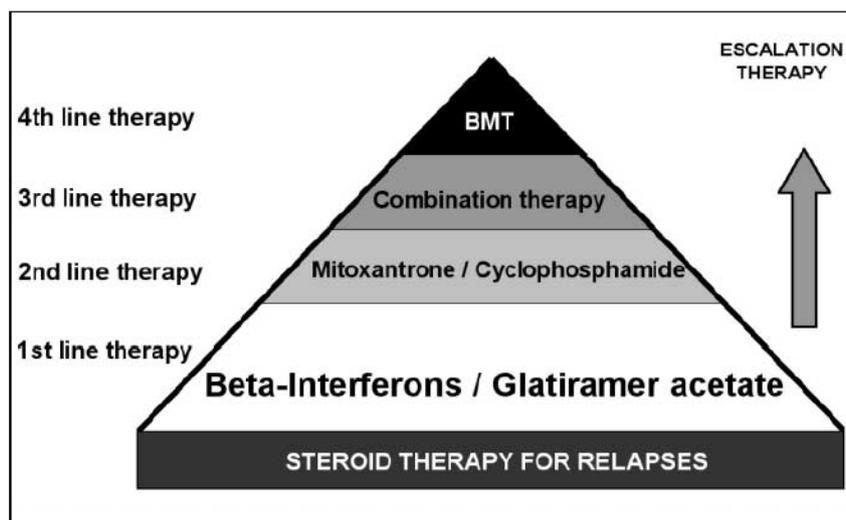


Figura 8 Modello di escalation therapy
Fonte: Martinelli et al., *Neurol Sci* 2005

L'induction therapy rappresenta un approccio molto più aggressivo al trattamento della SM. Questa strategia si basa sulla conoscenza che la presentazione clinica della malattia nelle fasi iniziali è predittiva per l'evoluzione a lungo termine della malattia. Si basa sul trattamento intenso e di breve durata con immunosoppressori, soprattutto mitoxantrone, seguito da un trattamento di mantenimento con immunomodulanti, una volta che è stata raggiunta la stabilizzazione clinica della malattia⁶⁴. Questa strategia di trattamento è particolarmente raccomandata per quelle forme di SM aggressiva che, sebbene non codificate precisamente in letteratura, mostrano un decorso veloce e acuto con comparsa di disabilità in un lasso di tempo inferiore a un mese.

La situazione italiana e il monitoraggio in Emilia-Romagna

Nel 1995 l'EMA ha autorizzato l'uso del interferone β per il trattamento della RRMS nei Paesi dell'Unione Europea. In Italia, il Decreto Ministeriale del 5 febbraio 1996 (nota CUF 65) ha limitato la rimborsabilità della specialità medicinale Betaferon (interferone β 1b) "limitatamente all'indicazione RRMS nei soli pazienti con punteggio d'invalidità compreso tra 1 e 3,5 all'EDSS di Kurtzke, in età compresa tra 18 e 50 anni". In tale decreto, la prescrizione e la dispensazione veniva riservata a Centri Provinciali Ospedalieri autorizzati e si individuavano Centri di riferimento Regionali con il compito di coordinare i Centri Provinciali e di autorizzare l'inizio del trattamento.

La Regione Emilia-Romagna, in linea con le disposizioni ministeriali di autorizzazione all'erogazione presenti nel DM citato, ha organizzato una rete di monitoraggio delle prescrizioni di interferone che ha interessato un periodo di circa 6 anni.

Quindi, dal 1996, i Centri dell'Emilia Romagna per il trattamento della SM, in collaborazione con il CReVIF (Centro Regionale di Valutazione e Informazione sui Farmaci), monitorano la prescrizione dell'interferone β .

In seguito all'approvazione dell'Avonex (interferone β -1a) e del Copaxone (glatiramer acetato), la Nota 65 ha subito numerose revisioni, fino ad arrivare all'attuale versione (aggiornata a Gennaio 2009) che prevede la dispensazione, a carico del Servizio Sanitario Nazionale, di glatiramer acetato e di interferone β -1a e 1b per il trattamento della SM con le seguenti limitazioni:

- per i pazienti con RRMS diagnosticata secondo i criteri di Polman¹⁷ con punteggio EDSS tra 1,0 e 5,5 (glatiramer acetato; interferone β -1a ricombinante; interferone β -1b ricombinante)
- per i pazienti con SPMS e punteggio EDSS da 3,0 a 6,5 e almeno 2 ricadute o 1 punto di incremento all'EDSS nei 2 anni precedenti (interferone β -1b ricombinante).

Nella stessa nota, si delega alle singole Regioni l'opportunità di monitorare la prescrizione e la dispensazione (sempre riservata ai centri autorizzati), attraverso schede ad hoc opportunamente adattate per forma clinica di SM e per tipo di farmaco.

L'assessorato alla Sanità della Regione Emilia-Romagna, in collaborazione con il CReVIF, ha così avviato il progetto di monitoraggio di tutti i trattamenti (sia autorizzati che off label) nella SM con gli obiettivi e i metodi discussi nella presente tesi.

Obiettivo

Gli ostacoli nell'esecuzione di trial clinici randomizzati, controllati in doppio cieco e che coprano un ampio periodo di osservazione, la difficoltà di concertare le varie opzioni di strategie di trattamento su quando e come iniziare la terapia, la mancanza di criteri definiti per individuare i pazienti non-responder e l'importanza della determinazione del rapporto rischio/beneficio, suggeriscono che, l'approccio più pratico potrebbe essere quello di condurre uno studio osservazionale utilizzando i dati di storia naturale come modello di confronto rispetto agli outcome clinici importanti⁶⁵. Dunque, la fonte migliore di prove di efficacia e i criteri di appropriatezza del trattamento possono ritrovarsi solo nel monitoraggio della pratica clinica nei vari Centri per il trattamento della SM. Il ricorso alla verifica nella pratica clinica dovrebbe essere l'aspetto centrale degli studi clinici, perché solo questi sono in grado di indicare quale uso venga fatto del

farmaco nella realtà. Inoltre, solo attraverso le visite di follow-up è possibile verificare la compliance dei pazienti e monitorare gli effetti collaterali.

In questo contesto, la presente ricerca ha avuto lo scopo generale di monitorare l'utilizzo di tutti i farmaci DMD nella pratica clinica dei Centri SM dell'Emilia-Romagna, Centri che costituiscono una rete consolidata, da molti anni impegnata nella condivisione delle esperienze nell'utilizzo dei farmaci, per l'ottimizzazione e l'armonizzazione delle scelte terapeutiche.

Il progetto di ricerca ha avuto lo scopo di delineare in maniera più precisa le modalità di scelta dei singoli farmaci e di armonizzare l'utilizzo di questi tra i neurologi della regione.

L'ottenimento di tale fotografia dell'utilizzo dei farmaci DMD permetterà di descrivere in modo più preciso il profilo rischio-beneficio dei singoli farmaci e confrontarne il valore terapeutico. Inoltre, potrà fornire indicazioni sulla fase ideale della malattia a cui intraprendere la terapia, combinando i dati di efficacia con l'informazione sull'anzianità di malattia all'inizio del trattamento farmacologico. In aggiunta, un sistema armonizzato di utilizzo dei farmaci per la SM potrà permettere la descrizione di percorsi terapeutici ideali, per incrementare l'effetto farmacologico e raggiungere una stabilizzazione o un miglioramento della malattia nella maggior parte dei pazienti. In conclusione è possibile affermare che i risultati di questo monitoraggio, accorpati a quelli relativi al consumo dei farmaci e alla gestione della spesa, debbano avere l'obiettivo di produrre raccomandazioni per l'organizzazione dell'assistenza dei pazienti.

Metodi

Dal 1996 la Regione Emilia Romagna, in linea con le disposizioni ministeriali del D.M. 5 febbraio 1996 (Nota CUF 65), ha organizzato una rete di monitoraggio delle prescrizioni di interferone, da parte dei Centri coordinatori che effettuavano una raccolta centralizzata.

Nel periodo febbraio 2005-febbraio 2006 sono stati svolti una serie di incontri per abolire l'iter autorizzativo vigente ed estendere il monitoraggio a tutti i DMD (immunomodulanti e immunosoppressori), come stabilito dalla circolare del 2 maggio 2006.

È stato realizzato un database regionale, tramite Microsoft Access 2000 (per i dettagli si veda Box 3), che permette di registrare, correlare e controllare ogni fase del trattamento dei pazienti registrati al suo interno e che garantisce una grande versatilità nella gestione e nell'analisi dei dati raccolti. Nel progetto di monitoraggio sono stati

coinvolti 20 Centri Neurologici della Regione Emilia-Romagna che assistono pazienti affetti da SM. È stato indicato come centro coordinatore del progetto il CReVIF (per conto della Commissione Regionale del Farmaco (CRF) - Assessorato Politiche per la Salute - Regione Emilia-Romagna) che è stato abilitato alla consultazione e all'elaborazione dei dati contenuti nell'archivio elettronico. Tale progetto ha ricevuto l'approvazione da parte del Comitato Etico del centro coordinatore (Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna - Policlinico S.Orsola-Malpighi) il 6 marzo 2006, e in seguito la documentazione è stata inviata ai Comitati Etici dei diversi Centri partecipanti, come indicato dalla prassi per gli studi multicentrici.

Box 3 Struttura del database e modalità di condivisione dei dati

Il database per il monitoraggio regionale dei trattamenti per la SM è uno strumento software che permette di registrare, correlare e controllare ogni fase di trattamento dei pazienti registrati al suo interno e che garantisce una grande versatilità nella gestione e nell'analisi dei dati raccolti.

Il database elettronico, realizzato con un'interfaccia costituita da maschere di Microsoft Access 2000, è costituito da pannelli di controllo (interfacce grafiche) che consentono l'accesso alle diverse aree dell'archivio elettronico e da schede collegate tra loro contenenti i campi da compilare a cura del medico. Nello specifico, le diverse parti del database sono così strutturate:

Pannelli di controllo:

1. *Pannello di controllo principale:* dal quale si può accedere alla Scheda Clinica (scheda per l'immissione dei dati relativi a un nuovo paziente) oppure al Pannello di controllo delle schede di un paziente precedentemente inserito.
2. *Pannello di controllo "Paziente in trattamento":* dal quale si può accedere alle diverse schede di un paziente che è stato precedentemente registrato nel database per visualizzare i dati relativi o per inserirne di nuovi.

Schede:

1. *Scheda Clinica (prima visita):* viene compilata alla prima visita del paziente e contiene tutti i dati relativi al medico, al paziente e alla storia della malattia con informazioni riguardanti il decorso, le riaccensioni a 12 e 36 mesi, il grado di disabilità (scala EDSS), eventuali patologie presenti, trattamenti precedenti e criteri diagnostici (esame clinico, del liquor e MRI cerebrale e spinale).
2. *Scheda Dati Anagrafici Completi:* viene compilata solo se il medico lo ritiene utile per la gestione del rapporto con il paziente e i dati in essa contenuti non vengono condivisi dal database regionale nel rispetto della legge sulla privacy, pertanto non è essenziale ai fini del monitoraggio.
3. *Scheda Trattamento:* viene compilata ogni qual volta si intenda somministrare un nuovo trattamento e contiene tutte le informazioni riguardanti il farmaco utilizzato dal paziente, la via di somministrazione e lo schema posologico.
4. *Scheda Ricaduta:* vi si registrano le eventuali ricadute del paziente e le terapie utilizzate per fronteggiarle.
5. *Scheda Interruzione Trattamento:* viene compilata qualora il trattamento in uso venga interrotto per qualsiasi ragione, indicando la motivazione e il periodo di interruzione.
6. *Scheda Visita (per visite successive):* viene compilata ad ogni visita del paziente, sia essa programmata che urgente, e ripercorre la Scheda Clinica (prima visita) permettendo così di apportare eventuali modifiche ai dati clinici e laboratoristici precedentemente immessi.
7. *Scheda Reazioni Avverse:* viene compilata qualora venga segnalata una reazione avversa e i principali effetti collaterali sono stati raggruppati per apparati. Si può anche indicare se la reazione avversa ha portato a una modifica o all'interruzione del trattamento.

I dati sono stati condivisi tramite internet (protocollo ftp protetto da password) tra i Centri partecipanti allo studio e il centro di raccolta dati (CReVIF), che periodicamente ha realizzato report su sull'andamento del progetto (per dettagli si veda sito www.crevif.it sezione progetti in neurologia).

Metodi di analisi

Per l'analisi, la catalogazione e l'estrazione delle informazioni derivanti dal database generale, è stato utilizzato Microsoft Access 2000: si è creato un database generale che contiene l'insieme dei dati derivanti da tutti i Centri partecipanti e tramite la creazione di query specifiche è stato possibile estrarre notevoli quantità di informazioni.

Per ogni parametro clinico-diagnostico (grado di disabilità, numero di ricadute, esito della risonanza magnetica, sottotipo di SM) è stato definito un cut-off per distinguere due gruppi di esposizione (ad esempio, forme recidivanti e forme progressive della malattia).

Successivamente, utilizzando il programma statistico Epi Info 2002, sono stati calcolati i non-adjusted odds ratio (una misura della probabilità che un evento si verifichi rispetto alla probabilità che non si verifichi) con un intervallo di confidenza al 95%, al fine di valutare le relazioni tra il tipo di trattamento scelto e i parametri clinico-diagnostici, fissando come trattamento di riferimento l'Avonex, quale trattamento maggiormente utilizzato.

Utilizzando il programma MSSStest è stato tentato un approccio con un nuovo possibile outcome per la valutazione clinica della malattia: l'MSSS (Multiple Sclerosis Severity Score).

Sono stati selezionati quei pazienti che disponevano delle informazioni necessarie per l'elaborazione di tale programma, quali il valore di EDSS all'ultima visita e gli anni di malattia a partire dalla data di diagnosi. Sono stati esclusi i pazienti con un tempo di malattia inferiore a 1 anno, in quanto era impossibile applicare il metodo. Successivamente è stato associato a ogni paziente il farmaco con cui era in trattamento al momento della valutazione dell'EDSS. Per ogni tipo di trattamento è stato calcolato il valore medio dell'MSSS di tutti i pazienti in cura con quel farmaco, rendendo possibile una correlazione tra trattamento e lenta (valori MSSS bassi) o veloce (valori MSSS alti) progressione della malattia. L'utilità e l'applicabilità del metodo MSSS sono state recentemente testate su una popolazione americana di pazienti affetti da SM⁶⁶. Il metodo si è dimostrato uno strumento molto utile per effettuare previsioni di progressione della malattia e rappresenta una possibile opzione per valutare l'efficacia dei farmaci il cui obiettivo è proprio quello di rallentare tale progressione.

Convalida del metodo

L'utilità dei database nello studio dei trattamenti per la sclerosi multipla

Un database si può definire un “magazzino” organizzato di dati. Questo termine viene spesso utilizzato per distinguere, nel campo della ricerca scientifica, l'approccio osservazionale da quello sperimentale⁶⁷. Proprio negli ultimi anni è aumentato il riconoscimento della comunità scientifica nei confronti della raccolta e della standardizzazione dei dati provenienti da più centri per lo studio delle malattie croniche, come la SM⁶⁸.

In particolare, per tale malattia, che mostra un lungo e variabile decorso clinico e per la quale non ci sono trattamenti standardizzati, monitorare un ampio ed eterogeneo gruppo di pazienti, può fornire importanti informazioni sulla storia naturale della malattia stessa e permette di valutare a lungo termine la sicurezza e l'efficacia di agenti che si sono dimostrati validi solo a breve termine. D'altra parte i trial clinici randomizzati, sebbene risultino estremamente utili nell'esaminare la potenziale riduzione delle ricadute durante il periodo di trattamento con un determinato farmaco⁶⁹, sono intrinsecamente limitati nel determinare l'efficacia dei trattamenti nel tempo, in quanto difficili da sostenere per molti anni a causa dei costi elevati e della necessità di follow-up a lungo termine⁶⁸.

Nei trial clinici i pazienti sono attentamente selezionati, e a volte vengono scelti quei pazienti che hanno il più alto potenziale di trarre beneficio dalla terapia, per dimostrare un'efficacia statisticamente significativa. Al contrario, all'interno del database vengono inseriti tutti i pazienti allo scopo di analizzare l'efficacia clinica dei trattamenti e il loro impatto sulla popolazione reale⁶⁷. Inoltre, i trial clinici tendono a raccogliere informazioni più accurate e dettagliate su uno specifico sottogruppo di pazienti trattati con un determinato farmaco a dosaggio fisso, mentre i database analizzano l'efficacia dei trattamenti su un'ampia popolazione di pazienti, con dosaggi flessibili, con una gestione della terapia che riflette la pratica clinica e con la possibilità di valutare eventuali benefici a lungo termine. In altre parole, i trial clinici valutano i trattamenti, mentre i database valutano le strategie di trattamento che possono essere generalizzabili per la cura di pazienti a lungo termine⁶⁸.

In letteratura sono presenti numerosi esempi di database creati per ampliare le conoscenze verso la ricerca nella SM⁶⁷; sia in Europa sia in America esistono diversi esempi di database nazionale⁷⁰, come il Registro Danese, il Registro Norvegese, il NARCOMS (North American Research Committee Multiple Sclerosis) o in Italia IMSDN

(Italian MS Database Network). Tuttavia, non sempre questi registri coprono in maniera omogenea il territorio nazionale e la qualità dei loro dati non sempre risulta di ottimo livello.

Infatti, se da una parte il database rappresenta un utile metodo per esaminare (a) gli agenti predittori (variabili genetiche, demografiche, immunologiche e cliniche), (b) le variabili che sopravvengono durante il decorso clinico (trattamenti, servizi medici e riabilitativi, risorse economiche e sociali) e (c) i risultati a lungo termine (misure cliniche di disabilità e funzioni cognitive, qualità della vita), dall'altra esistono numerose limitazioni nell'utilizzo di questo strumento di monitoraggio⁶⁷. In particolare, i limiti principali di un database sono i seguenti:

- le informazioni derivanti da esso sono sempre espresse in termini di probabilità e mai di certezza (ad esempio, si parla di rischio relativo o di odds ratio con relativi intervalli di confidenza);
- le scoperte fatte non elidono il bisogno di altri esperimenti per scoprire i meccanismi biologici che sono alla base dei risultati ottenuti;
- occorre valutare con attenzione se le informazioni ricavate sono attendibili in termini di accuratezza e completezza del dato.

Dunque il database risulta essere una via promettente e relativamente economica per ottenere informazioni a lungo termine sul decorso della malattia in una popolazione molto ampia. Dovrebbe essere fatta molta attenzione nell'accertamento della qualità dei dati, e nel massimizzare il valore delle risorse. Solo tramite un miglioramento della qualità dei dati raccolti e l'impiego di tecniche statistiche appropriate è possibile utilizzare i database come strumenti per la valutazione dell'efficacia dei trattamenti farmacologici, alla stregua dei trial clinici randomizzati⁷¹.

Risultati

Andamento della raccolta dati

Al gennaio 2009, ultima raccolta dati effettuata, risultano aver inviato i propri dati 13 dei 19 Centri partecipanti al progetto:

Di seguito vengono elencati i Centri SM regionali che hanno collaborato al progetto di monitoraggio, inserendo i dati dei pazienti in trattamento presso gli stessi Centri.

Centri attivi e Medici Responsabili

- Villa Mazzacorati - Centro SM - Bologna, Dott. S. Stecchi
- Clinica Neurologica, via Ugo Foscolo - Bologna, Dott.ssa P. Avoni
- Arcispedale S. Anna - Neurologia - Ferrara, Prof.ssa M.R. Tola
- Ospedale Morgagni Pierantoni - Divisione Neurologia - Forlì, Dott. W. Neri
- Ospedale Bufalini - Servizio Neurofisiopatologia - Cesena, Dott.ssa S. Malagù
- Ospedale Civile Baggiovara S. Agostino Estense - Modena, Dott.ssa P. Sola
- Aosp Civile Ramazzini - Neurologia - Carpi, Dott. M. Santangelo
- Clinica Neurologica - Università di Parma - Parma, Dott. F. Granella
- Ospedale Civile - Divisione di Neurologia - Fidenza, Dott. E. Montanari
- Ospedale Santa Maria delle Croci - Divisione Neurologica - Ravenna, Dott. F. Rasi
- P.O. di Lugo - Servizio Neurologia - Lugo, Dott. M. Galeotti
- Arcispedale S.M. Nuova - Centro SM - Reggio Emilia, Dott.ssa L. Motti
- Ospedale Infermi - Divisione Neurologica - Rimini, Dott. A. Ravasio

Frequenza cumulativa dei pazienti inseriti

Il progetto di monitoraggio è attivo da maggio 2006. Dall'inizio del progetto di monitoraggio regionale sono state effettuate 5 raccolte dati (mag-06; ago-06; gen-07; mag-07; gen-08 e gen-09).

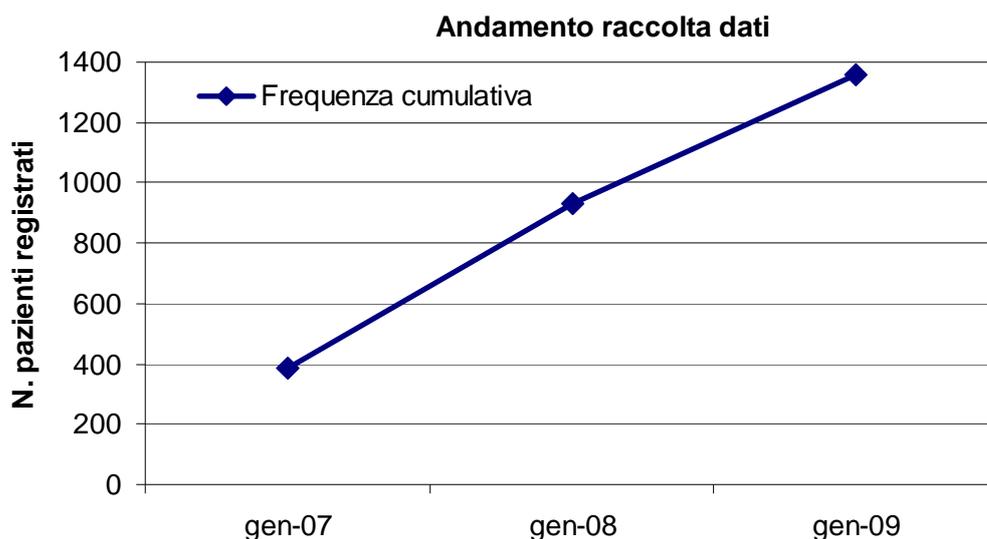


Figura 9 Andamento della raccolta dati per numero di pazienti

Al gennaio 2009 sono stati inseriti dati relativi a 1359 pazienti totali (Figura 9). In un periodo di 2 anni il numero di pazienti inseriti nel monitoraggio è passato da 384

(gennaio 2007) a 1359 (gennaio 2009). Si precisa che l'aggiornamento dei dati da parte dei Centri non avviene sempre in maniera costante. La compilazione delle schede presenti all'interno del database non è stata eseguita in modo uniforme dai diversi Centri. Infatti, il numero di "schede cliniche" (quindi il numero dei pazienti inseriti), di "schede trattamento" e di "schede visita" generalmente è aumentato progressivamente con la prosecuzione del progetto, mentre le altre tipologie di schede, come "ricadute", "interruzione trattamento" e "reazioni avverse" sono state compilate in modo disomogeneo. Il diverso approccio alla raccolta dei dati da parte dei vari Centri può essere dovuto sia alle diverse esigenze di informazione dei singoli Centri, sia all'incompleto utilizzo delle sezioni del database da parte dei clinici.

Descrizione dei pazienti

All'interno del database sono stati inseriti dati relativi a 1359 pazienti. La Tabella 3 riporta le caratteristiche demografiche e cliniche di questa coorte di pazienti.

Il 70% è di sesso femminile, in linea con l'epidemiologia della SM⁴.

Il 60% dei pazienti che ricevono un trattamento farmacologico DMD ha un'età compresa tra 30 e 49 anni, il 21% tra 50 e 59, l'11% ha più di 59 anni, mentre il restante 8% ha meno di 30 anni.

Considerando l'anno di esordio della SM, sono stati valutati gli anni di malattia calcolati al 2009. Il 28% dei pazienti inseriti all'interno del database ha "6-10 anni" di malattia, seguiti dal 22% dei pazienti che ha 11-15 anni di malattia e dai pazienti fino a 5 anni e 16-20 anni di malattia con il 15% per entrambi.

Nel 50% dei casi sono stati utilizzati i criteri diagnostici meno recenti (criteri di Poser¹⁵), mentre nel 41% si è ricorso a quelli attuali di McDonald¹⁶; nel 3% dei casi è stata diagnosticata una "SM possibile", mentre nel 6% non sono state fornite informazioni circa i criteri utilizzati nella diagnosi. L'elevata percentuale di utilizzo dei criteri di Poser, nonostante siano stati sostituiti da quelli di McDonald, è dovuta al fatto che in molti pazienti la malattia è stata diagnosticata prima del 2001, anno in cui sono entrati in vigore i criteri diagnostici più recenti.

Il gruppo di pazienti analizzati presenta nel 55% dei casi un decorso di tipo RRMS, seguiti dall'8% con una forma RPMS, 5% con SPMS, e 2% con PPMS. Risultano numerosi i pazienti per i quali non è stato inserito alcun dato sul sottotipo di SM nella scheda clinica (30%).

Dall'analisi del grado di disabilità, valutato tramite la scala EDSS, emerge che il 22% dei pazienti ha un valore EDSS compreso tra 1 e 1,5, il 15% tra 2 e 2,5, il 9% "4 e oltre", l'8%

tra 3 e 3,5 e il restante 7% valori EDSS “minori di 1”. Risultano anche numerosi pazienti senza l’indicazione del grado di disabilità (39%).

Come marker dell’inflammazione inclusi nei criteri diagnostici recenti, sono stati raccolti i dati relativi agli esami del liquor e alla risonanza magnetica (MRI), sia cerebrale sia spinale.

L’esame del liquor ha mostrato nel 54% dei casi la presenza di bande oligoclonali, delle quali il 54% presenta un IgG index patologico positivo e il 13% un IgG index negativo; nel 33% dei casi non è stato indicato alcun IgG index. Solo nel 10% dei casi non sono state riscontrate bande oligoclonali. È rilevante il grande numero di dati mancanti (36%).

L’MRI cerebrale è stato eseguito sul 79% dei pazienti. Di questi il 29% presenta lesioni attive, il 42% lesioni non attive, mentre il 24% presenta lesioni di natura non definita.

L’MRI spinale è stato eseguito sul 49% dei pazienti. Di questi il 18% presenta lesioni attive, il 49% lesioni non attive, mentre il 13% non ha riportato alcuna lesione. Nel 57% dei casi non è stato eseguito alcun MRI spinale.

Per ciò che concerne il numero delle riaccensioni a 12 e a 36 mesi dalla diagnosi, il dato risulta particolarmente incompleto e pertanto poco indicativo; il dato mancante si attesta al 34% per le riaccensioni a 12 mesi e 39% per quelle a 36 mesi. Considerando le sole riaccensioni a 12 mesi si nota che il 23% dei pazienti non ha registrato alcuna ricaduta nel corso dell’anno, mentre il 42% ne ha registrate 1 o 2 (Tabella 3).

Tabella 3 Caratteristiche cliniche e diagnostiche dei pazienti

Caratteristiche	N.pazienti	% sul totale
Pazienti totali	1359	100%
F:M	957:402	70:30
Classi di età al 2008		
minore di 30	109	8%
30-39	372	27%
40-49	442	33%
50-59	292	21%
60 e oltre	144	11%
Anni di malattia al 2009		
fino a 5	205	15%
6-10	374	28%
11-15	302	22%
16-20	199	15%
21-25	122	9%
maggiore di 25	128	9%
dato mancante	29	2%
Criteri diagnostici		
MS (secondo McDonald)	558	41%
MS (secondo Poser)	684	50%
MS possibile	38	3%
no MS	2	0%
CIS	2	0%
dato mancante	75	6%
Sottotipo di SM alla diagnosi		
RR (Relapsing Remitting)	750	55%
SP (Secondary Progressive)	73	5%
PP (Primary Progressive)	27	2%
RP (Relapsing Progressive)	103	8%
dato mancante	406	30%
Classi EDSS alla diagnosi		
minore di 1	93	7%
1-1,5	299	22%
2-2,5	206	15%
3-3,5	115	8%
4 e oltre	120	9%
dato mancante	526	39%

*nnd: natura non determinata

Caratteristiche	N.pazienti	% sul totale
Pazienti totali	1359	100%
Esame liquor alla diagnosi		
Presenza di bande	730	54%
<i>IgG index positivo</i>	393	54%
<i>IgG index negativo</i>	93	13%
dato mancante	244	33%
Assenza di bande	137	10%
dato mancante	492	36%
Esame MRI cerebrale alla diagnosi		
Esame eseguito	1079	79%
<i>Lesioni attive</i>	315	29%
<i>Lesioni non attive</i>	456	42%
<i>Lesioni presenti ma nnd*</i>	257	24%
No lesioni	44	4%
dato mancante	7	1%
Esame non eseguito	280	21%
Esame MRI spinale alla diagnosi		
Esame eseguito	579	43%
<i>Lesioni attive</i>	106	18%
<i>Lesioni non attive</i>	283	49%
<i>Lesioni presenti ma nnd*</i>	77	13%
No lesioni	108	19%
dato mancante	2	5
Esame non eseguito	780	57%
Riaccensioni a 12 mesi dalla diagnosi		
0	313	23%
1	367	27%
2	152	11%
3	46	3%
>3	16	1%
dato mancante	465	34%
Riaccensioni a 36 mesi dalla diagnosi		
0	327	24%
1	186	14%
2	168	12%
3	81	6%
4	34	3%
>4	35	3%
dato mancante	528	39%

Altre informazioni raccolte per ciascun paziente riguardano i sistemi funzionali compromessi ed eventuali patologie concomitanti presenti.

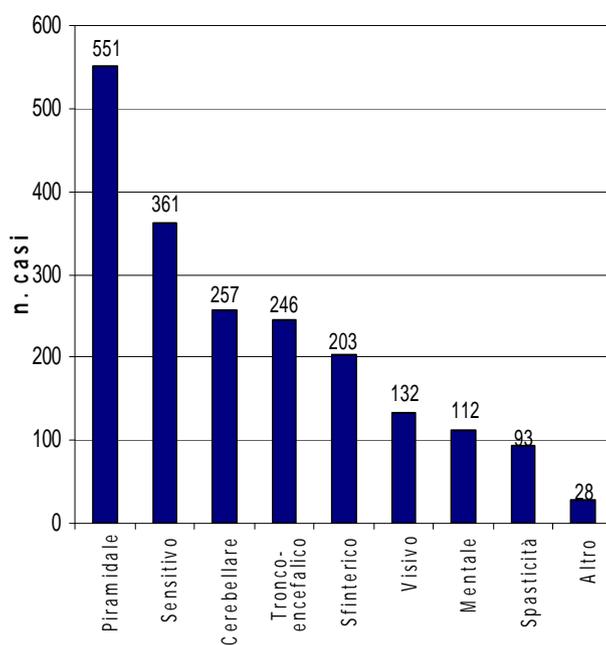


Figura 10 Tipologie dei sistemi funzionali compromessi

Tabella 4 Quantità di sistemi funzionali compromessi

N° Sistemi funzionali compromessi	N° pazienti
Uno	155
Due	173
Tre	144
Quattro	90
Cinque	46
Sei	30
Sette	7
Otto	12
Nove	15
<i>Dato mancante</i>	687
Totale	1359

Il sistema piramidale è il più colpito (551 casi), seguito dal sensitivo (361 casi), dal tronco-encefalico (257 casi) e dal cerebellare (248 casi, Figura 10). L'11% dei pazienti risulta avere un sistema funzionale compromesso, il 13% due sistemi, e l'11% tre sistemi funzionali compromessi (Tabella 4); il numero dei casi diminuisce all'aumentare del numero dei sistemi compromessi contemporaneamente. Oltre la metà dei pazienti (51%) non presenta tale informazione.

Figura 11 Tipologia delle patologie concomitanti

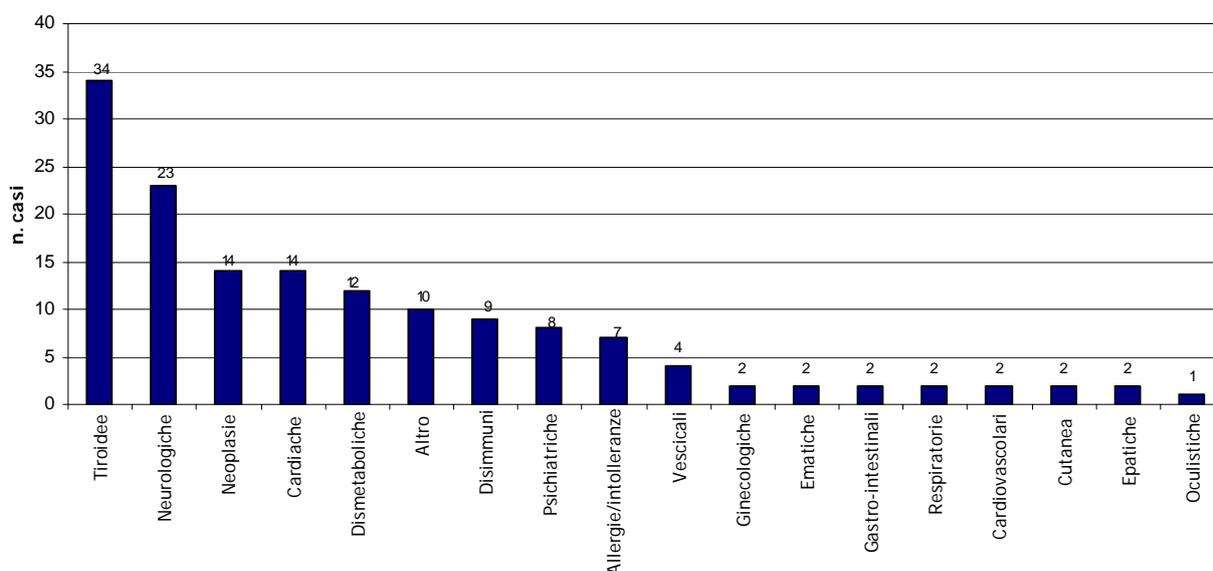


Tabella 5 Quantità delle patologie concomitanti

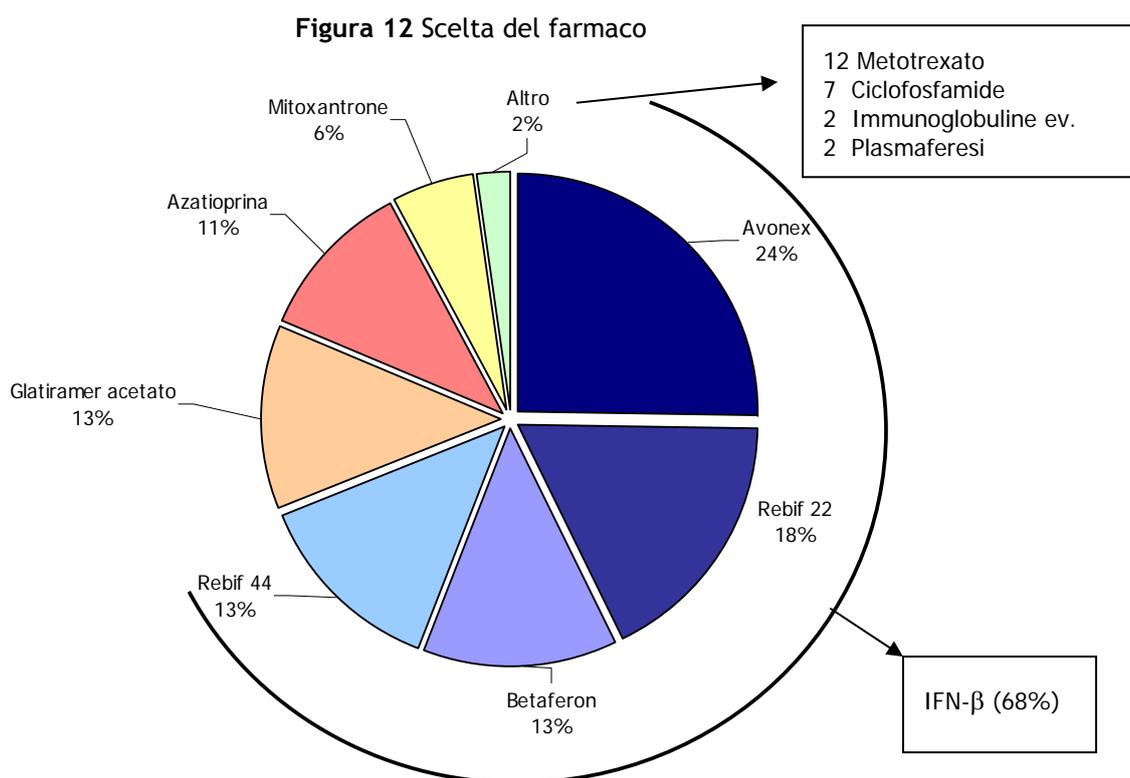
N° Patologie concomitanti	N° pazienti
Nessuna patologia concomitante	1237
1 patologia concomitante	98
2 patologie concomitanti	21
3 patologie concomitanti	2
4 patologie concomitanti	1
Totale	1359

Per il 91% dei pazienti non è stata registrata alcuna patologia concomitante mentre il 7% ne presenta una (Tabella 5). Quelle segnalate più di frequente sono le patologie tiroidee (34 casi), le patologie neurologiche (23 casi), le neoplasie (14 casi) e le cardiache (14 casi) (Figura 11).

Descrizione dei trattamenti

All'interno del database sono state inserite 1097 "schede trattamento" che si riferiscono ai pazienti che tuttora sono in cura presso i Centri SM sopra citati. Tali trattamenti sono stati iniziati in un periodo compreso tra il 1990 e il 2008. Alcuni Centri hanno inserito solo i trattamenti relativi a pazienti che hanno cominciato la terapia con immunomodulanti e immunosoppressori a partire dalla data di inizio del progetto di monitoraggio (marzo 2006), mentre altri hanno registrato anche i dati relativi a pazienti che hanno iniziato la terapia in data precedente.

Confrontando le "schede cliniche" con le "schede trattamento", si nota che per 441 dei 1359 pazienti (32%) non è stato inserito alcun trattamento, mentre la stragrande maggioranza dei pazienti -836 (62%)- possiede 1 scheda trattamento compilata, 87 pazienti (6%) 2 schede trattamento e i restanti da 3 a 6 schede trattamento; tali trattamenti sono riferiti a farmaci diversi che si sono susseguiti nel tempo per la terapia di ciascun paziente.



La scelta del farmaco è ricaduta nel 68% dei casi sull'interferone (24% Avonex, 18% Rebif 22, 13% Betaferon e 13% Rebif 44), nel 13% sul glatiramer acetato, nell'11% sull'azatioprina, nel 6% sul mitoxantrone; sono stati registrati anche 12 casi di

trattamenti con metotrexato, 7 con ciclofosfamide e 2 casi in cui la scelta dei clinici è ricaduta rispettivamente sull'utilizzo di immunoglobuline endovena e sulla plasmateresi (Figura 12).

Tabella 6 Posologie utilizzate per i vari farmaci

Farmaco	N° trattamenti con posologia standard	N° trattamenti con posologia difforme	N° tratt con posologia non indicata	Totale
Avonex	271 (1/sett)	5 (uno 2/sett; due 3/sett; due 1/mese)	1	277
Rebif 22	187 (3/sett)	6 (sei 2/sett)		193
Betaferon	139 (a gg alterni)	4 (tre 2/sett; uno 1/giorno)	1	144
Rebif 44	138 (3/sett)	3 (due 2/sett; uno 1/giorno)		141
Glatiramer ac.	133 (1/die)	4 (quattro 3/sett)	1	138
Azatioprina	115 (1/die)	5 (uno 1/sett; uno 2/sett; uno 3/sett; due 4/sett)		120
Mitoxantrone	35 (4/anno o 1/mese)	8 (tre 2/anno; quattro 1/sett; uno 1/giorno)	18	6
Metotrexato	10 (3/sett o 1/sett)	1 (uno 1/giorno)	1	12
Ciclofosfamide	5 (1/mese)	1 (uno 4/anno)	1	7
Immunoglobuline	1 (5/sett)		1	2
Plasmaferesi	1 (2/sett)		1	2
Totale	1035	37	25	1097

La posologia indicata in scheda tecnica è stata rispettata nel 74% dei casi. Solo nel 3% dei casi si è riscontrato un regime posologico differente e, nel 2% dei casi, non è stato fornito il dato sulla posologia attuata. La più alta percentuale di posologie difformi da quelle standard si è riscontrata nel caso del mitoxantrone, per il quale il 29% dei pazienti trattati ha ricevuto un trattamento personalizzato (Tabella 6).

Allo scopo di indagare le modalità di scelta dei diversi trattamenti DMD, per ogni parametro clinico-diagnostico e demografico è stato definito un cut-off per distinguere due gruppi di esposizione e successivamente sono stati calcolati i non-adjusted odds ratio con un intervallo di confidenza al 95%, fissando come trattamento di riferimento l'Avonex, in quanto maggiormente utilizzato (Tabella 7).

Tabella 7 Scelta del trattamento in funzione dei parametri clinico-diagnostici

Farmaco	Sottotipo SM		Grado di disabilità		Esito MRI cerebrale	
	forme progr sul totale	OR [IC 95%]	EDSS ≥3 sul totale	OR [IC 95%]	lesioni attive sul totale	OR [IC 95%]
Avonex	9/243	Ref	30/230	Ref	65/193	Ref
Rebif 22	7/162	1,17 [0,39-3,53]	25/154	1,29 [0,70-2,38]	67/132	2,03 [1,26-3,28]*
Rebif 44	6/115	1,43 [0,44-4,53]	32/108	2,81 [1,54-5,15]*	47/96	1,89 [1,11-3,21]*
Betaferon	31/129	8,22 [3,59-19,37]*	51/126	4,53 [2,60-7,92]*	39/83	1,75 [1,00-3,05]*
Glatiramer acetato	7/134	1,43 [0,47-4,32]	29/129	1,93 [1,06-3,53]*	47/94	1,97 [1,16-3,36]*
Mitoxantrone	26/53	23,21 [9,19-60,15]*	26/52	6,67 [3,26-13,70]*	14/40	1,06 [0,49-2,29]
Azatioprina	32/62	27,73 [11,33-69,79]*	23/45	6,97 [3,28-14,90]*	16/50	0,93 [0,45-1,89]

*dato statisticamente significativo

Farmaco	Sesso		Età	
	Femmine sul totale	OR [IC 95%]	Età ≥50 sul totale	OR [IC 95%]
Avonex	204/277	Ref	54/223	Ref
Rebif 22	127/163	0,69 [0,49-1,05]	28/165	0,70 [0,41-1,19]
Rebif 44	98/141	0,82 [0,51-1,31]	10/131	0,32 [0,15-0,67]*
Betaferon	96/144	0,72 [0,65-1,14]	48/96	2,06 [1,28-3,34]*
Glatiramer acetato	106/138	1,19 [0,72-1,97]	33/105	1,30 [0,77-2,18]
Mitoxantrone	37/61	0,55 [0,30-1,03]	19/42	1,87 [0,96-3,61]
Azatioprina	80/120	0,72 [0,44-1,17]	71/49	5,98 [3,64-9,85]*

*dato statisticamente significativo

Sottotipo di sclerosi multipla

Tabella 8 Trattamento farmacologico delle diverse forme di SM

Farmaco	RRMS (%)	RPMS (%)	SPMS (%)	PPMS (%)	Tipo SM non indicata	Totale
Avonex	234 (30%)	5 (8%)	3 (6%)	1 (6%)	34	277
Rebif22	155 (20%)	4 (7%)	3 (6%)		31	193
Glatiramer acetato	127 (16%)	2 (3%)	3 (6%)	2 (11%)	4	138
Rebif44	109 (14%)	5 (8%)	1 (2%)		26	141
Betaferon	98 (12%)	15 (25%)	13 (26%)	3 (17%)	15	144
Azatioprina	30 (4%)	18 (31%)	7 (14%)	7 (39%)	58	120
Mitoxantrone	28 (4%)	8 (14%)	16 (32%)	1 (6%)	8	61
Metotrexato	3 (-)	1 (2%)		3 (17%)	5	12
Ciclofosfamide	2 (-)	1 (2%)	3 (6%)	1 (6%)		7
Plasmaferesi	2 (-)					2
Immunoglobuline e.v.	1 (-)		1 (2%)			2
Totale	789 (100%)	59 (100%)	50 (100%)	18 (100%)	181	1097

Nella forma RRMS (N=789) l'interferone β -1a (Avonex e Rebif) è stato somministrato nel 64% dei casi, nel 16% il glatiramer acetato, seguiti dal Betaferon (12%), dall'azatioprina (4%) e dal mitoxantrone (4%). Nel trattamento della forma RRMS, l'utilizzo di immunosoppressori, quali azatioprina e mitoxantrone, rappresenta una seconda o terza scelta terapeutica dopo che altri trattamenti sono risultati inefficaci o intollerabili da parte del paziente. I trattamenti farmacologici maggiormente impiegati per il trattamento della forma RPMS (N=59) sono: azatioprina nel 31% dei casi, Betaferon 25% e mitoxantrone nel 14%. Nella forma SPMS (n. 50), il 32% dei pazienti ha ricevuto un trattamento con mitoxantrone, nel 26% si è scelto Betaferon e nel 14% azatioprina.

Poiché per la forma di malattia PPMS non esistono trattamenti con indicazione autoirizzata, risulta importante analizzare le scelte dei clinici in questa circostanza. Nel 39% dei casi la scelta è ricaduta sull'azatioprina, seguita da Betaferon e metotrexato, entrambi scelti nell'17% dei casi. I casi rimanenti sono stati trattati con Avonex nel 7% dei casi e con glatiramer acetato nel 4%.

Tra gli immunosoppressori il trattamento più utilizzato è l'azatioprina, usata in tutte le forme della malattia: 30 casi per la RRMS, 18 casi per la RPMS, 7 casi per la SPMS e 7 casi per la PPMS (Tabella 8).

Come si può notare dall'analisi statistica (Tabella 7), nelle forme progressive della malattia (RPMS, PPMS e SPMS) i pazienti sono stati trattati più spesso con Betaferon, mitoxantrone e azatioprina ed esiste una forte associazione tra il decorso progressivo e la scelta di tali farmaci rispetto all'interferone β -1a, che viene invece preferito nel caso delle forme recidivanti (RRMS).

Grado di disabilità

Tabella 9 Trattamento farmacologico per diversi valori EDSS

Farmaco	EDSS <di 1 (%)	EDSS 1-1,5 (%)	EDSS 2-2,5 (%)	EDSS 3-3,5 (%)	EDSS \geq 4 (%)	EDSS non indicato	Totale
Avonex	22 (26%)	115 (36%)	63 (28%)	22 (19%)	8 (7%)	47	277
Glatiramer acet.	19 (22%)	48 (15%)	33 (15%)	14 (12%)	15 (13%)	9	138
Rebif22	16 (19%)	65 (20%)	48 (21%)	13 (11%)	12 (11%)	39	193
Rebif44	12 (14%)	41 (13%)	23 (10%)	23 (20%)	9 (8%)	33	141
Betaferon	10 (12%)	30 (9%)	35 (15%)	27 (24%)	24 (21%)	18	144
Azatioprina	4 (5%)	8 (2%)	10 (4%)	9 (8%)	14 (13%)	75	120
Mitoxantrone	2 (2%)	11 (3%)	13 (6%)	3 (3%)	23 (21%)	9	61
Ciclofosfamide		2 (1%)			3 (3%)	2	7
Immunoglobul.		1 (-)			1 (1%)		2
Metotrexato			1 (-)	3 (3%)	3 (3%)	5	12
Plasmaferesi		2 (-)					2
Totale	85 (100%)	323 (100%)	226 (100%)	114 (100%)	112 (100%)	237	1097

L'analisi della distribuzione dei trattamenti in base al valore EDSS (Tabella 9) dei pazienti rivela che l'interferone β -1a e il glatiramer sono più utilizzati nei casi con disabilità bassa (EDSS fino a 2,5), mentre Betaferon e immunosoppressori vengono impiegati maggiormente con l'aumentare del grado di disabilità. In particolare, nei casi con EDSS superiore a 3,5 i farmaci prevalentemente impiegati sono Betaferon e mitoxantrone, entrambi usati nel 21% dei casi.

L'analisi statistica (Tabella 7) rivela che per valori di disabilità elevati (EDSS \geq 3) si preferisce l'utilizzo di trattamenti a somministrazione più frequente (Betaferon), a dosaggi più elevati (Rebif44) oppure con principi attivi alternativi all'interferone. Infatti, per i pazienti con EDSS \geq 3 vengono preferiti all'Avonex in ordine crescente i seguenti trattamenti: glatiramer acetato (OR=1,93), Rebif44 (OR=2,81), Betaferon (OR=4,53), mitoxantrone (OR=6,67) e azatioprina (OR= 6,97). Per tutti questi farmaci

esiste un'associazione statisticamente significativa tra la loro scelta e un'elevata disabilità del paziente.

Esito MRI cerebrale

Per valutare la scelta del trattamento in funzione dell'esito MRI cerebrale, sono stati considerati i soli pazienti per i quali era stato eseguito l'esame ed era stata rilevata la presenza di lesioni. La scelta del trattamento è stata analizzata in funzione della tipologia delle lesioni distinguendo tra "lesioni attive" e "non attive" (Tabella 7): sono stati quindi considerati 702 dei 1097 trattamenti totali (64%). Dall'analisi statistica si evince che in caso di presenza di lesioni attive all'MRI cerebrale vengono preferiti all'Avonex, le altre specialità di interferone β -1a (Rebif22 OR=2,03 e Rebif44 OR=1,89), il Betaferon (OR=1,75) e il glatiramer acetato (OR=1,97).

Sesso ed età

Dall'analisi della scelta del trattamento in base al sesso e all'età dei pazienti, emerge che il sesso non rappresenta un discriminante di scelta per alcuno dei trattamenti (Tabella 7). Al contrario, ponendo come valore soglia un'età di 50 anni, emerge che tra gli interferoni β -1a, il Rebif44 viene preferito all'Avonex in maniera statisticamente significativa nei pazienti più giovani (OR=0,32). Al contrario nei pazienti più anziani vengono scelti, maggiormente, l'interferone β -1b (Betaferon) e l'immunosoppressore azatioprina, con un valore di OR rispettivamente di 2,06 e di 5,98, statisticamente significativi.

Descrizione delle interruzioni del trattamento

All'interno del database sono state compilate 187 schede "interruzione trattamento", di cui 29 si riferiscono ad un'interruzione temporanea del farmaco e 158 ad un'interruzione definitiva del trattamento.

Tabella 10 Interruzioni transitorie dei trattamenti e relative motivazioni

Farmaco	Interruzione transitoria	Motivazioni interruzioni transitorie				
		Effetti collaterali	Interruzione volontaria	Gravidanza	Interruzione per altra patologia	Vaccinazione antimalarica
Rebif 22	9	4	1	3		1
Avonex	8	4	2		2	
Rebif 44	5	2	2	1		
Betaferon	4	3	1			
Glatiramer acet.	2	2				
Mitoxantrone	1	1	1			
Totale	29	15	7	4	2	1

Delle 29 interruzioni temporanee registrate all'interno del database, 15 sono avvenute in seguito ad effetti collaterali (quattro per l'Avonex e per il Rebif22, tre per il Betaferon, due per il Rebif44 e per il glatiramer acetato rispettivamente e una per il mitoxantrone), 7 sono avvenute per interruzione volontaria del paziente (due in trattamento con Avonex e Rebif44 e uno con Betaferon, Rebif22 e mitoxantrone rispettivamente); 4 sono avvenute per gravidanza (tre per il Rebif22 e una per il Rebif44); 2 si riferiscono all'Avonex che è stato interrotto per complicazione per altra patologia e 1 interruzione si è avuta per il Rebif22 in seguito a vaccinazione antimalarica (Tabella 10).

Tabella 11 Interruzioni definitive del trattamento e relative motivazioni

Farmaco	Interruzione definitiva	Motivazioni interruzioni definitive							
		Effetti collaterali	Interruzione volontaria	Peggioramento	Evoluzione benigna	Raggiungimento dose prevista	Inefficacia	Interruzione per altra patologia	Altro
Avonex	40	10	2	19	4	2			3
Betaferon	32	12	1	8	1		2	1	7
Rebif 22	26	9		13	2		1	1	
Rebif 44	22	9	1	9	1			2	
Glatiramer acet.	15	5	2	4	1		2		1
Mitoxantrone	11			3		8			
Azatioprina	10	6	1		1		1		1
Metotrexato	2			1					1
Totale	158	51	7	57	10	10	6	4	13

Delle 158 interruzioni definitive del trattamento, il numero più alto (57 casi) riguarda i casi di peggioramento con passaggio ad altra terapia (19 casi per l'Avonex, 13 per il Rebif22, 9 per il Rebif44, 8 per il Betaferon, 4 per il glatiramer acetato, 3 per il mitoxantrone e 1 per il metotrexato); si sono registrati 51 casi di interruzione definitiva per effetti collaterali (12 a carico del Betaferon, 10 per l'Avonex, 9 per Rebif22 e Rebif44 rispettivamente, 6 per l'azatioprina e 5 per il glatiramer acetato); seguono 10 casi di interruzione per raggiungimento della dose prevista (quasi tutti a carico del mitoxantrone); altri 10 casi per evoluzione benigna della malattia, 7 per autogestione da parte del paziente; 6 per inefficacia del farmaco, 4 per complicazioni con altre patologie e le ultime 13 sono dovute a cause di vario tipo (Tabella 11)

Cambiamenti dei trattamenti

In questo paragrafo vengono riportati i cambiamenti dei trattamenti valutati analizzando le schede trattamento e le schede interruzione trattamento.

Il numero più alto di cambiamenti si è avuto per l'Avonex (34 casi su 277 prescrizioni, 14 dei quali hanno avuto un passaggio al Rebif44, 9 al glatiramer acetato e 6 al Rebif22),

seguito dal Betaferon (23 casi su 144 prescrizioni, 9 dei quali hanno avuto un passaggio al glatiramer acetato, 4 all'Avonex e 3 all'azatioprina), dal Rebif22 (21 casi su 193 prescrizioni, 9 dei quali sono passati a una terapia con Rebif44, 5 all'Avonex e 4 al glatiramer acetato) e dal Rebif44 (15 casi su 141 prescrizioni, 7 dei quali hanno avuto un passaggio al Rebif22 e 4 al mitoxantrone). Inoltre, per il mitoxantrone si sono avuti 12 cambiamenti su 61 prescrizioni dove si è passati in 5 casi a un trattamento con Avonex, in altri 2 al glatiramer acetato e ciclofosfamide rispettivamente e in 1 caso al Rebif22, Betaferon e azatioprina rispettivamente (Tabella 12).

Tabella 12 Cambiamenti dei trattamenti

A::	Avonex	Rebif22	Rebif44	Betaferon	Glatiramer acet.	Mitoxantrone	Azatioprina	Ciclofosfamide	Immunoglobuline e.v.	Plasmaferesi	Totale	% su Prescr.
Da:												
Avonex		6	14	2	9		2		1		34	12%
Azatioprina					1	1			1		3	3%
Betaferon	4	2	1		9	2	3			2	23	16%
Glatiramer acet.	2	3	1			1					7	5%
Mitoxantrone	5	1		1	2		1	2			12	20%
Rebif22	5		9	1	4	1			1		21	11%
Rebif44	2	7				4	2				15	11%
Plasmaferesi						1					1	50%
Totale	18	19	25	4	25	10	8	2	3	2	116	11%

Descrizione delle reazioni avverse

Sono state inserite 325 “schede di segnalazione reazioni avverse”, per un totale di 532 reazioni (in alcune schede sono stati riportati più effetti collaterali riferibili al farmaco in uso).

Le reazioni avverse sono state organizzate secondo la classificazione sistemica organica MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activities)⁷². Le reazioni più numerose appartengono alla categoria delle “patologie sistemiche e condizioni relative alla sede di somministrazione” (58% delle reazioni), relative soprattutto a interferone β e glatiramer

acetato, seguite da “patologie del sistema nervoso” (13%) e da “patologie del sistema emolinfopoietico” (6%) soprattutto a carico degli immunosoppressori (Figura 13).

Figura 13 Numero di casi di reazioni avverse raggruppate per classificazione sistemica organica MedDRA

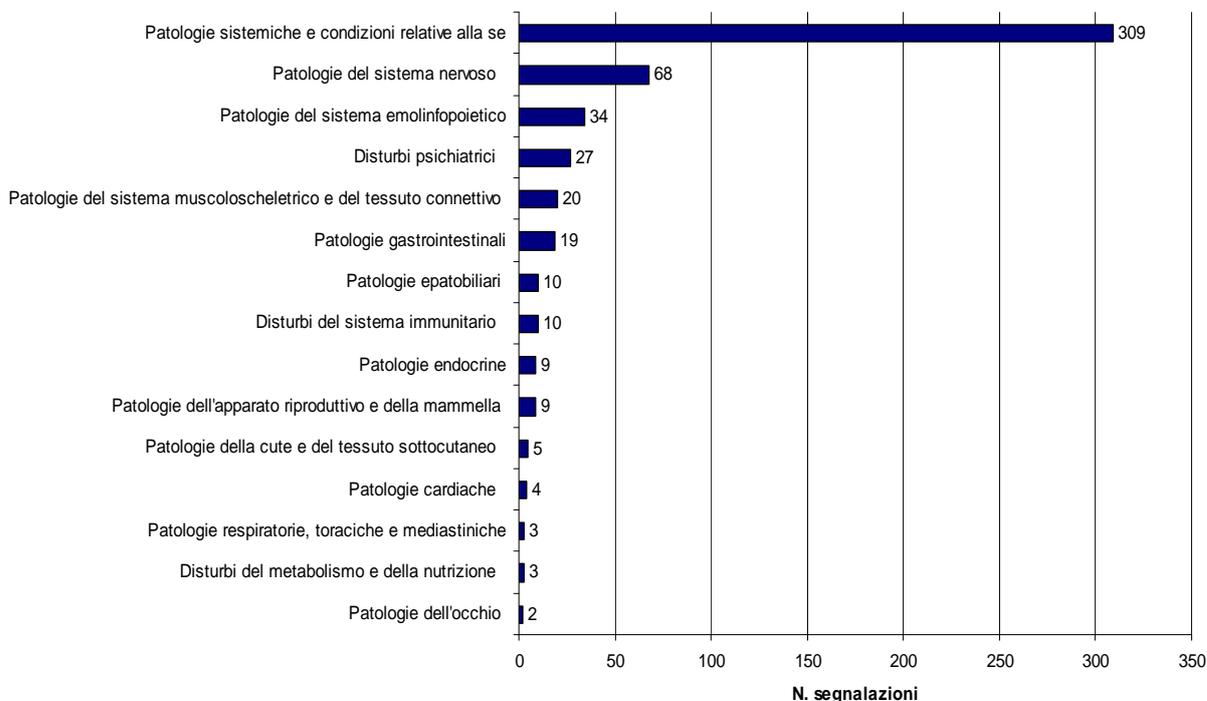


Tabella 13 Descrizione reazioni avverse in base ai trattamenti registrati

Farmaco	N. schede di segnalazione	N. reazioni avverse	Trattamenti registrati	% reaz. avverse/ trattamenti
Avonex	100	142	277	51%
Betaferon	82	136	144	94%
Rebif22	49	98	193	51%
Glatiramer acetato	46	63	138	46%
Rebif44	41	76	141	54%
Mitoxantrone	4	10	61	16%
Azatioprina	3	7	120	6%
Altri farmaci			23	0%
Totale	325	532	1097	48%

Nel complesso, per il 48% dei trattamenti è stata registrata almeno una reazione avversa. Il tasso più elevato di segnalazioni rispetto al numero di trattamenti registrati per un determinato farmaco è attribuibile al trattamento con Betaferon (94%), seguono

Rebif44 (54%), Avonex e Rebif22 (51% rispettivamente), glatiramer acetato (46%), mitoxantrone (16%) e azatioprina (6%, Figura 13).

Tabella 14 Descrizione reazioni avverse per trattamento

Classificazione MedDRA	Avonex	Betaferon	Rebif22	Rebif44	Glatirame acet.	Mitoxantrone	Azatioprina	Totale	%
Patologie sistemiche e condizioni relative alla sede di iniezione	84	93	34	48	47	2	1	309	58%
Patologie del sistema nervoso	28	16	10	8	3	1	2	68	13%
Patologie del sistema emolinfopoietico	3	6	12	9	2	2		34	6%
Disturbi psichiatrici	6	5	15	1				27	5%
Patologie del sistema muscoloscheletrico	9	3	4	3	1			20	4%
Patologie gastrointestinali	2	1	8	3	1	2	2	19	4%
Disturbi del sistema immunitario	1	1	2	1	5			10	2%
Patologie epatobiliari		3	5				2	10	2%
Patologie dell'apparato riproduttivo e della mammella	2	2	1		1	3		9	2%
Patologie endocrine	3	3	2	1				9	2%
Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo	2	3						5	1%
Patologie cardiache			4					4	1%
Disturbi del metabolismo e della nutrizione				1	2			3	1%
Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche	2				1			3	1%
Patologie dell'occhio			1	1				2	0%
Totale	142	136	98	76	63	10	7	532	100%

Le “patologie sistemiche e condizioni relative alla sede di somministrazione” sono state registrate nel 30% dei casi in seguito ad un trattamento con Betaferon, nel 27% con Avonex. Le “patologie del sistema nervoso” sono state registrate nel 41% dei casi in seguito ad un trattamento con Avonex e nel 24% con Betaferon. Le “patologie del sistema emolinfopoietico” sono state registrate nel 35% dei casi in seguito a Rebif22. Le

reazioni avverse da evidenziare per la loro importanza sono i disturbi psichiatrici (5%) registrati nel 55% dei casi in seguito a Rebif22 (Tabella 14).

Descrizione dei follow-up e delle ricadute

All'interno del database sono state compilate 1937 "schede visita" relative a 1359 pazienti. Il 17% dei pazienti (229 casi) non ha registrato alcuna visita successiva alla prima scheda clinica inserita, mentre l'83% dei pazienti (1130 casi) ne ha registrata almeno una.

Tabella 15 Esiti delle visite di follow-up

Esito della visita	Si	%	No	dato mancante
Interruzione trattamento	111	8%	1479	347
Nuovo trattamento	92	7%	1428	417
Osservazione ADR	221	16%	1279	437
Osservazione ricaduta	125	9%	1381	431

Il 16% delle visite ha portato alla segnalazione di una reazione avversa, il 9% all'osservazione di una ricaduta, l'8% a un'interruzione del trattamento e il 7% al cambiamento di terapia (Tabella 15).

Sono stati registrati 44 casi di cambiamento di decorso, riferiti sia a cambiamenti avvenuti dalla prima scheda clinica alla visita successiva, sia a cambiamenti registrati tra diverse visite del paziente. Di questi, 13 sono relativi a un passaggio da una forma RRMS a una SPMS, 8 da una RRMS a una RPMS; 5 da una RPMS ad una SPMS, 2 casi da una RPMS o SPMS a una RRMS rispettivamente, 1 caso da una PPMS ad una SPMS. In 2 casi si è avuto un triplice cambiamento del decorso passando da una RRMS a una RPMS e quindi ad una SPMS e 1 caso passando da una RRMS ad una SPMS quindi ad una RPMS.

Infine, sono stati registrati 10 cambiamenti di decorso difficilmente giustificabili da un punto di vista clinico, probabilmente dovuti a errori di registrazione del dato. Pertanto, sono stati classificati come "dubbi".

Sono state registrate 168 ricadute riferite a 136 pazienti, di cui l'85% presenta una sola ricaduta, il 9% due ricadute, il 5% tre ricadute e solo l'1% quattro ricadute. Il 90% dei pazienti inseriti all'interno del database non registra alcuna ricaduta.

Delle 168 ricadute registrate, il 92% (155 casi) presenta una terapia della ricaduta mentre l'8% (13 casi) non ha richiesto alcun tipo di trattamento per far fronte all'evento.

MSSS (Multiple Sclerosis Severity Score)

A partire dai dati relativi ai 1359 pazienti inseriti all'interno del database, sono stati selezionati solo i pazienti con un valore EDSS all'ultima visita e sono stati calcolati gli anni di malattia a partire dalla data della diagnosi. Sono stati esclusi i pazienti con meno di 1 anno di malattia, in quanto il metodo dell'MSSS non è applicabile. Pertanto sono stati selezionati 349 pazienti (26% del totale) che rispondevano a questi criteri. Tali dati sono stati elaborati tramite il programma MSSStest che ha permesso di calcolare il valore MSSS per ogni singolo paziente. Successivamente è stato associato a ogni paziente il farmaco con cui era in trattamento al momento della valutazione dell'EDSS. Per ogni tipo di trattamento è stato calcolato il valore medio dell'MSSS di tutti i pazienti in cura con quel farmaco.

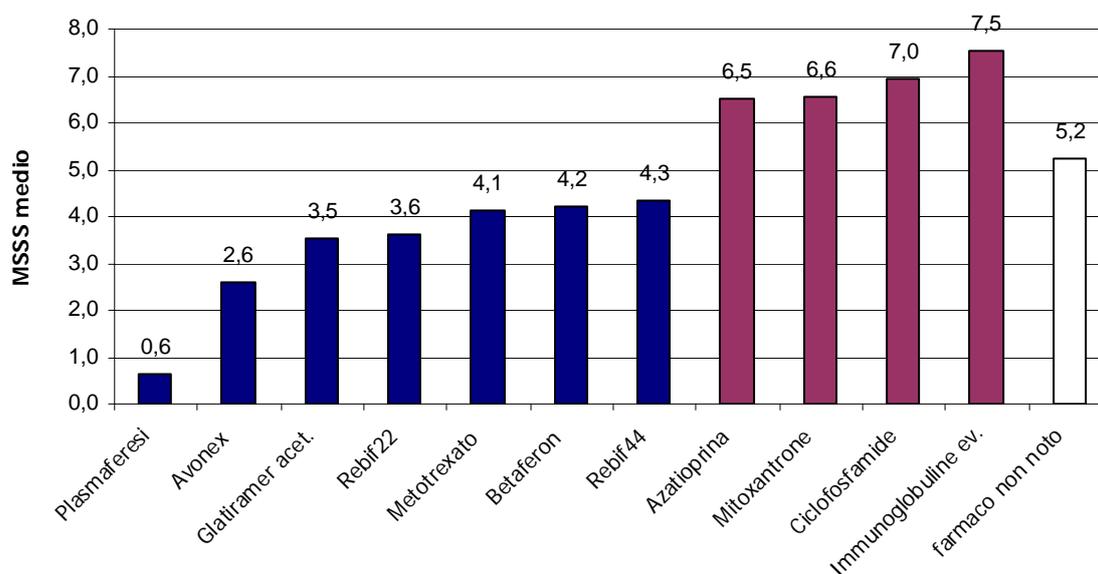


Figura 14 MSSS medio per trattamento farmacologico

È possibile notare (Figura 14) come i trattamenti immunomodulanti (interferone β , glatiramer acetato) vengano utilizzati preferenzialmente per valori di MSSS medio relativamente bassi ($MSSS \leq 5$, lenta progressione della malattia), mentre i farmaci immunosoppressori (azatioprina, mitoxantrone, ciclofosfamide) trovano impiego quando la malattia progredisce più rapidamente ($MSSS \geq 5,5$).

Discussione

Dal suo inizio nel marzo 2006 al gennaio 2009, il progetto di monitoraggio dei trattamenti immunomodulanti e immunosoppressori nella SM in Emilia Romagna ha

mostrato un progressivo aumento di interesse presso gli specialisti neurologi e un aumento di consistenza nel suo valore farmacoepidemiologico.

Le caratteristiche anagrafiche e il decorso della malattia dei pazienti inclusi in questo studio, sono risultati coerenti con i dati epidemiologici riportati in letteratura, come la prevalenza di pazienti di sesso femminile (70%) e il decorso RRMS (55%)⁴. La prevalenza del sesso femminile è molto marcata per la forma RRMS, mentre per le progressive si nota una più equa distribuzione tra i due sessi, come anche riportato in letteratura⁷³. Tra le forme progressive, la SPMS interessa prevalentemente pazienti con età avanzata (maggiore di 40 anni), confermando che questo sottotipo di sclerosi rappresenta l'aggravamento di uno stato patologico preesistente.

La metà dei pazienti attualmente in trattamento ha ricevuto una diagnosi di SM basata sui precedenti criteri di Poser¹⁵, mentre i restanti casi sono stati diagnosticati tramite i più attuali criteri di McDonald¹⁶, che tengono conto dei risultati della risonanza magnetica.

Per quanto riguarda le scelte di trattamento, nel 68% dei casi si è utilizzato interferone β , soprattutto nella specialità medicinale Avonex, che viene ampiamente utilizzata sia per la ricchezza di dati in letteratura a supporto del suo utilizzo, sia per la maggiore compliance rispetto agli altri trattamenti grazie alla mono-somministrazione settimanale.

Dall'analisi della distribuzione dei trattamenti in base al sottotipo di SM si evince che nella forma RRMS sono preferite le diverse formulazioni di interferone β -1a, mentre nel caso di forme progressive della malattia (RPMS, PPMS e SPMS), i pazienti sono trattati più spesso con interferone β -1b, mitoxantrone e azatioprina. Queste scelte sono attribuibili in parte alle indicazioni per cui sono autorizzati i singoli principi attivi: infatti, interferone β -1a e glatiramer sono autorizzati solo per la forma RRMS, mentre mitoxantrone e interferone β -1b per le forme progressive. Inoltre, il ricorso a farmaci differenti da interferone β -1a e glatiramer è riconducibile a tentativi terapeutici in successione per controllare la progressione della malattia, ricorrendo anche a usi off-label, come nel caso dell'azatioprina.

Il mitoxantrone, farmaco indicato in Italia solo nelle forme progressive della malattia⁷⁴, in una piccola percentuale di pazienti (4%) è stato utilizzato nella forma RRMS, in linea con le raccomandazioni statunitensi, dove la FDA ha approvato il mitoxantrone anche per il trattamento delle forme recidivanti in rapido peggioramento⁷⁵. Da un'analisi più accurata della storia terapeutica dei singoli pazienti, è emerso che il ricorso a questo

trattamento nel caso di forme RRMS può essere dovuto a una seconda o terza scelta terapeutica dopo che altri trattamenti sono risultati inefficaci o intollerabili da parte del paziente.

Per quanto concerne il rispetto delle posologie consigliate dalle schede tecniche, le difformità sono molto limitate e la più alta percentuale di posologie non conformi agli standard si è riscontrata proprio per il mitoxantrone, prescritto nella metà dei casi con trattamento ad hoc per paziente. Ciò può essere giustificato dal fatto che la terapia con questo farmaco deve essere accompagnata da un accurato e frequente monitoraggio dei parametri di laboratorio ematologici e chimici, così come da una stretta osservazione clinica del paziente; inoltre sono anche necessari test di funzionalità epatica per un appropriato aggiustamento della dose, che possono suggerire posologie differenti dalla norma⁷⁴.

La distribuzione dei trattamenti in base al punteggio EDSS rivela che per valori di disabilità alta (EDSS ≥ 3) aumenta l'utilizzo di trattamenti a somministrazione più frequente (Betaferon), a dosaggi più elevati (Rebif44) o con principi attivi alternativi all'interferone (glatiramer acetato), somministrati rispettivamente a giorni alterni, 3 volte/settimana e giornalmente. Dunque, in casi di disabilità crescente, i clinici tendono a preferire regimi posologici con somministrazioni più ravvicinate, forse con la convinzione di assicurare una copertura continua del paziente e attuare un maggior controllo sulla progressione della malattia.

L'analisi dei valori EDSS ha permesso di individuare diversi casi di prescrizione di immunomodulanti non in linea con le indicazioni ministeriali: la nota AIFA 65, infatti, esclude la rimborsabilità da parte del Servizio Sanitario Nazionale degli immunomodulanti (interferone β e glatiramer acetato) in pazienti con RRMS con punteggio EDSS inferiore a 1⁷⁶. In 85 casi, invece, è stato prescritto un trattamento con questi principi attivi anche a pazienti con una disabilità quasi assente (EDSS minore di 1). Il mancato rispetto dei vincoli regolatori potrebbe essere giustificato dall'opinione diffusa che il solo punteggio EDSS non è sufficientemente predittivo dell'efficacia dei trattamenti e pertanto occorre una più ampia valutazione dei pazienti per decidere il ricorso a farmaci immunomodulanti.

L'analisi degli esiti dell'MRI cerebrale ha mostrato che l'utilizzo di interferoni a più alta frequenza di somministrazione, così come di glatiramer acetato, aumenta in caso di lesioni attive; ciò risulta in linea con il ruolo di tali farmaci nella prevenzione della comparsa o dell'attivazione di nuove lesioni e nella riduzione delle lesioni presenti^{77,78}.

Al contrario, è emerso che il mitoxantrone viene impiegato quasi in egual modo in presenza e in assenza di lesioni attive, seppure la sua azione nei confronti delle differenti tipologie di lesioni non ha ancora trovato piena dimostrazione in letteratura.

In generale dall'analisi dei dati raccolti si evidenzia una forte sproporzione tra l'utilizzo dei trattamenti immunomodulanti e di quelli immunosoppressori: ad eccezione del mitoxantrone, infatti, questi ultimi sono scelti in percentuali inferiori al 4%. Ciò potrebbe essere influenzato dalla mancanza di indicazione di questi trattamenti per la SM, dalla carenza di studi a supporto dell'efficacia per il trattamento di questa patologia e anche dalla difficile gestione di alcuni possibili eventi avversi anche molto gravi, come il rischio di sviluppo di neoplasie. Inoltre non va tralasciato che questi trattamenti, già utilizzati in altre patologie, hanno un costo di molto inferiore a quello dei farmaci immunomodulanti. Per questo motivo, forse, l'industria farmaceutica potrebbe non essere interessata a sviluppare ricerche sull'efficacia e sulla sicurezza di tali farmaci, al contrario di quanto accade per l'interferone e glatiramer acetato che sono stati sviluppati per il trattamento specifico della SM e hanno un costo ben più alto.

I numerosi cambiamenti di terapia registrati nell'analisi trovano riscontro in recenti studi, che riconoscono proprio nel cambiamento di terapia una strategia vincente per ottimizzare il trattamento DMD⁷⁹. Infatti, nella pratica clinica svariati fattori possono influenzare la scelta di un particolare trattamento immunomodulante, come il profilo clinico del paziente, la compliance al trattamento, l'efficacia clinica e la sicurezza, gli esiti della risonanza magnetica e la tossicità nei confronti di alcune terapie. Pertanto combinando parametri clinici e diagnostici si potrebbero formulare criteri per i cambiamenti di terapia e indicare utili riferimenti per l'interpretazione dell'efficacia clinica dei farmaci DMD⁷⁹.

Riguardo alle informazioni emerse sulla comparsa di reazioni avverse, i sintomi simil-influenzali da interferoni e le reazioni locali al sito di iniezione da glatiramer acetato costituiscono la grande maggioranza delle segnalazioni e probabilmente questa percentuale sarebbe più elevata se non si verificasse una sottosegnalazione data la notorietà e a volte la scarsa gravità di questi sintomi²⁹.

Occorre evidenziare la comparsa di depressione (14 segnalazioni) soprattutto in seguito a trattamento con interferone. Anche se un'associazione tra interferone e induzione o peggioramento della depressione non è stata confermata con dati statisticamente significativi, questo aspetto necessita sicuramente di un'attenta vigilanza⁸⁰. Altre segnalazioni di reazioni avverse riguardano la leucopenia (20 casi) che, in accordo con

quanto già riportato in letteratura²⁹, può aver luogo in seguito a trattamenti con dosi di interferone più alte e con somministrazioni più frequenti. Infine, sono stati registrati 7 casi di tiroidite e 2 di ipertiroidismo in pazienti trattati con interferone β ; in proposito, l'associazione tra la terapia con interferone β e lo sviluppo di disfunzioni tiroidee è nota, e si evidenzia particolarmente nel primo anno di trattamento; dai dati riportati in letteratura si evince che le disfunzioni tiroidee sono generalmente subcliniche e transitorie in più della metà dei casi e il solo fattore predittivo per lo sviluppo di patologie tiroidee è l'autoimmunità preesistente o incidente⁸¹.

Con l'obiettivo di fornire informazioni sempre più utili circa la reale efficacia dei trattamenti in studio, è stato applicato ai nostri dati il Multiple Sclerosis Severity Score (MSSS)⁴². Questo parametro, che ad oggi ancora non rientra negli outcome dei trial clinici, può considerarsi un approccio avanzato per valutare la velocità di progressione della malattia, andando a combinare due elementi: EDSS e durata della malattia in anni. Da questa analisi sono emersi risultati analoghi a quelli ottenuti dall'analisi del solo EDSS ed in particolare è emerso che i pazienti con una progressione della malattia più veloce ricevono gli immunosoppressori (azatioprina, mitoxantrone e ciclofosfamide), mentre quelli con un decorso più lento assumono immunomodulanti (interferoni e glatiramer). Infine, è importante sottolineare che durante tutto il periodo di svolgimento, lo studio ha rappresentato un'importante possibilità di confronto tra i medici circa i diversi approcci terapeutici ad una malattia ad evoluzione progressiva, per la quale esistono numerose lacune sull'eziopatogenesi, sulla predittività delle indagini diagnostiche e, naturalmente, sulle strategie di trattamento.

I dati ottenuti da tale studio osservazionale si dovranno integrare con i risultati delle sperimentazioni cliniche attualmente in corso, al fine di definire al meglio i ruoli in terapia dei singoli farmaci.

PARTE 2 - IL REGISTRO NAZIONALE TYSABRI (NATALIZUMAB)

Introduzione

Gli anticorpi monoclonali nella sclerosi multipla

Negli ultimi 15 anni le strategie terapeutiche per la sclerosi multipla (SM) hanno conosciuto un notevole cambiamento. Grazie all'avanzamento delle conoscenze sull'immunopatogenesi della malattia sono stati individuati potenziali trattamenti farmacologici. Essi superano il punto di vista tradizionale che la SM sia semplicemente una malattia del sistema nervoso centrale mediata da cellule T CD4⁺ e agiscano a diversi livelli del sistema immunitario⁸².

Tra le più recenti strategie terapeutiche per la SM, gli anticorpi monoclonali (Monoclonal Antibodies - MAb) rappresentano la classe in maggiore sviluppo e sembrano costituire il nuovo arsenale terapeutico per tutte le patologie con una componente immunitaria.

Inizialmente, l'impiego terapeutico dei MAb era limitato a causa dei problemi di immunogenicità determinati dalla loro natura non umana. Successivamente, i ricercatori hanno cercato di superare tale limite sviluppando composti umanizzati (struttura al 90% umana e il 10% murina), chimerici (~66% umana e ~34% murina) o completamente umani (100% umana)⁸³. I MAb sono costituiti da un frammento antigene-legante (F_{ab}) e da un frammento cristallizzabile (F_c), o complemento-legante, disposti a forma di "Y". Le regioni del frammento F_{ab}, che costituiscono le braccia della "Y", determinano come l'anticorpo si legherà all'epitopo (o determinante antigenico, ossia la parte specifica di una molecola che risulta affine all'anticorpo stesso).

I fattori che determinano le modalità con cui un MAb agisce sul suo target sono:

1. la funzione e la distribuzione del target;
2. l'interazione del MAb con il target, che può essere di tre tipi:
 - a) di legame: il MAb si lega alla molecola ma non interferisce con la sua funzione, ad esempio funge esclusivamente da marker per la distruzione della molecola stessa o per un suo legame con una tossina;
 - b) di blocco: il MAb blocca l'epitopo necessario per l'interazione con un ligando;
 - c) di segnalazione: il MAb mima la funzione di un ligando che rappresenta un segnale tra molecole.
3. l'effetto del MAb: il MAb può mediare la risposta citotossica e distruggere così le cellule colpite. Tali funzioni dipendono dal dominio F_c e dalla sua interazione con le cellule del sistema immunitario;

4. l'accesso del MAb al sistema nervoso centrale: i MAb sono molecole molto grandi e pertanto necessitano di essere trasportate attraverso la barriera ematoencefalica. Tale trasporto è in genere limitato (~0,1% del farmaco somministrato sistemicamente raggiunge il compartimento intratecale), tuttavia nei pazienti con SM risulta essere superiore a causa delle lesioni presenti⁸⁴.

Di seguito vengono descritti i meccanismi d'azione dei MAb per la SM attualmente impiegati in clinica, o che rientrano in protocolli di studio di fase II e III (per un riepilogo si veda Tabella 16).

Tabella 16 Target ed effetti dei MAb per la SM
Fonte: Bielekova, Neurology 2010

<i>Farmaco</i>	<i>Target</i>	<i>Effetti</i>
Natalizumab	CD49d(VLA-4)	Inibizione della migrazione delle cellule immunitarie nel SNC inibizione del ricambio delle cellule presentanti l'antigene nel SNC mobilizzazione dei precursori dei linfociti (CD34+ e cellule pre-B) dal midollo osseo
Rituximab	CD20	Deplezione delle cellule B
Alemtuzumab	CD52	Deplezione delle cellule che presentano CD-52 (linfociti T e B, cellule natural Killer, macrofagi, cellule dendritiche e alcuni granulociti)
Daclizumab	CD25(IL-2Rn)	Inibizione del segnale di IL-2 lieve inibizione della proliferazione delle cellule T

Natalizumab

Il natalizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato con una struttura IgG4 ed è un inibitore selettivo delle molecole di adesione il cui target è il CD49, la subunità α_4 del recettore VLA-4. Tale recettore interagisce con le molecole di adesione delle cellule vascolari che permettono alle cellule del sistema immunitario di migrare attraverso la barriera ematoencefalica. Il natalizumab pertanto lega le α_4 -integrine espresse sulla superficie delle cellule T attivate e di altri leucociti mononucleati, prevenendo così la loro adesione alle cellule endoteliali. Tale azione inibisce la migrazione dei leucociti all'interno del sistema nervoso centrale (per maggiori dettagli si veda pag.63).

Rituximab

Nonostante gli studi sulla fisiopatologia della SM si siano focalizzati principalmente sulle cellule T, le recenti evidenze scientifiche suggeriscono anche il ruolo chiave dei linfociti B come potenziale target terapeutico. Il rituximab, infatti, è un anticorpo chimerico che

lega l'antigene CD20 espresso esclusivamente sui linfociti B maturi, ma non sulle cellule del plasma che producono anticorpi. Pertanto, il principale meccanismo d'azione del rituximab è la completa, ma transitoria, deplezione delle cellule B. Grazie a tale azione il rituximab è stato autorizzato, sia dall'FDA⁸⁵ sia dall'EMA⁸⁶, per il trattamento dell'artrite reumatoide e per i linfomi che interessano le cellule B (es. linfoma non Hodgkin a grandi cellule B). Diversi studi clinici hanno valutato l'azione di questo anticorpo sul processo infiammatorio della SM. In uno studio in aperto di fase I su pazienti con RRMS⁸⁷, il rituximab ha dimostrato un rapido e duraturo miglioramento della progressione della malattia, in termini di ricadute, lesioni gadolinio-captanti, nuove lesioni T2 e volume delle stesse. Simili risultati sono stati registrati in uno studio di fase II in doppio cieco che ha coinvolto 104 pazienti con la stessa tipologia di malattia⁸⁸. Mentre in pazienti affetti dalla forma PPMS della malattia, il farmaco non si è dimostrato efficace. Tali risultati, considerando anche il profilo di sicurezza a lungo termine del farmaco, possono far ritenere il rituximab una futura alternativa terapeutica per la SM.

Alemtuzumab

L'alemtuzumab è un anticorpo umanizzato, approvato dall'FDA⁸⁹ e dall'EMA⁹⁰ per il trattamento della leucemia linfocitica cronica. Il suo target è il CD52, una glicoproteina ampiamente espressa nel sistema immunitario (linfociti T, linfociti B, cellule Natural Killer, cellule dendritiche, la maggior parte di monociti e macrofagi, alcuni granulociti, ma non i neutrofili)⁹¹.

Gli studi sul suo possibile impiego nella SM, condotti da un gruppo dell'università di Cambridge, hanno messo in rilievo la sua efficacia anche per questa patologia. Infatti, l'alemtuzumab, in vitro, determina una deplezione immediata e quasi totale, delle cellule che presentano il CD52 con un'eliminazione delle linee cellulari B-linfoidi⁹². Tuttavia, non è ancora chiaro se tale effetto risulti rilevante anche in vivo⁹³. La deplezione delle cellule immunitarie è associata con una drastica diminuzione delle lesioni captanti il gadolinio, e ciò indica così una stabilizzazione della barriera ematoencefalica. Sulla base di questo meccanismo si ipotizza un ruolo del farmaco nelle prime fasi della SM. Infatti, in uno studio di fase II in singolo cieco (dove il paziente era a conoscenza del trattamento somministratogli, al contrario del medico che effettuava la valutazione)⁹⁴ in cui l'alemtuzumab era associato all'interferone β -1a, è stato registrato un leggero miglioramento della disabilità rispetto ai pazienti che ricevevano

soltanto interferone, e dei miglioramenti rilevabili con la risonanza magnetica. Attualmente, per definire il ruolo dell'alemtuzumab, sono in corso due studi di fase III: in pazienti con SM mai trattati (CARE-MSSM I) e in pazienti che non rispondono adeguatamente alle terapie immunomodulanti (CARE-MSSM II).

Daclizumab

Il daclizumab, largamente impiegato per prevenire il rigetto di un trapianto allogenico, rappresenta un ulteriore possibile farmaco per la SM. Sebbene il suo meccanismo d'azione debba ancora essere completamente definito, questo anticorpo monoclonale umanizzato blocca il CD25 che costituisce l'epitopo del recettore per IL-2 (IL-2R). Il razionale alla base dello sviluppo di questo anticorpo è la soppressione della proliferazione della cellule T attraverso il blocco della formazione del complesso con IL-2R. Infatti, IL-2 gioca un ruolo importante nella regolazione della proliferazione/diminuzione dei linfociti⁹⁵. Tuttavia, sono numerosi i dubbi circa il mantenimento di questa azione anche in vivo. Attualmente sono disponibili solo tre studi di fase II condotti in aperto che hanno valutato il ruolo di questo anticorpo nella SM. In due di questi⁹⁶⁻⁹⁸, il daclizumab era somministrato come terapia aggiuntiva all'interferone β , mentre il terzo⁹⁹ è stato condotto con lo scopo di dimostrare la sua efficacia come monoterapia rispetto alla terapia d'associazione con l'interferone. Questo studio ha mostrato risultati incoraggianti per ciò che riguarda la stabilizzazione dei pazienti con RRMS. Pertanto, è stato intrapreso uno studio in doppio cieco vs. placebo in pazienti con RRMS non rispondenti all'interferone (studio CHOICE). I risultati di questo studio non sono stati ancora pubblicati. In futuro, i dati derivanti da tale studio, associati ai dati sulla sicurezza del farmaco a lungo termine, potranno far sperare in un suo impiego come trattamento di seconda linea per la SM.

Il natalizumab nella sclerosi multipla

Meccanismo d'azione

Il natalizumab (Tysabri) è un anticorpo monoclonale umanizzato che si lega all' α -integrina e previene la migrazione delle cellule del sistema immunitario dal torrente vascolare al parenchima cerebrale^{100,101}. Le integrine sono molecole di adesione che conferiscono una stabilità meccanica nelle interazioni tra le cellule e l'ambiente circostante. Esse agiscono anche come sensori cellulari e come molecole di segnalazione. Tutte le integrine sono costituite da catene α e β legate in maniera non

covalente. La catena α_4 dimerizza sia con la catena β_1 , formando l'antigene CD49d-CD29, che con la catena β_7 formando la molecola 1 associata alla lamina propria. Il natalizumab si lega alla catena α_4 a prescindere dalla catena β a cui essa è associata. Probabilmente esso esplica la sua azione bloccando la capacità di $\alpha_4\beta_1$ e di $\alpha_4\beta_7$ di legarsi al loro rispettivi recettori endoteliali, vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) e mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1). I legami tra queste molecole sono indispensabili per permettere ai linfociti di migrare nel sistema nervoso centrale (legame di $\alpha_4\beta_1$ con VCAM-1) e nell'intestino (legame $\alpha_4\beta_7$ con MAdCAM-1). I leucociti, infatti, mediante un'adesione iniziale, rallentano e iniziano a rotolare lungo la parete vascolare, meccanismo mediato proprio dalle integrine (che si trovano in una forma a minore affinità). Il rotolamento dei leucociti si arresta quando giunge un segnale da parte di una chemochina, che determina un cambiamento delle integrine in una forma a più elevata affinità^{102,103}.

L'impiego di tale meccanismo, come possibile target per la SM, è emerso da studi condotti sul modello animale di encefalomielite autoimmune, modello di elezione per lo studio della SM. Mentre un tessuto sano di microvasi cerebrali esprime bassi livelli di VCAM-1, nel modello di encefalomielite, lo stato infiammatorio determina un aumento dell'espressione VCAM-1, con conseguente migrazione dei linfociti nel sistema nervoso centrale. Pertanto, un anticorpo che blocca le α_4 integrine dovrebbe determinare una riduzione della migrazione cellulare nel sistema nervoso centrale e un rallentamento della progressione della malattia¹⁰⁴.

Oltre a mediare tale migrazione, le α_4 integrine partecipano attivamente in altre sedi dell'organismo¹⁰⁵, come mostrato nella Figura 15 e descritto nel Box 4, quindi i farmaci che inibiscono le α_4 integrine, oltre al trattamento della SM, potrebbero in futuro trovare impiego in altre condizioni patologiche come il Morbo di Crohn, la colite ulcerosa, l'artrite reumatoide, le vasculiti e l'asma¹⁰³.

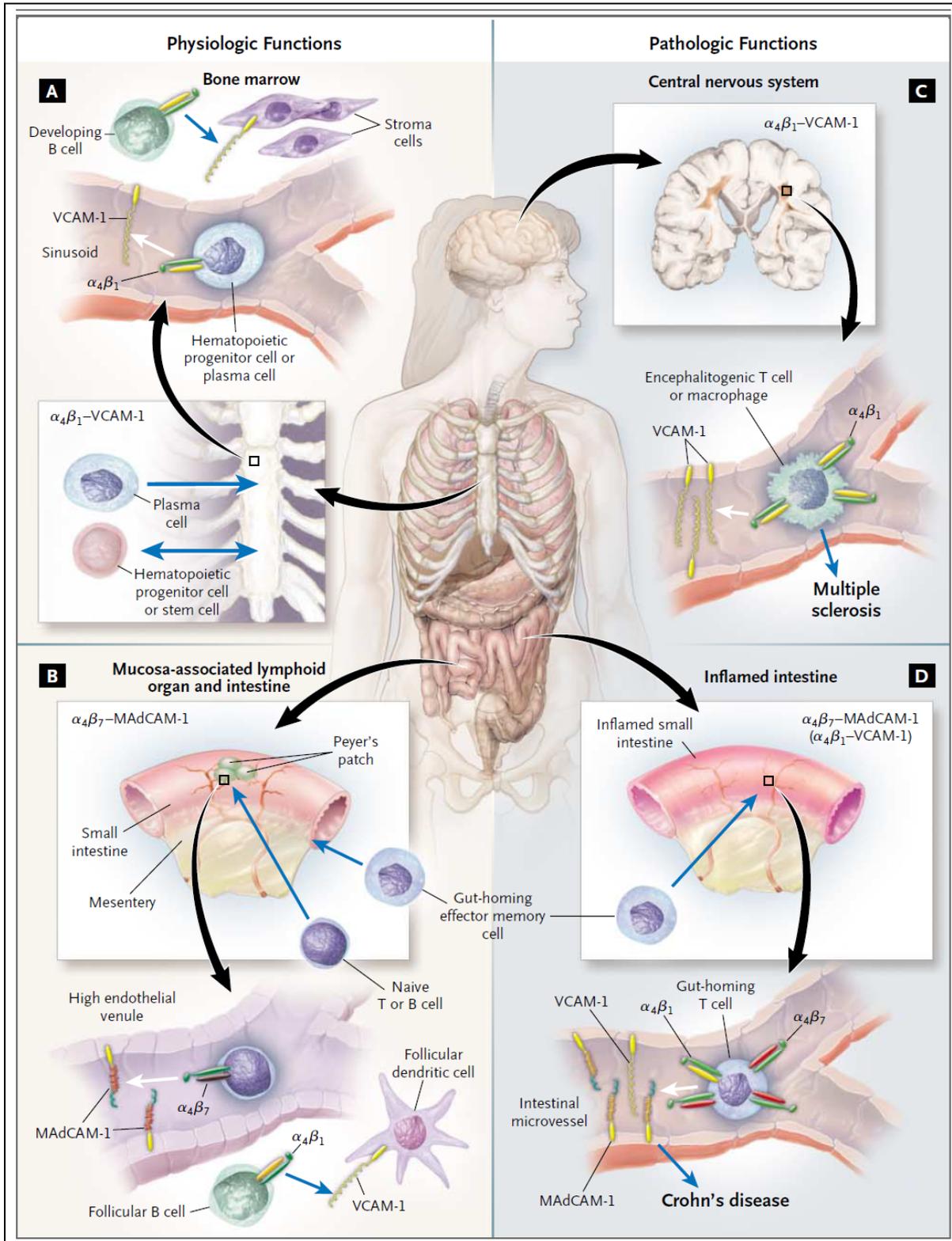


Figura 15 Funzioni fisiologiche e patologiche delle integrine
 Fonte: von Andrian UH, N Engl J Med 2003

Box 4 Funzioni fisiologiche e patologiche delle integrine

Le due α_4 integrine, $\alpha_4\beta_1$ e $\alpha_4\beta_7$, e i loro rispettivi ligandi, VCAM-1 e MAdCAM-1, sono implicate in svariati eventi fisiologici. Il legame $\alpha_4\beta_1$ -VCAM-1 regola il movimento e la ritenzione nel midollo osseo delle cellule ematopoietiche progenitrici e delle plasmacellule che producono IgG (**riquadro A**). Questo legame media anche l'interazione tra le cellule dello stroma del midollo spinale con le cellule B in sviluppo, necessarie per la maturazione delle cellule B. Inoltre esse partecipano all'interazione tra le cellule B mature e le cellule dendritiche follicolari all'interno dei follicoli delle cellule B degli organi linfoidi secondari, come ad esempio la milza, i linfonodi e le placche di Peyer (**riquadro B**). La comunicazione tra le cellule B e le cellule dendritiche follicolari è fondamentale per la generazione di anticorpi ad alta affinità contro i microorganismi patogeni. L'interazione $\alpha_4\beta_7$ -MAdCAM-1 è importante per il mantenimento dell'immunità della mucosa intestinale, soprattutto per il movimento dei linfociti, che aderiscono al MAdCAM-1 nelle venule endoteliali all'interno dei tessuti linfoidi associati all'intestino, e per la migrazione delle cellule immunitarie nella lamina propria. Una funzione patologica delle α_4 integrine è rappresentata dal reclutamento all'interno del sistema nervoso centrale delle cellule T circolanti, monociti e macrofagi (**riquadro C**). Le cellule T attivate possono entrare nel sistema nervoso centrale anche in assenza di un processo infiammatorio, in quanto sui microvasi del sistema nervoso centrale sono espressi, in maniera costitutiva, bassi livelli di VCAM-1. L'espressione di questi è marcatamente incrementata nelle vicinanze di una lesione della SM e contribuisce al reclutamento di cellule che presentano $\alpha_4\beta_1$. Nel morbo di Crohn (**riquadro D**) le cellule T sono reclutate nell'intestino attraverso il legame $\alpha_4\beta_7$ -MAdCAM-1, tuttavia anche il legame $\alpha_4\beta_1$ -VCAM-1 potrebbe contribuire a tale reclutamento¹⁰⁵.

Gli studi clinici

Il natalizumab è stato studiato in pazienti affetti da SM, morbo di Crohn, colite ulcerosa e artrite reumatoide. Per queste due ultime condizioni cliniche sono stati condotti studi di piccole dimensioni e i cui risultati non sono stati pubblicati. Due studi di fase III randomizzati e in doppio cieco hanno valutato la sicurezza e l'efficacia del natalizumab nel morbo di Crohn, i risultati di tali studi, il cui acronimo è ENACT-1 e 2 (Efficacy of Natalizumab, as Active Crohn's Therapy) sono stati descritti nel lavoro a cura di Sandborn et al¹⁰⁶.

Per quanto riguarda la SM, il natalizumab è stato valutato in studi di fase I e II su pazienti con RRMS e SPMS^{107,108}. Successivamente, sui soli pazienti affetti dalla forma RRMS, sono stati condotti due studi di fase III randomizzati in doppio cieco: l'AFFIRM¹⁰⁹ e il SENTINEL¹¹⁰. L'end-point principale per entrambi gli studi era rappresentato dalla probabilità cumulativa, calcolata su 2 anni, di progressione della disabilità, definita come un aumento di ≥ 1 punto sulla scala EDSS per i paziente che al baseline presentavano un punteggio EDSS ≥ 1 , oppure un incremento di 1,5 punti EDSS per i pazienti con un punteggio al baseline pari a 0. Lo studio AFFIRM¹⁰⁹ ha interessato 942

pazienti ed è stato strutturato al fine di valutare il natalizumab come monoterapia nella RRMS. Mentre, lo studio SENTINEL ha valutato l'efficacia del natalizumab come terapia d'associazione all'interferone β -1a in 1171 pazienti con RRMS che avevano avuto una ricaduta durante la terapia con il solo interferone β -1a. Nello studio AFFIRM i pazienti trattati con natalizumab avevano una probabilità di progressione più bassa rispetto a quelli che avevano ricevuto placebo (17% vs. 29% $p < 0,001$). Tale dato è generalizzabile in una riduzione del rischio di progressione di circa il 49% dei pazienti trattati rispetto al placebo (HR=0,58 IC95% 0,43-0,77) dopo due anni di trattamento. Inoltre, è stata registrata una riduzione del 59% delle ricadute con natalizumab rispetto al placebo (HR=0,41 IC95% 0,34-0,51; $p < 0,001$) dopo due anni di trattamento, e un effetto favorevole del farmaco sugli esiti visibili alla risonanza magnetica (diminuzione oltre il 90% dell'accumulo di nuove lesioni T2 e di lesioni captanti il gadolinio nei pazienti trattati con il farmaco rispetto al placebo).

Lo studio SENTINEL¹¹⁰, dopo due anni di un trattamento combinato (natalizumab + interferone β -1a) ha registrato una diminuzione del rischio di progressione del 24% (HR=0,79 IC95% 0,61-0,96; $p = 0,02$) rispetto al trattamento con il solo interferone β -1a. Miglioramenti significativi sono stati registrati anche per le ricadute (riduzione del 50% con la terapia combinata HR=0,50 IC95% 0,43-0,59; $p < 0,001$) e per la risonanza magnetica (89% di riduzione delle lesioni con la terapia combinata, $p < 0,001$).

Nonostante questi risultati ampiamente favorevoli, non è possibile affermare con certezza che il natalizumab sia più efficace dell'interferone β . Infatti, gli studi condotti per quest'ultimo, in particolare lo studio PRISMS⁴³, sono difficilmente confrontabili con quelli del natalizumab a causa dei differenti criteri diagnostici utilizzati (criteri di Poser¹⁵ nel PRISMS vs. criteri di McDonald¹⁶ nell'AFFIRM) e per i diversi intervalli temporali valutati (tre mesi per il PRISM vs. due anni dell'AFFIRM). Pertanto, al fine di dichiarare la superiorità di un trattamento rispetto all'altro risulta indispensabile uno studio testa a testa attualmente non ancora disponibile¹¹¹.

Problemi di sicurezza e decisioni delle autorità regolatorie

Dati di sicurezza dai trial

Per quanto riguarda i dati sulla sicurezza del natalizumab, dagli studi clinici registrativi^{109,110} è emerso che le reazioni avverse con un'incidenza $> 0,5\%$ sono state infezioni urinarie, nasofaringiti, orticaria, ipersensibilità, mal di testa, vertigini, vomito, nausea, artralgia, dolore alle estremità, piressia. Inoltre, dai dati derivanti dagli studi clinici è

emerso che l'interruzione del trattamento a causa di un effetto avverso è avvenuta per la manifestazione di orticaria (1%) e per altre reazioni di ipersensibilità (1%). L'incidenza di infezioni (urinarie, intestinali, polmoniti) è stata maggiore nei trattati vs. placebo (40,4% vs. 35,8%)¹¹².

Un altro elemento degno di nota è rappresentato dalla quota considerevole di pazienti inclusi nei trial registrativi che hanno presentato una persistenza di anticorpi anti-natalizumab (6%). Tali pazienti hanno manifestato un peggioramento delle loro condizioni cliniche. Sebbene sia auspicabile effettuare la ricerca degli anticorpi su tutti i pazienti che ricevono il farmaco, oggi tale precauzione viene riservata ai soli soggetti che presentano una riduzione dell'effetto del farmaco o una persistenza di eventi indesiderati dopo circa sei mesi di terapia¹¹². Al momento della prima commercializzazione, i dati complessivi sulla sicurezza del farmaco erano stati valutati su 1617 pazienti esposti al farmaco con un tempo medio di trattamento pari a 20 mesi¹¹³.

La PML e le decisioni regolatorie FDA ed EMEA

Nonostante i dati emersi dagli studi registrativi abbiano fornito un quadro rassicurante sul profilo di sicurezza del farmaco, l'impiego del natalizumab ha portato alla luce diverse problematiche sulla sicurezza del farmaco. Infatti, appena 4 mesi dopo l'approvazione da parte dell'FDA, avvenuta nel novembre 2004, il natalizumab è stato ritirato dal mercato statunitense¹¹⁴ in seguito al manifestarsi di 3 casi di Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML) in pazienti che avevano preso parte ad alcuni degli studi clinici in cui era stato testato il farmaco. Più precisamente i casi di PML sono comparsi in due pazienti con SM che avevano ricevuto natalizumab in associazione all'interferone β -1a, secondo quanto previsto dal protocollo dello studio SENTINEL¹¹⁰, e in un paziente con morbo di Crohn che aveva partecipato allo studio ENACT 1 e 2¹⁰⁶ e che stava assumendo anche altri immunosoppressori (infliximab e azatioprina). Per due di questi pazienti la reazione è stata fatale^{115,116}, mentre per il terzo ha causato gravi danni neurologici con conseguente marcata disabilità¹¹⁷. Al fine di soppesare il rischio di PML è stata costituita una commissione di esperti (Independent Adjudication Committee - IAC) che, sulla base dei dati dei trial condotti, ha stimato l'incidenza della reazione pari a 1,0 casi di PML ogni 1000 trattati (IC95% 0,2-2,8) su una popolazione che aveva ricevuto il farmaco per un periodo medio di 17,9 mesi¹¹⁸. A seguito di tale stima, nel giugno 2006, il natalizumab è stato riammesso sul mercato

statunitense con l'obbligo di inserire i pazienti trattati all'interno di un programma di monitoraggio creato ad hoc, il TOUCH programme¹¹⁹, in cui il paziente viene mensilmente rivalutato per i sintomi compatibili con una diagnosi di sospetta PML¹²⁰. Nello stesso anno, l'EMA ha approvato il natalizumab sulla base dei risultati di un'analisi post hoc di un sottogruppo di pazienti dello studio AFFIRM¹²¹ e ha istituito particolari misure di sicurezza. Sulla base di tale analisi, il natalizumab è stato approvato esclusivamente come monoterapia nei pazienti affetti da SM recidivante remittente non rispondenti alla terapia con interferone (seconda linea) e nei pazienti con SM recidivante remittente grave a evoluzione rapida come terapia di prima linea¹¹². Nonostante le restrizioni adottate, sono stati segnalati altri casi di PML da natalizumab¹²² e attualmente sono in crescita¹²³. I casi di PML si sono sviluppati anche in pazienti che assumevano il farmaco in monoterapia e che non presentavano uno stato di immunosoppressione né farmacologico né di tipo patologico. Infatti, a fine luglio 2008 sono stati segnalati in Europa due casi di PML in pazienti in trattamento con natalizumab nella fase post-marketing¹²⁴ in monoterapia per circa 17 e 14 mesi rispettivamente.

La decisione dell'AIFA

Il Tysabri ha ottenuto l'autorizzazione all'immissione in commercio (AIC) tramite una procedura EMA, pertanto l'Italia, in quanto stato membro della Unione Europea è tenuta a recepire le AIC autorizzate dall'EMA mediante l'apposita sottocommissione "Procedure Europee" della Commissione Tecnico-Scientifica (CTS) dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Tuttavia, le indicazioni dei farmaci autorizzati con procedura EMA devono essere approvate per l'ammissione alla rimborsabilità del medicinale tramite una determinazione e solo successivamente tali farmaci sono prescrivibili sul territorio nazionale e sono rimborsati dal sistema sanitario nazionale¹²⁵. La necessità di uno strumento legislativo sull'ammissione alla rimborsabilità risponde all'esigenza di governare le nuove indicazioni dei medicinali registrati per il mercato europeo che non sempre garantiscono un vantaggio terapeutico o una auspicabile sicurezza di impiego. Proprio per garantire una maggiore sicurezza di impiego del natalizumab, l'AIFA, con la determinazione del 7 dicembre 2006¹²⁶ ha limitato la possibilità di prescrivere il Tysabri a Centri con specifici requisiti di idoneità. Inoltre, ha ristretto la dispensazione del farmaco a specifici gruppi di pazienti, rispondenti a determinati parametri clinici e ha subordinato la prescrizione dello stesso con l'inserimento dei dati del paziente in un apposito registro di monitoraggio.

Chi sono i non responder all'interferone β

L'indicazione principale per il natalizumab riguarda i pazienti considerati non responder alla terapia con interferone β . Tuttavia, esistono svariati problemi relativi alla definizione di paziente non responder. In letteratura esistono le seguenti definizioni di pazienti non responder:

- pazienti che presentano un incremento di punteggio EDSS confermato a sei mesi dopo due anni di trattamento¹²⁷;
- pazienti con una presenza di qualsiasi ricaduta dopo due anni di trattamento con interferone¹²⁷;
- pazienti con una risposta alla terapia sub ottimale dopo un anno di trattamento sulla base di un modello analogico che valuta contemporaneamente le ricadute, la disabilità e la risonanza magnetica¹²⁸ (modello descritto a pag. 26).

Diversi studi inoltre hanno provato a stimare la quota di non responder o “sub-optimal responder” al trattamento con interferone β . In uno studio condotto su 242 pazienti con RRMS, trattati con interferone β per almeno un anno, può essere considerato “sub-optimal responder” il 35% sulla base del numero di ricadute (almeno 2 nel periodo dello studio), e il 28,5% sulla base della disabilità (incremento di almeno 1 punto all'EDSS che persiste per almeno due visite consecutive con un intervallo di 6 mesi)¹²⁹. In un altro studio di 147 pazienti con la forma RRMS della malattia, trattati per almeno un anno con interferone β , la quota di pazienti non responder può essere definita pari al 28% se si considera un tasso di ricaduta più alto durante il trattamento rispetto a quello riportato prima dell'inizio del trattamento; al 27% se la riduzione del tasso di ricadute durante il trattamento è maggiore del 30% rispetto al periodo precedente; al 56% se si considera l'osservazione di almeno una ricaduta durante il periodo di trattamento con interferone β ; al 27% se si valuta la progressione di almeno un punto all'EDSS mantenuto dopo 6 mesi¹³⁰. In una coorte di 2090 pazienti con SM esposta a interferone β per un periodo medio di tre anni, il 20% dei pazienti ha mostrato una progressione alla disabilità. Il 14,3% è stato definito come non responder considerando i pazienti con un tasso annuale di ricadute sempre maggiore rispetto a quello precedente l'inizio del trattamento per ogni anno di trattamento con interferone β ¹³¹. In quest'ultimo studio si rileva che il rischio di un peggioramento della disabilità o del tasso di ricadute è ridotto di circa 4-5 volte per i pazienti trattati per più di quattro anni rispetto a quelli trattati per un periodo inferiore a due anni. Alla luce di tali considerazioni, appare evidente la

mancanza di criteri condivisi e validati che permettano di identificare un paziente non responder all'interferone β .

Danno epatico da natalizumab

In aggiunta al problema della PML, i dati post-marketing hanno evidenziato un rischio di danno epatico in seguito alla somministrazione del natalizumab. Infatti, dall'analisi delle segnalazioni spontanee relative al Tysabri è emerso un elevato numero di casi di "danno epatico" (29 casi noti a marzo 2008). Con il termine "danno epatico" si identifica qualsiasi effetto indesiderato che potrebbe essere un segno di malfunzionamento del fegato, ad esempio, l'innalzamento dei livelli degli enzimi epatici, la presenza di ittero, o l'infiammazione del fegato (epatite). Le segnalazioni di danno epatico in seguito al trattamento con natalizumab sono avvenute anche per pazienti che avevano ricevuto una sola dose di Tysabri. In alcuni casi i sintomi epatici hanno presentato una regressione con l'interruzione del trattamento, ma gli stessi sintomi si ripresentavano una volta che il farmaco veniva risomministrato. Inoltre, nei casi imputabili al natalizumab, tale danno è risultato di grave entità in circa la metà dei casi. Per tali motivi l'EMA oltre a stabilire l'aggiornamento delle informazioni riportate nel foglio illustrativo e nel riassunto delle caratteristiche del prodotto, al fine di avvisare pazienti e medici prescrittori sulla possibile insorgenza di danno epatico, ha raccomandato ai medici di monitorare la funzionalità epatica dei pazienti in trattamento e di interrompere il trattamento qualora il danno epatico fosse significativo¹³².

Obiettivo

L'obiettivo di questo progetto di ricerca consiste nel realizzare un Registro Italiano per le prescrizioni di Tysabri allo scopo di minimizzare il rischio di PML e ottimizzare l'utilizzo del natalizumab. Tale Registro, oltre ad avere un impiego nella pratica clinica e nel controllo da parte dell'autorità regolatoria, potrà fornire importanti informazioni sul profilo di sicurezza del farmaco e costituirà la base di partenza per migliorarne l'appropriatezza d'uso.

Nella presente ricerca viene descritta la struttura del Registro Italiano Tysabri e vengono illustrati i dati raccolti dopo due anni dalla commercializzazione del farmaco in Italia. Tali dati saranno analizzati al fine di dimostrare l'utilità dei criteri più restrittivi adottati dall'AIFA in termini di sicurezza ed efficacia. Inoltre, i dati contenuti nel Registro saranno confrontati con quelli del trial registrativo AFFIRM.

Metodi

La creazione del Registro Tysabri

Il Tavolo Neurologico

La realizzazione del Registro nazionale Tysabri è avvenuta sotto la guida di un gruppo di esperti (Tavolo Neurologico AIFA) istituito nell'ottobre 2006. Questo gruppo include neurologi, farmacologi, epidemiologi ed esperti di affari regolatori e i suoi compiti sono stati:

- definire appropriati criteri di eleggibilità al natalizumab;
- istituire uno stretto monitoraggio delle reazioni avverse, al fine di evitare il manifestarsi di casi di PML;
- raccogliere i dati sulle caratteristiche cliniche e terapeutiche dei pazienti che ricevevano il farmaco.

I criteri Italiani per l'eleggibilità al trattamento con natalizumab

Il Tavolo Neurologico AIFA, in accordo con la Società Italiana di Neurologia (SIN), ha stabilito alcune limitazioni alla prescrizione del Tysabri individuando criteri più restrittivi rispetto a quelli presenti nelle indicazioni approvate dell'EMA.

Il farmaco, sul territorio italiano, risulta rimborsabile dal Servizio Sanitario Nazionale e quindi prescrivibile, in due tipologie di pazienti:

gruppo A: come terapia di seconda linea in pazienti con RRMS che hanno fallito nella risposta ad un ciclo terapeutico completo ed adeguato con interferone β ;

gruppo B: come terapia di prima linea in pazienti con RRMS grave ad evoluzione rapida.

Un paziente che rientra nella tipologia A, non responder all'interferone β , è definito dai seguenti criteri:

- diagnosi di RRMS;
- terapia immunomodulante seguita per almeno 12 mesi (tale periodo può essere più breve qualora l'assenza di una risposta all'interferone β sia già sufficientemente documentata);
- almeno 2 ricadute durante l'ultimo anno di terapia, oppure 1 ricaduta durante l'ultimo anno di terapia con recupero incompleto della disabilità e con punteggio EDSS \geq 2;
- almeno 9 lesioni iperintense in T2 alla risonanza magnetica cerebrale, oppure una lesione captante gadolinio.

I criteri per definire un paziente con una forma grave e a rapida evoluzione (tipologia B) sono i seguenti:

- diagnosi di RRMS;
- almeno 2 ricadute durante l'ultimo anno di terapia con recupero incompleto della disabilità e con EDSS \geq 2;
- nuove lesioni iperintense T2 rilevate alla risonanza magnetica (in termini sia di aumento del numero sia di volume), oppure nuove lesioni captanti gadolinio; entrambe le tipologie di lesione devono derivare da un confronto con una risonanza magnetica eseguita non più di 12 mesi prima.

Tutti questi criteri hanno costituito un algoritmo di eleggibilità al trattamento (Figura 16) che costituisce la base su cui opera il Registro Tysabri. Questo Registro è stato realizzato utilizzando come punto di partenza il registro della Regione Emilia Romagna per il monitoraggio di tutti i trattamenti DMD per la SM descritto nella Parte 1 della presente tesi (per la struttura del Registro Tysabri si veda Box 5).

Box 5 Struttura del Registro Tysabri

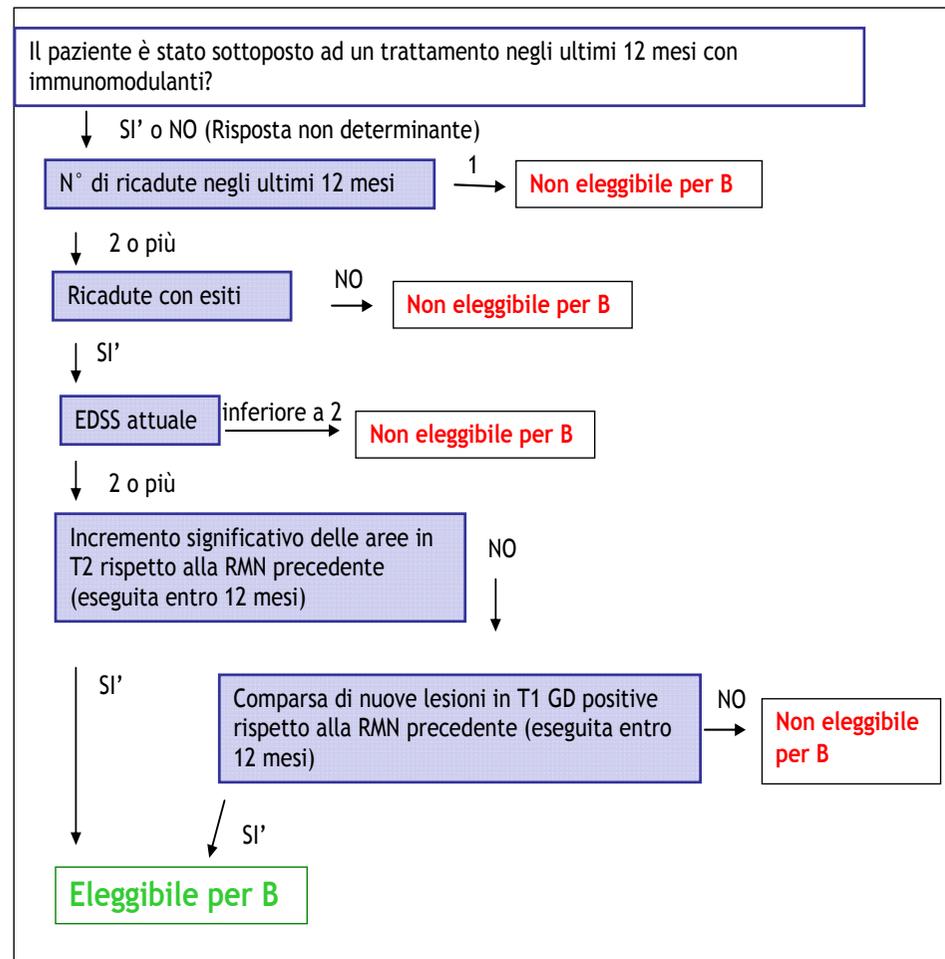
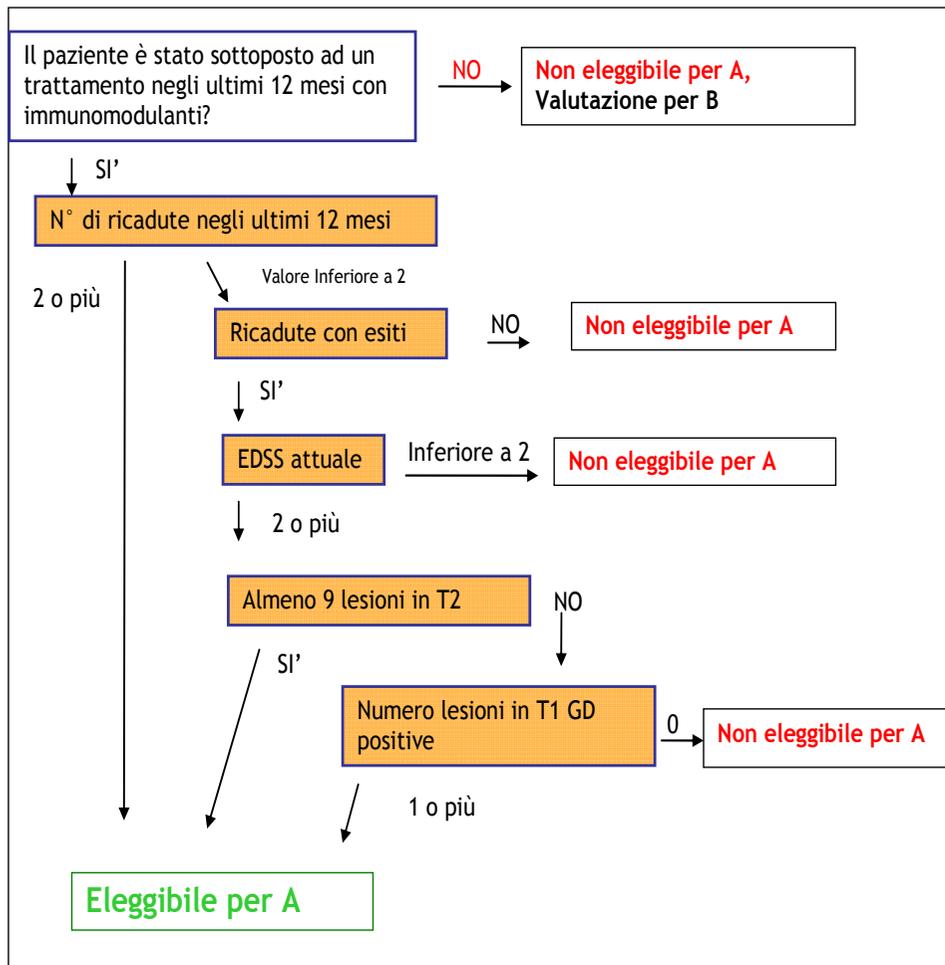
Il Registro Tysabri è un database web-based raggiungibile tramite il sito dell'AIFA al seguente indirizzo internet <http://monitoraggiofarmaci.agenziafarmaco.it>.

La realizzazione e il mantenimento di tale strumento è avvenuta ad opera del Dipartimento Sistemi Informativi e Servizi per la Sanità del Consorzio Interuniversitario CINECA.

Il Registro è organizzato in schede elettroniche, la cui compilazione è vincolante ai fini della erogazione del farmaco. Le schede contenute nel Registro sono le seguenti:

1. *Scheda di accreditamento del Centro:* tramite tale scheda il Centro candidato alla prescrizione del natalizumab dichiara la presenza di tutti i requisiti necessari per la somministrazione del farmaco e ottiene le credenziali di accesso alle schede successive;
2. *Scheda di registrazione del paziente:* vengono inserite le informazioni anagrafiche del paziente candidato al trattamento;
3. *Scheda di eleggibilità del paziente:* in tale scheda vengono inserite tutte le caratteristiche cliniche del paziente. Queste vengono sottoposte ad un controllo secondo l'algoritmo di eleggibilità al trattamento (Figura 15) per stabilire se il paziente è in possesso o meno di tutti i criteri stabiliti dal Tavolo Neurologico;
4. *Scheda di richiesta del farmaco:* tale scheda permette alla farmacia di riferimento del Centro SM di richiedere e ottenere il farmaco;
5. *Scheda di follow-up:* la scheda di follow-up va compilata ogni tre mesi durante il trattamento;
6. *Scheda di fine trattamento:* in cui deve essere esplicitata la motivazione del cessato trattamento;
7. *Scheda di follow-up dopo la fine del trattamento:* questa scheda va compilata ogni 6 mesi dall'interruzione del trattamento. Il sistema invia automaticamente al Centro un avviso per ricordare la compilazione della scheda;
8. *Scheda di segnalazione di sospetta reazione avversa:* in questa scheda il clinico deve segnalare tutte le reazioni avverse registrate in corso di trattamento. Occorre precisare che questo sistema di segnalazione non sostituisce l'invio del modulo di farmacovigilanza stabilito per legge.

Figura 16 Criteri di eleggibilità per il natalizumab



I requisiti dei Centri per la prescrizione di natalizumab

Il trattamento con natalizumab deve avvenire all'interno di Centri con risorse e personale adeguati per la gestione di reazioni avverse gravi, come reazioni anafilattiche e PML¹³³. Pertanto, il Tavolo Neurologico ha individuato una serie di requisiti che ogni Centro deve possedere per poter prescrivere e quindi somministrare il farmaco¹²⁶. Nello specifico un Centro per la somministrazione del natalizumab deve:

- avere esperienza nella diagnosi, terapia e follow-up dei pazienti con SM;
- avere esperienza nel trattamento dei pazienti con interferone β e glatiramer acetato;
- avere esperienza nel trattamento dei pazienti con mitoxantrone e/o ciclofosfamide;
- avere la possibilità di eseguire una risonanza magnetica con caratteristiche di urgenza (entro 24-72 ore) in caso di sospetta PML;
- collaborare con un laboratorio di microbiologia o malattie infettive in grado di eseguire un esame in PCR su sangue o liquor per la ricerca del virus JC;
- avere la possibilità di eseguire una terapia con plasmaferesi e immunoglobuline endovena, che eventualmente può essere utilizzata in caso di PML;
- avere la possibilità di mettere in atto misure terapeutiche tempestive in caso di reazioni da ipersensibilità;
- avere la possibilità di reperire tempestivamente un anestesista rianimatore.
- il personale medico ed infermieristico deve essere adeguatamente formato sulle indicazioni, controindicazioni, possibili effetti collaterali, possibili infezioni opportunistiche, rischio di sviluppo in PML, per i pazienti trattati con Tysabri.

La presenza di tutti questi requisiti deve essere dichiarata dal responsabile del Centro e dal Direttore Generale tramite la compilazione e la firma dell'apposita scheda presente nel Registro (si veda).

Convalida del metodo

I Registri come strumenti per l'appropriatezza prescrittiva

Un "registro di pazienti" è un sistema organizzato che, tramite i metodi degli studi osservazionali, raccoglie dati uniformi (clinici o di terapia) al fine di valutare specifici esiti di una popolazione definita da una particolare malattia, condizione o esposizione.

Esso risulta funzionale ad uno o più scopi scientifici, clinici o di politica sanitaria¹³⁴. Questa definizione rappresenta una derivazione di quanto affermato dalla WHO e dal National Committee on Vital and Health Statistics. In generale un registro di pazienti può rappresentare un potente strumento per (a) osservare il decorso di una malattia, (b) comprendere le modificazioni cliniche durante un trattamento, (c) esaminare i fattori che influiscono sulla prognosi e sulla qualità della vita, (d) descrivere il pattern di trattamento analizzandone l'appropriatezza, (e) valutare l'efficacia clinica di un trattamento, (f) monitorare la sicurezza di un farmaco, e (g) mutare la pratica medica dopo attenta analisi dei dati ottenuti. I registri quindi permettono di superare i limiti impliciti dei trial clinici, in quanto raccolgono informazioni sulla reale pratica clinica e su una popolazione eterogenea e che per la natura stessa dei trial registrativi non potrebbe mai entrare a far parte di uno studio. Di fatto gli studi clinici riportano l'efficacia della terapia facendo riferimento a condizioni ideali, con popolazioni di pazienti che sottostanno a rigidi criteri di inclusione ed esclusione. Le popolazioni spesso estranee a queste osservazioni (anziani, bambini, pazienti con importanti co-morbilità o con una storia di altri trattamenti e di particolari stili di vita, donne in gravidanza) entrano in contatto con le nuove terapie solo all'effettiva commercializzazione dei medicinali. Pertanto i registri svolgono un importante ruolo complementare ai trial nel valutare un nuovo farmaco fornendo dati generalizzabili a tutta la popolazione. Oltre agli scopi clinico-scientifici, i registri possono fornire importanti informazioni per un ente regolatorio, in quanto possono essere utili per definire le politiche sanitarie da mettere in campo e per programmare la spesa sanitaria.

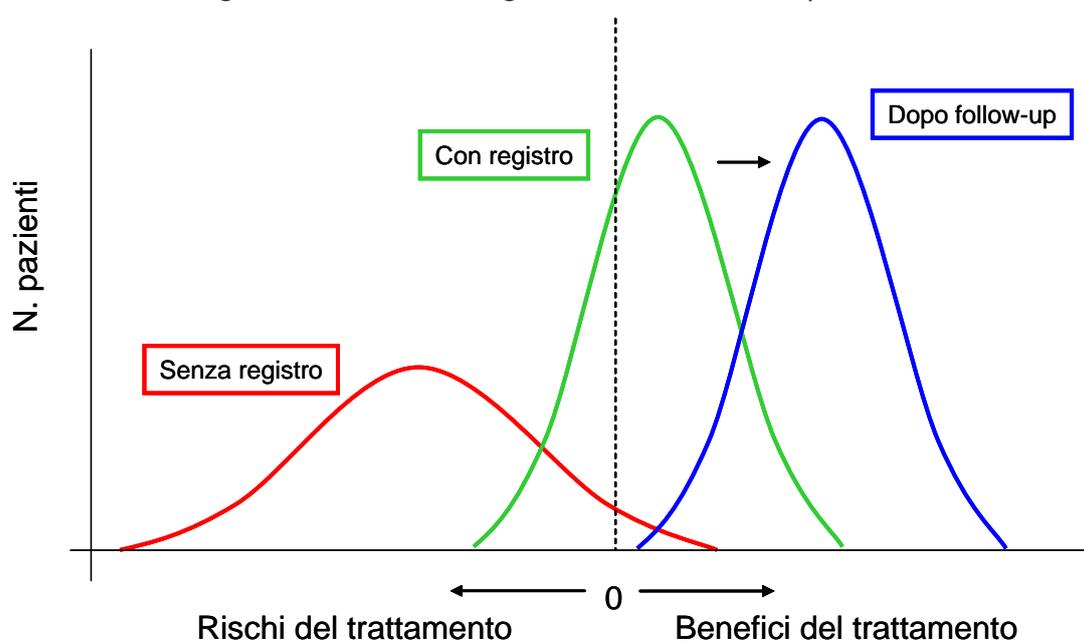
In generale i registri possono essere strutturati in modo da rispondere a diversi scopi: (a) descrivere la storia naturale della malattia, (b) determinare efficacia clinica o costo/efficacia di un trattamento e (c) misurare o migliorare la qualità della cura. Di conseguenza è possibile parlare di tre tipi principali di registri: (a) registri di malattia, (b) registri di trattamento e (c) registri di politica sanitaria. Tuttavia, è possibile creare registri che combinano tali aspetti e rispondano pertanto a più scopi contemporaneamente. Nel caso dei Registri AIFA per i farmaci sottoposti a monitoraggio, tra i quali rientra il Registro Tysabri, è possibile parlare di un registro di un particolare prodotto a cui si associa un registro per la politica sanitaria.

L'approccio dell'AIFA di vincolare la prescrizione di nuove terapie al loro monitoraggio nasce dalla constatazione dell'incertezza che accompagna sempre più spesso la

registrazione di nuovi medicinali e dalla mancanza di dati che permettano di capire come l'indicazione terapeutica verrà nei fatti recepita nella pratica clinica.

I Registri AIFA sono pertanto nati per rispondere a tre necessità principali: (a) favorire l'appropriatezza prescrittiva, (b) raccogliere dati post-marketing e (c) controllare la spesa che per i nuovi ritrovati terapeutici risulta in genere molto elevata. Il Registro risponde appieno alla richiesta di una maggiore appropriatezza in quanto, tramite la scheda di arruolamento dei pazienti permette di diminuire la quota dei pazienti che potrebbero presentare delle reazioni avverse al trattamento e conseguentemente di aumentare la quota di soggetti che possano beneficiarne. Inoltre, tramite il follow-up programmato garantisce una selezione dei pazienti che rispondono al trattamento (Figura 17).

Figura 17 Azione di un registro sulla selezione dei pazienti



Infine, i registri risultano utili anche per cercare di approfondire i fattori che condizionano la variabilità prescrittiva nel territorio. Infatti, l'autorità regolatoria che gestisce la spesa sanitaria, si trova sempre più di fronte alla necessità di stabilire se tale variabilità sia legata a processi diagnostici, a una epidemiologia, ad abitudini terapeutiche o solo a strategie di mercato differenti.

I registri si basano su sistemi di archiviazione informatica di dati e pertanto sono soggetti ad alcuni limiti. Poiché sui registri operano diversi soggetti, i dati in essi contenuti possono risultare incompleti e a volte non standardizzati. Pertanto,

nell'analisi dei dati di un registro è fondamentale operare una pulizia del dato e una interpretazione corretta dello stesso. Inoltre, spesso i monitoraggi imposti dall'autorità regolatoria vengono letti esclusivamente come processi utili a limitare l'accesso al medicinale. Sebbene sia innegabile che le procedure associate al monitoraggio comportino il bisogno di un tempo e di sforzi maggiori da parte dell'operatore sanitario, occorre sensibilizzare tutto il mondo clinico sulla necessità di questi strumenti che permettono di ottenere nuovi ed interessanti dati che confermino o meno la decisione regolatoria iniziale.

Metodi di analisi

I dati di circa due anni di commercializzazione in Italia (gennaio 2007 - settembre 2008) sono stati analizzati in modo descrittivo, al fine di individuare le caratteristiche dei pazienti e la sicurezza del trattamento.

L'analisi descrittiva ha incluso i dati relativi alle caratteristiche dei pazienti, alle somministrazioni effettuate, ai follow-up (in termini di variazioni EDSS e di ricadute), alle reazioni avverse e alle interruzioni del trattamento.

Inoltre, le caratteristiche al baseline dei pazienti inseriti nel Registro sono state confrontate con quelle dei pazienti che hanno partecipato al trial clinico registrativo AFFIRM¹⁰⁹, allo scopo di confermare il rispetto di criteri più restrittivi e indagare la loro effettiva utilità.

Le reazioni avverse al trattamento sono state classificate in accordo alla terminologia MeDdra⁷².

È stata effettuata una stima dell'efficacia del farmaco tramite la variazione del punteggio EDSS, distinguendo tra pazienti migliorati (variazione EDSS<0), stabili (variazione EDSS=0) o peggiorati (variazione EDSS>0). Tale analisi è stata condotta esclusivamente sui pazienti che presentavano almeno una scheda di follow-up inserita.

L'analisi delle ricadute, definite in accordo ai criteri di McDonald¹⁶, avvenute durante la terapia, è stata effettuata solo per i pazienti con più di 6 mesi di trattamento e il numero delle ricadute è stato calcolato sommando le ricadute registrate in tutte le schede di follow-up del paziente.

Risultati

Dati di sintesi

I dati di seguito riportati si riferiscono al periodo che va dall'avvio del Registro, avvenuto nel gennaio 2007, fino a settembre 2008 (dati aggiornati alle ore 4:00 del 26 settembre 2008).

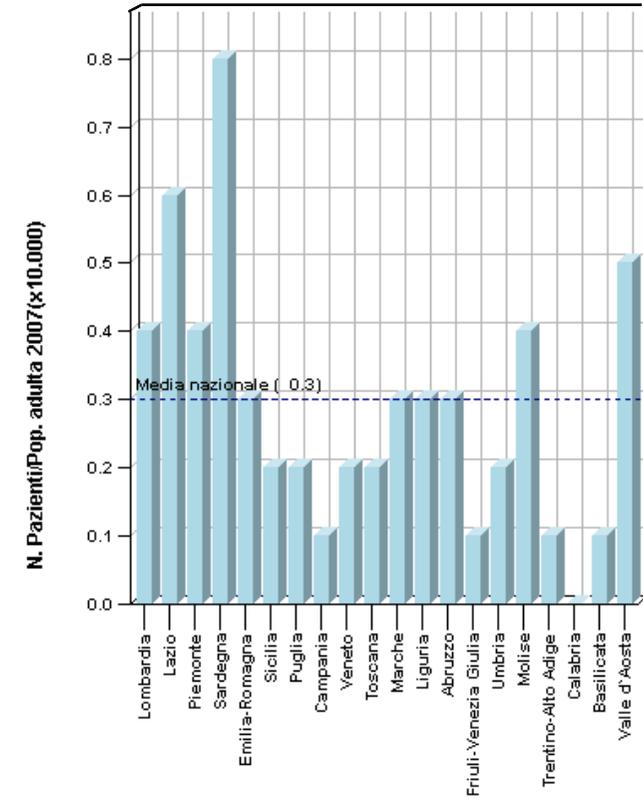
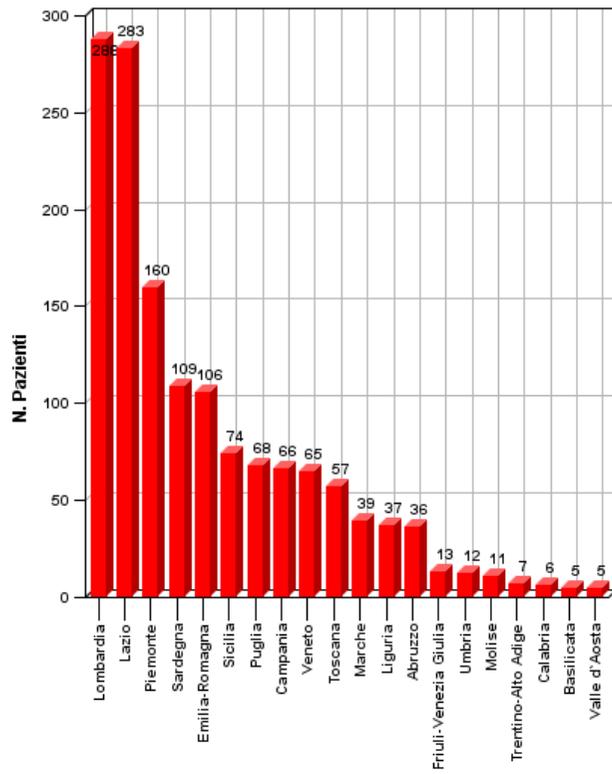
Tabella 17 Dati di sintesi al 29 Settembre 2008

	N.
N. centri accreditati	182
N. centri accreditati con almeno un paziente	137
N. pazienti eleggibili al trattamento	1426
<i>N. pazienti eleggibili per tipologia A</i>	<i>1277</i>
<i>N. pazienti eleggibili per tipologia B</i>	<i>148</i>
N. pazienti non eleggibili al trattamento	4
N. pazienti con valutazione di eleggibilità non ancora ultimata	17

I Centri accreditati

Dopo 21 mesi dall'inizio del monitoraggio risultano accreditati 182 centri sparsi sul territorio nazionale, di cui 137 (75%) con almeno un paziente inserito nel Registro. Le tre regioni con un più alto numero di centri accreditati sono: Lombardia (30), Piemonte (22) e Veneto (21). La media nazionale è di 0,3 pazienti trattati con natalizumab ogni 10.000 abitanti. Lombardia, Lazio, Piemonte, Sardegna, Molise e Valle d'Aosta hanno arruolato un numero di pazienti superiore alla media nazionale, mentre Emilia-Romagna, Marche, Abruzzo e Liguria sono perfettamente in linea con la media nazionale. La Sardegna è la regione con il più alto numero di pazienti trattati in relazione alla popolazione residente, mentre la Lombardia ha il più alto numero assoluto di pazienti trattati (288), seguita immediatamente dal Lazio (283, Figura 18). I cinque centri più attivi in base al numero di pazienti arruolati sono: Ospedale S. Andrea - Roma (127 pazienti), Ospedale S. Raffaele - Milano (93), Ospedale Binaghi - Cagliari (76), Ospedale S. Luigi Gonzaga - Torino Orbassano (59) e Istituto. S. Raffaele Giglio - Cefalù (57).

Figura 18 Dislocazione dei Centri accreditati e pazienti registrati per singola regione



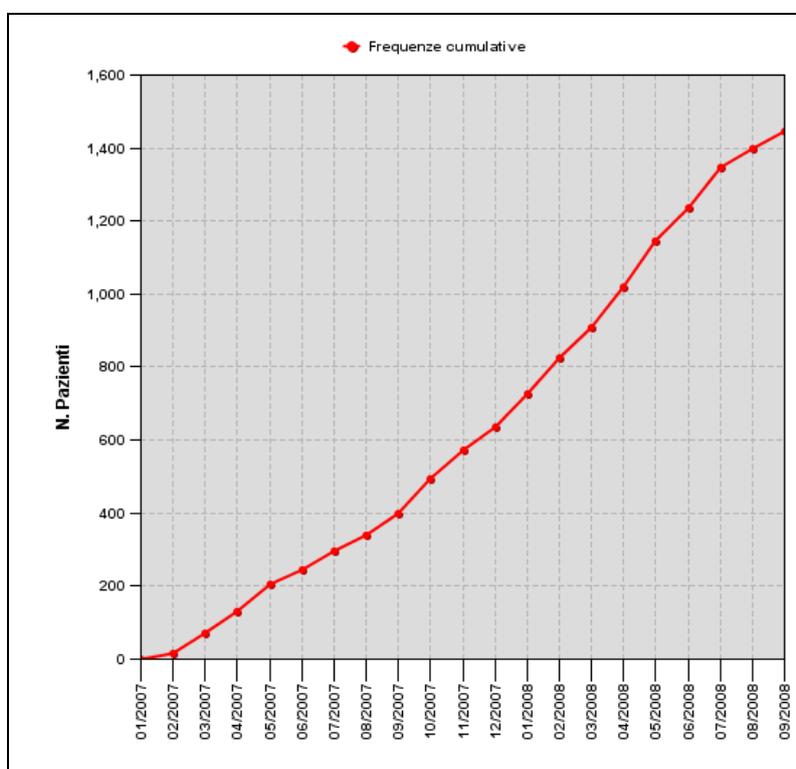
Frequenza cumulativa dei pazienti inseriti

Al 26 settembre 2008 risultano inseriti nel Registro Tysabri i dati relativi a 1447 pazienti, di cui 1426 (98%) eleggibili al trattamento. Di questi 1277 (89%) sono stati considerati eleggibili al trattamento come non-responder all'interferone β (gruppo A) e 148 (10%) come pazienti affetti da una forma aggressiva di RRMS (gruppo B). Alla data dell'analisi 4 pazienti sono risultati non eleggibili al trattamento, mentre per 17 la valutazione sulla loro ammissione era ancora da ultimare (Tabella 17). Dal gennaio 2008 al settembre 2008 si è registrata una crescita mensile costante dei pazienti arruolati (Figura 19). Tale andamento risulta in linea con la previsione fatta dagli esperti del Tavolo Neurologico di 640 pazienti per la tipologia A e di 60 pazienti per la tipologia B per singolo anno.

Dei 1426 pazienti inseriti nel Registro e considerati eleggibili al trattamento 1327 (93%) hanno ricevuto almeno una volta il farmaco.

Complessivamente, sono state dispensate 7897 confezioni di farmaco su tutto il territorio nazionale, corrispondenti a una spesa di 14.214.600 €; dato di gran lunga al di sotto del tetto di spesa 37.713.600 € per i primi 24 mesi stabilito nella determinazione AIFA¹²⁶.

Figura 19 Pazienti registrati per data di registrazione



Caratteristiche dei pazienti al baseline e confronto con lo studio AFFIRM

Le caratteristiche dei pazienti al reclutamento nel Registro (N=1425) sono state confrontate con quelle dei pazienti del braccio di trattamento dello studio registrativo AFFIRM¹²¹ (N=627).

L'età media dei pazienti era simile tra la coorte del Registro (36,2 anni Gruppo A e 33,4 anni gruppo B) e il trial registrativo (35,6 anni), così come la distribuzione tra i sessi che in tutti i gruppi presenta circa il 70% di pazienti di sesso femminile. La mediana della durata della malattia, invece, risulta molto più alta per il Gruppo A (9 anni - range 5-13) rispetto a quella dei pazienti dello studio AFFIRM (5; 0-34), ma inferiore nel caso di pazienti con rapida progressione della malattia (gruppo B 2 anni range 1-9). Come indicatori della gravità della malattia sono stati considerati il numero di ricadute nell'anno precedente e i punteggi EDSS al reclutamento. Il numero medio di ricadute nell'anno precedente l'inizio del trattamento era superiore nella coorte del Registro (2,2 per il Gruppo A e 2,98 per il gruppo B) rispetto allo studio AFFIRM (1,53). La disabilità in termini EDSS era in media $2,8 \pm 1,5$ per il Gruppo A e $2,4 \pm 1,4$ per il gruppo B vs. $2,3 \pm 1,2$ nello studio AFFIRM (Tabella 18).

Tabella 18 Caratteristiche dei pazienti al baseline e confronto con AFFIRM

Caratteristiche al baseline	Gruppo A (N=1277)	Gruppo B (N=148)	AFFIRM (N=627)
Età - anni			
Media	36,2	33,4	35,6
Range	16-102	13-67	18-50
Sesso - N.pazienti (%)			
Maschi	407(31,9)	46 (31.1)	178 (28,4)
Femmine	870 (68,1)	102 (68,9)	449 (71,6)
Durata malattia - anni			
Mediana	9,0	2,0	5,0
Range	5-13	1-9	0-34
N. ricadute nell'anno precedente - N. di pazienti (%)			
0	5 (0,0)	0 (0,0)	6 (1,0)
1	301 (23,6)	2 (0,0)	368 (58,7)
2	599 (46,9)	77 (52,0)	197 (31,4)
≥3	366 (28,7)	68 (45,9)	56 (8,9)
dato mancante	6 (0,0)	1 (0,0)	-
Media	2,2	2,9	1,53
EDSS - N. di pazienti (%)			
0	33 (2,6)	9 (6.1)	31 (4,9)
1,0-1,5	322 (25,2)	41 (27.7)	179 (28,5)
2,0-2,5	348 (27,3)	50 (33,8)	208 (33,2)
3,0-3,5	255 (20,0)	22 (14,9)	130 (20,7)
4,0-4,5	166 (13,0)	15 (10.1)	60 (9,6)
≥5.0	147 (11,5)	10 (6,8)	19 (3,0)
dato mancante	6 (0,0)	1 (0,0)	-
Media ± DS	2,8 ± 1,5	2,4 ± 1.4	2,3 ± 1,2

Le reazioni avverse

Dei 1426 pazienti eleggibili al trattamento, 103 (7,2%) hanno manifestato almeno una reazione avversa, per un totale di 139 diverse segnalazioni. Le reazioni avverse sono state organizzate secondo la classificazione per sistemi e organi MedDRA⁷² (Tabella 19). Le reazioni avverse più numerose sono quelle a carico del sistema nervoso (21,6%) e di

queste la metà ha riguardato la comparsa di una recidiva della malattia. Il 16,5 % delle reazioni avverse segnalate ha riguardato invece le patologie della cute, e in particolare prurito, orticaria ed eritema. Nel 12,2% dei casi invece la reazione segnalata era rappresentata da un'infezione e nel 10,1% dei casi da disturbi a carico del sistema immunitario. Le infezioni sono state registrate in diverse sedi dell'organismo, come ad esempio apparato urinario (cistite), apparato intestinale (infezione da Escherichia Coli) e cavità orale. Mentre, nel caso di disturbi del sistema immunitario si è trattato soprattutto di manifestazioni di ipersensibilità al farmaco.

Tabella 19 Reazioni avverse segnalate nel Registro Tysabri secondo la classificazione MedDra

Classificazione MedDra - System Organ Class	N. Casi	%
Patologie del sistema nervoso	30	21,6
Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo	23	16,5
Infezioni ed infestazioni	17	12,2
Disturbi del sistema immunitario	14	10,1
Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche	9	6,5
Patologie sistemiche e condizioni morbose relative alla sede di somministrazione	8	5,8
Patologie del fegato e delle vie biliari	6	4,3
Patologie renali e urinarie	6	4,3
Disturbi del sistema emo–linfopoietico	5	3,6
Disturbi vascolari	4	2,9
Disturbi psichiatrici	3	2,2
Procedure mediche e chirurgiche	3	2,2
Traumatismo, avvelenamento e complicazioni di procedure	3	2,2
Condizioni morbose di gravidanza, puerperio e perinatali	2	1,4
Patologie gastrointestinali	2	1,4
Esami diagnostici	1	0,7
Patologie cardiache	1	0,7
Patologie del sistema muscoloscheletrico e del tessuto connettivo	1	0,7
Patologie dell'apparato riproduttivo e della mammella	1	0,7
Totale complessivo	139	100,0%

In 14 casi (10,0%) la reazione ha determinato l'ospedalizzazione del paziente e pertanto è stata classificata come reazione grave. Tra queste sono state segnalati, tra i disturbi del sistema immunitario 2 casi di orticaria generalizzata e 1 caso di reazione

anafilattoide, tra le infezioni 1 caso di infezione batterica delle vie urinarie e 1 caso di meningite batterica (Tabella 20).

Tabella 20 Reazioni avverse gravi inserite nel Registro

Classificazione MedDra - Preferred Terms (PTs)	Casi "gravi"
Orticaria generalizzata	2
Crisi convulsive parziali complesse	1
Emorragia delle emorroidi	1
Fibrillazione atriale	1
Gastrectomia parziale	1
Incontinenza urinaria	1
Infezione batterica delle vie urinarie	1
Infiammazione del sistema nervoso centrale	1
Meningite batterica	1
Psoriasi	1
Reazione anafilattoide	1
Recidiva da SM	1
Tentato suicidio	1
Totale complessivo	14

Le interruzioni del trattamento

Il 9% dei pazienti eleggibili al trattamento (128/1426) ha interrotto la somministrazione dopo una media di 5,4 somministrazioni ricevute e con una durata media di trattamento di 178,3 giorni di terapia (range 0,0 - 512,0).

Tra i pazienti eleggibili al trattamento del gruppo A, 118 (9,2%) ha interrotto il trattamento con natalizumab. Di questi il 28% (39 casi) a causa di manifestazione di reazione avversa e il 15,3% (18) per inefficacia del farmaco. Rivestono una particolare importanza i 9 casi (7,6%) in cui il trattamento è stato interrotto per sviluppo di anticorpi anti-natalizumab (Tabella 21).

Tabella 21 Causa di Fine Trattamento tra i pazienti del gruppo A (N=1277)

Causa fine trattamento - gruppo A	N.	%
Reazione avversa	39	28,0
Inefficacia	18	15,3
Fine ciclo terapeutico previsto	17	14,4
Mancato inizio terapia	13	11,0
Positività agli anticorpi	9	7,6
Trasferimento	6	5,1
Mancata o scarsa adesione alla terapia	6	5,1
Gravidanza	3	2,5
Perdita al follow-up	1	0,8
Altro	6	5,1
Totale	118	100,0

Tra i 148 pazienti eleggibili al trattamento per una forma aggressiva della malattia (gruppo B), 10 (6,8 %) hanno interrotto la terapia. Oltre ai 3 soggetti che non hanno mai iniziato il trattamento seppure eleggibili, altri 3 soggetti hanno presentato una positività agli anticorpi anti-natalizumab e 2 hanno interrotto a causa di una reazione avversa (Tabella 22).

Tabella 22 Causa di Fine Trattamento tra i pazienti del gruppo B (N=148)

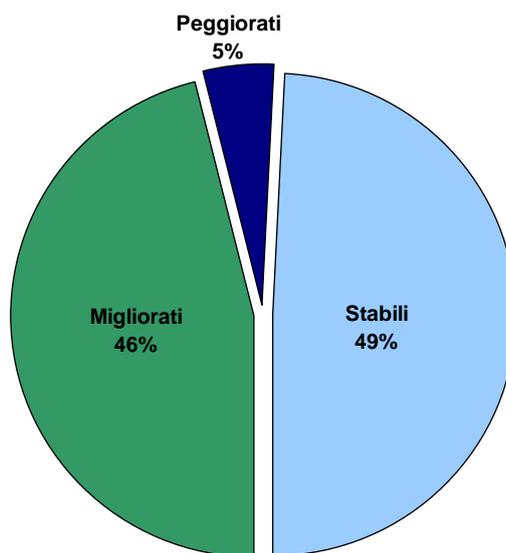
Causa Fine trattamento - gruppo B	N,	%
Mancato inizio terapia	3	30,0
Positività agli anticorpi	3	30,0
Inefficacia	2	20,0
Reazione avversa	1	10,0
Mancata o scarsa adesione alla terapia	1	10,0
Totale	10	100,0

Gli esiti clinici

Per 924 (64,8%) dei pazienti complessivi è stata registrata almeno una scheda di follow-up. Su tale campione ristretto di pazienti è stata condotta una stima dell'efficacia del trattamento confrontando il valore EDSS all'ingresso nel Registro con quello dell'ultimo

follow-up disponibile. Da tale analisi è emerso che il 49% dei pazienti in trattamento presenta un grado di disabilità identico a quello di partenza, il 46% risulta invece migliorato in termini di disabilità e solo il 5% dei pazienti ha un grado di disabilità superiore all'inizio della terapia (Figura 20).

Figura 20 Stato dei pazienti in base all'EDSS all'ultimo follow-up



Per l'analisi delle ricadute, sono stati selezionati i soli pazienti in trattamento da almeno 6 mesi (801) e di questi quelli con almeno un follow-up inserito (725). All'interno di questa coorte di pazienti 98 pazienti (13,5%) ha avuto almeno una ricaduta durante la terapia. La ricaduta è avvenuta nel 54,1% dei casi quando il paziente aveva avuto 2 ricadute nell'anno precedente la terapia, nel 22,4% dei casi quando le ricadute nell'anno precedente erano state 3 e nel 11,2% quando si era verificata una sola ricaduta nell'anno precedente.

Tabella 23 Ricadute in corso di terapia in base alle ricadute nell'anno precedente la terapia

Riadute verificatesi in terapia	Riadute nei 12 mesi precedenti alla terapia									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz	N, pz
1	9	43	17	3	4	1				
2	2	7	5	1	2		1			
3		2								
4		1								
Totale	11	53	22	4	6	1	1			

Discussione

Il Registro nazionale Tysabri, così come gli altri Registri AIFA di monitoraggio intensivo, rappresenta un importante risultato derivante dalla collaborazione tra agenzia regolatoria e comunità medico-scientifica. Questo strumento si prefigge di colmare una lacuna di dati post-marketing costantemente presente soprattutto per i nuovi farmaci. Infatti, un'indagine della FDA ha rilevato che solo il 34% dei 2701 studi postmarketing che le aziende si erano impegnate a fare al momento della registrazione è stato effettivamente onorato¹³⁵. In questo contesto, l'approccio dell'AIFA di istituire Registri di monitoraggio per i farmaci di nuova immissione ha rappresentato un importante punto di riferimento a livello internazionale, in quanto tutto il sistema è stato affidato a strutture non-profit indipendenti sia dalle aziende produttrici di medicinali sia dalla struttura regolatoria¹³⁶.

L'analisi dei dati di circa due anni di attività del Registro ha evidenziato, tramite il confronto delle caratteristiche dei pazienti inseriti nel Registro con quelli dello studio AFFIRM, la differenza in termini di gravità della malattia tra le popolazioni in trattamento; i pazienti inseriti nel Registro presentano una gravità superiore della malattia, a dimostrazione dell'applicazione dei criteri più restrittivi adottati dall'Italia. In Italia, l'89% dei pazienti trattati con il natalizumab è rappresentato dai soggetti non responder all'interferone β (gruppo A); si tratta di soggetti in cui è stato riscontrato un peggioramento della malattia nonostante un trattamento di almeno 12 mesi con interferone β . Tuttavia, nello studio registrativo AFFIRM non sono disponibili dati su tale popolazione di pazienti, in quanto un criterio di esclusione era rappresentato proprio da un trattamento con interferone β per più di 6 mesi. In tale contesto, risulta cruciale la decisione degli esperti del Tavolo Neurologico di stabilire parametri condivisi per definire un paziente non responder all'interferone β . Il Registro si pone quindi come uno strumento indispensabile per monitorare strettamente la rispondenza a tali parametri e permette di colmare la lacuna di informazioni sul ruolo del natalizumab in questo gruppo di pazienti.

Inoltre, il Registro Tysabri è utile anche per evitare che pazienti che non rientrano tra i criteri di eleggibilità, o che presentano particolari condizioni che possano aumentare la tossicità del farmaco, ricevano il natalizumab. A titolo di esempio si riporta che pazienti con un'immunosoppressione indotta da farmaci o da malattie, non possano ricevere il farmaco. Ciò allo scopo di minimizzare il rischio di infezioni opportunistiche in generale e di PML in particolare.

Riguardo alla sicurezza del farmaco, dai dati sulle segnalazioni di reazioni avverse, emerge che il profilo di tollerabilità riscontrato nella reale pratica clinica è paragonabile e quello osservato nello studio AFFIRM. Questi dati evidenziano che è importante controllare costantemente lo stato del sistema immunitario del paziente a cui si somministra natalizumab.

Tra le motivazioni per cui il trattamento è stato interrotto, oltre al manifestarsi di una reazione avversa, si sottolinea lo sviluppo di anticorpi anti-natalizumab. Questi, infatti, oltre a determinare una perdita dell'efficacia del trattamento possono far aumentare il rischio di sviluppare reazioni di tipo anafilattico.

Dall'analisi degli esiti clinici, sebbene questa non costituisca l'obiettivo principale del Registro Tysabri, è emerso che il natalizumab ha effetti favorevoli sulla modificazione della progressione della malattia, sia in termini di disabilità (il 49% dei pazienti è stabile e il 46% è migliorato) sia in termini di ricadute (solo il 13,5% dei pazienti ha avuto una ricaduta durante la terapia). Pertanto, alla luce di tali risultati è possibile affermare che, quando impiegato correttamente e in regime di stretto monitoraggio, il natalizumab rappresenta un'ottima strategia terapeutica soprattutto nel caso di fallimento delle altre terapie per la SM.

In conclusione, il Registro Tysabri si è rivelato un ottimo strumento a supporto di un uso appropriato del natalizumab sulla base delle principali evidenze. In futuro esso potrà fornire informazioni su questioni ancora irrisolte, in particolare per ciò che riguarda la sicurezza del farmaco, come ad esempio l'incertezza legata al fatto che il rischio di PML possa variare all'aumentare della durata della terapia con natalizumab.

Addendum

Misure aggiuntive per il rischio di PML da natalizumab (raccomandazioni EMEA)

I casi di PML in seguito a trattamento con natalizumab sono tutt'ora in crescita. Tra Luglio e Ottobre 2008 sono stati confermati 23 casi di PML nel mondo (14 sul territorio europeo), 4 dei quali fatali. A causa di tale aumento di casi l'EMA, nell'ottobre 2008, ha incaricato il CHMP (Agency's Committee for Medicinal Products for Human Use) di condurre una ricognizione dei casi di PML da natalizumab al fine di decidere se modificare, mantenere o sospendere la commercializzazione del Tysabri in Europa¹³⁷. Il CHMP, con il supporto di alcuni esperti neurologi e di rappresentanti delle associazioni di pazienti, ha revisionato tutte le informazioni sulla sicurezza del farmaco provenienti dalla casa produttrice e dalle segnalazioni spontanee e ha riscontrato che al 20 gennaio

2010, fra i pazienti con SM in trattamento con natalizumab sono stati segnalati 31 casi di PML su circa 66.000 soggetti esposti nel mondo. Il rischio di sviluppare PML sembra aumentare proporzionalmente alla durata del trattamento; 23 dei 31 casi confermati segnalati fino a questa data si sono verificati in pazienti esposti a natalizumab per due anni o più. Tali dati sono ancora in linea con la stima effettuata da Yousef et al¹¹⁸ di 1 caso ogni 1000 trattati [IC95% 0,2-2,8]. Non è attualmente noto quale sia il rischio di sviluppare PML una volta superati i tre anni di trattamento. Inoltre, considerando il fatto che non esiste un trattamento per prevenire o trattare la PML, l'EMA ha stabilito che i pazienti debbano essere esaminati ad intervalli regolari per poter identificare segni o sintomi neurologici nuovi o peggiorativi che possano suggerire una PML, come compromissione delle funzioni cognitive, disturbi della vista, emiparesi, alterazioni dello stato mentale o del comportamento. Ciò al fine di identificare in maniera tempestiva una possibile PML e sospendere immediatamente la somministrazione del farmaco. Nel complesso il CHMP ha concluso che ad oggi il rapporto rischio/beneficio del natalizumab è ancora favorevole, pertanto l'EMA ha deciso di mantenere il farmaco sul mercato europeo adottando le seguenti raccomandazioni¹³⁸ al fine di minimizzare il rischio di PML:

- informare i pazienti circa il rischio di PML tramite un modulo informativo di avvio/prosecuzione del trattamento;
- rivalutare attentamente dopo due anni i benefici ed i rischi del trattamento insieme al paziente;
- eseguire una risonanza magnetica nei tre mesi precedenti l'inizio del trattamento con Tysabri e ripeterla ogni anno per tenere aggiornato il riferimento;
- esercitare una continua vigilanza clinica;
- interrompere tempestivamente la somministrazione di Tysabri in caso di sospetta PML effettuando una valutazione appropriata, comprendente una risonanza magnetica standardizzata ed una puntura lombare;
- trattare i pazienti preferibilmente nell'ambito di registri nazionali o studi post-marketing.

PARTE 3 -ASSOCIAZIONE TRA LEUCOENCEFALOPATIA MULTIFOCAL PROGRESSIVA (PML) E ANTICORPI MONOCLONALI

Introduzione

Quadro generale della PML

La Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva (PML) è una patologia demielinizzante del sistema nervoso centrale con un decorso rapido e molto spesso fatale. Attualmente esistono numerose questioni ancora non risolte sulla patogenesi e la diagnosi di questa malattia e, inoltre, non è disponibile alcun trattamento specifico per essa. Si tratta dell'unica patologia umana demielinizzante ad eziologia virale¹³⁹. Infatti, essa è causata dalla riattivazione del virus JC, un poliomavirus, che determina una lisi degli oligodendrociti, con conseguenti lesioni cerebrali e perdita delle funzionalità motorie, sensoriali e cognitive¹⁴⁰.

Le tappe storiche della PML

Sebbene il primo caso di PML sia stato descritto nel 1930 in pazienti affetti da demenza¹⁴¹, la natura virale della malattia fu compresa solo nel 1959 e confermata nel 1967 da Zu Rhein e colleghi¹⁴². Nel 1971 fu isolato il virus JC¹⁴³, il cui nome deriva proprio dalle iniziali del paziente da cui fu isolato, JC-John Cunningham. Durante tutti gli anni '70 la PML fu una patologia poco considerata e colpiva quasi esclusivamente pazienti affetti da disordini linfoproliferativi, oppure pazienti che avevano ricevuto un trapianto d'organo. Negli anni '80 si verificò un notevole aumento di casi di PML in pazienti con HIV e una revisione di 230 casi di PML confermati in questa popolazione di pazienti permise di definire tale infezioni come una delle principali complicazioni dell'AIDS¹⁴⁴. Con l'avvento dell'HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) per il trattamento dell'HIV, si riuscì a ridurre la progressione e la gravità della PML, tuttavia l'incidenza rimase costante attestandosi tra 3 e 5% tra i pazienti con AIDS; è stato stimato che l'80% di tutte le PML vengono diagnosticate in pazienti HIV positivi¹⁴⁵. Tra gli anni '90 e il 2000 sono emersi casi di PML in seguito all'impiego di agenti citotossici chemioterapici (fludarabina, ciclofosfamide, metotrexato), nel trattamento di pazienti trapiantati o con disturbi linfoproliferativi. A partire dal 2005 invece, la PML ha rappresentato un problema rilevante per lo sviluppo dei farmaci biologici appartenenti al gruppo dei MAb.

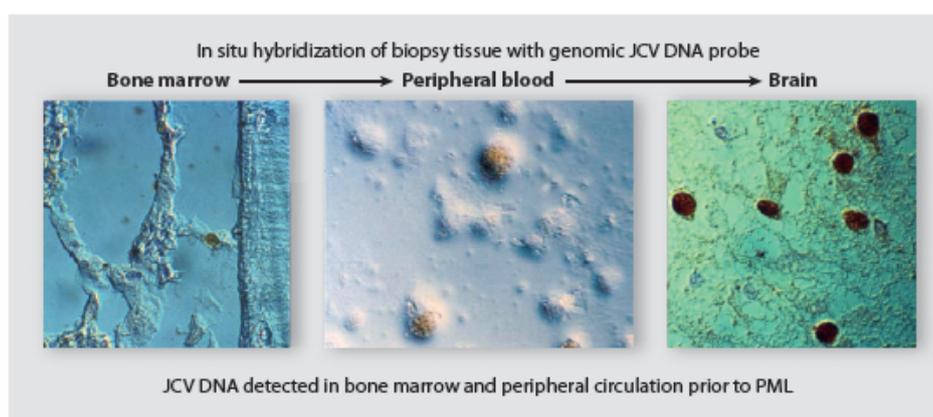
Evidenze epidemiologiche

Prima della pandemia registrata tra i pazienti con AIDS, l'incidenza della PML era di 0,15 casi per milione, mentre con l'AIDS è aumentata a 0,6 casi per milione¹⁴⁶. Tra i pazienti affetti da AIDS, la PML ha un'incidenza tra 3 e 5%, mentre tra i pazienti affetti da disturbi linfoproliferativi, si stima che essa vari da 0,07%¹⁴⁷ a 0,52%¹⁴⁸. In questo range l'incidenza più alta deriva da uno studio condotto su pazienti che erano stati trattati con fludarabina, un chemioterapico che determina una deplezione dei linfociti-T e conseguentemente la possibilità di infezioni opportunistiche simili a quelle riscontrate nei pazienti affetti da AIDS.

Patogenesi

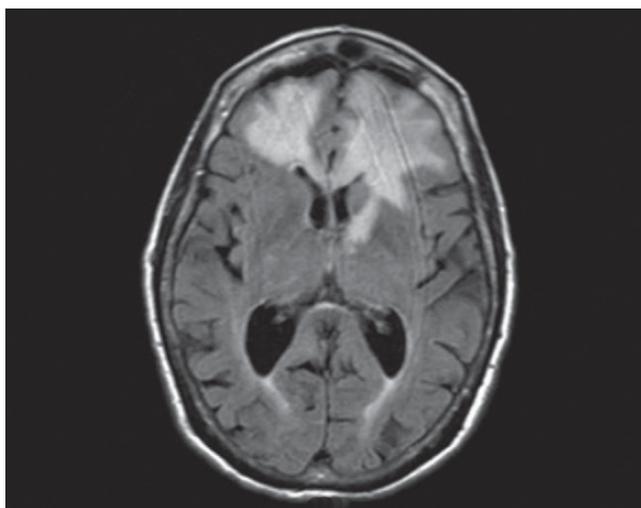
La patogenesi della PML può essere suddivisa in 3 fasi: (1) l'infezione primaria che risulta asintomatica e difficilmente riscontrabile, (2) la latenza del virus all'interno dell'organismo ospite e (3) l'alterazione immunologica e molecolare operata dal virus a livello del cervello. L'infezione iniziale con il JC virus avviene durante le prime fasi di vita e interessa la stragrande maggioranza della popolazione; nel 70-80% dei soggetti adulti è possibile riscontrare la presenza di anticorpi anti-JC virus. L'esatto meccanismo con cui avviene la trasmissione non è ancora noto; possibili vie di infezione sono rappresentate dall'apparato respiratorio e da quello intestinale. In seguito all'infezione primaria, il virus risiede prevalentemente a livello renale in uno stato di latenza. Altri siti di latenza sono rappresentati dal midollo spinale e dalla milza, in quanto il JC virus presenta un tropismo per i linfociti B. Proprio utilizzando i linfociti B come un cavallo di Troia, il JC virus dal midollo spinale può passare in circolo e quindi superare la barriera ematoencefalica¹⁴⁹ (Figura 21).

Figura 21 Ipotesi di meccanismo patogenetico alla base della PML
Fonte: Major E.O., Annual Review of Medicine, 2010



Una volta raggiunto il cervello, si attiva la replicazione virale a livello degli oligodendrociti con conseguente lisi cellulare e distruzione della mielina. Pertanto, la PML è caratterizzata dalla presenza di foci di demielinizzazione con dimensioni che variano da piccoli puntini a lesioni di diversi centimetri. Tali lesioni sono diffuse generalmente nelle aree subcorticali dell'emisfero cerebrale (Figura 22), meno spesso nel cervelletto e nel tronco encefalico e, molto raramente, nel midollo spinale. Gli oligodendrociti delle aree circostanti le lesioni si presentano con delle grandi anomalie e contengono numerosi virioni del JC virus, visibili al microscopio. Queste cellule infette vanno incontro a morte per necrosi cellulare rilasciando così il virus che, a questo punto può infettare altre cellule determinando un aumento della dimensione della zona lesionata¹⁵⁰.

Figura 22 Lesioni cerebrali da PML in donna di 89 anni (risonanza magnetica assiale)
Fonte: Carson KR, Lancet Oncology, 2009



Manifestazione clinica, diagnosi e trattamento

I sintomi e i segni clinici della PML sono aspecifici. Essa spesso progredisce lentamente, con graduale perdita delle funzioni mentali e disturbi della visione e del linguaggio. Anche le funzioni motorie possono essere interessate e rappresentano il segno più evidente della malattia. Il sintomo clinico più comune è rappresentato dalla debolezza degli arti (52% dei casi), seguito dai deficit cognitivi (45%) e dai deficit visivi o del linguaggio (20%). Inoltre, il 12% dei pazienti manifesta convulsioni e cefalee, mentre il 10% sintomi del sensorio¹⁵¹. Il decorso clinico della malattia, dopo un lento inizio, peggiora velocemente nell'arco di settimane o mesi, determinando grave disabilità con sintomi come demenza, cecità, paralisi e infine coma e morte.

Per la diagnosi della PML, il gold standard è rappresentato dall'individuazione del danno causato dal virus a livello cerebrale mediante biopsia. Tale tecnica, però, risulta molto invasiva pertanto la presenza del virus e i danni da esso causato sono generalmente ricercati mediante altre tecniche. È possibile ricercare la presenza di DNA virale nel liquor tramite PCR (Polymerase Chain Reaction), però una positività a tale test non è sufficiente per diagnosticare una PML, a causa del rischio di risultati falsi positivi o falsi negativi. Anche attraverso la risonanza magnetica è possibile ricercare le lesioni cerebrali causate dal virus.

Dal quadro dei sintomi e dei segni clinici risulta chiaro come sia complicato distinguere tra una diagnosi di SM e una di PML. Diversi studi stanno provando a descrivere in maniera dettagliata le caratteristiche delle lesioni riscontrate alla risonanza magnetica dell'una e dell'altra patologia¹⁵². La principale differenza è rappresentata dai bordi della lesione che, nella PML appaiono frastagliati, mentre nella SM sono netti. Tuttavia, va precisato che tali differenze non sono mai così definite, e sono difficilmente riscontrabili, quindi è abbastanza facile confondere le due diagnosi.

Per ciò che riguarda il trattamento della PML, ad oggi non è disponibile alcun farmaco. Sono stati testati diversi chemioterapici come la citarabina e il cidofovir che però non hanno dimostrato una particolare efficacia nel ridurre la progressione o interrompere il processo infettivo. Attualmente è in corso un trial in cui si cerca di definire il ruolo della meflochina nel trattare pazienti risultati positivi al test PCR per la presenza di JC virus nel liquor¹⁵³; tuttavia, questo studio non ha stabilito come esito principale la mortalità dei pazienti e quindi i suoi risultati saranno difficilmente trasferibili alla reale pratica clinica. Attualmente, nel caso di diagnosi di PML, l'unica strada terapeutica percorribile, ma utile solo raramente, è rappresentata dalla ricostituzione del sistema immunitario tramite sospensione dei trattamenti immunosoppressori e somministrazione di agenti come le immunoglobuline.

Anticorpi monoclonali e PML

Ad eccezione dell'attenzione riservata dal mondo medico-scientifico per la PML negli anni '80, in seguito all'aumento di casi verificatosi tra i pazienti affetti da AIDS, questa malattia è rimasta abbastanza nell'ombra fino al febbraio 2005. In tale data è stato ritirato dal mercato statunitense il natalizumab¹¹⁴, un anticorpo monoclonale approvato per la SM. Infatti, come già ampiamente discusso precedentemente (si veda pag. 67) il ritiro dal mercato del farmaco, deciso dall'FDA, è avvenuto a seguito di 3 casi di PML

riscontrati in pazienti che avevano partecipato ai trial clinici in cui il natalizumab era stato impiegato in associazione ad altri immunosoppressori, per il trattamento di patologie autoimmuni quali la SM^{116,117} e il morbo di Crohn¹¹⁵. Il natalizumab, a seguito di un'analisi post-hoc dello studio AFFIRM¹²¹ e della stima di rischio di PML effettuata da Yousry¹¹⁸, è stato reintrodotta sul mercato statunitense¹¹⁴, ed è giunto anche su quello europeo¹¹². È opportuno ricordare che il natalizumab è stato autorizzato, sia in America sia in Europa, con la sola indicazione della monoterapia per il trattamento della RRMS non responsiva alla terapia con interferone β (trattamento di seconda linea), o come trattamento di prima linea nelle sole forme aggressive della malattia. La limitazione alla monoterapia derivava proprio dal fatto che i 3 casi di PML riscontrati erano avvenuti in pazienti che assumevano il farmaco in associazione ad altri immunosoppressori. Nonostante tale limitazione, le segnalazioni dei casi di PML nei pazienti che assumevano il natalizumab sono continuate¹²² e attualmente risultano in crescita¹²³. Oltre che con il natalizumab, anche con altri MAb, quali rituximab ed efalizumab, sono stati registrati casi di PML che hanno ispirato diverse azioni da parte delle autorità regolatorie¹⁵⁴. Tali decisioni comprendono la segnalazione del rischio nella scheda tecnica dei farmaci (per rituximab e natalizumab), l'istituzione di specifici programmi di farmacovigilanza (es. TOUCH programme¹¹⁹ e registri osservazionali per il natalizumab), fino ad arrivare al ritiro dal mercato nel caso dell'efalizumab¹⁵⁵.

Pertanto, la PML rappresenta un problema di sicurezza in crescita per lo sviluppo dei nuovi farmaci biologici, tanto che nel 2009 l'EMA ha richiesto un riesame, che si è concluso di recente (si veda pag.90), di tutti i casi di PML da natalizumab¹³⁷.

Ancora oggi sono diverse le questioni irrisolte riguardo la connessione tra PML e MAb. In particolare occorrerebbe definire se i casi di PML aumenteranno quando crescerà il numero di pazienti trattati con MAb per lunghi periodi e quanti casi occorre attendersi. Inoltre, occorre cercare di definire quali sono i pazienti maggiormente a rischio e identificare marker predittivi attendibili per la malattia¹²².

Tra le questioni irrisolte rimane anche il fatto di stabilire se la PML può essere considerata una reazione avversa tipica di tutta la classe dei MAb.

Considerata la rarità della PML, uno studio osservazionale, basato su più fonti di dati, potrebbe permettere di definire meglio la relazione esistente tra questa malattia e i MAb.

Obiettivi

La presente ricerca ha l'obiettivo di indagare sulla possibile relazione tra la PML e i farmaci biologici, raccogliendo e analizzando tutti i casi di PML indotta da farmaci presenti nelle principali banche dati delle segnalazioni spontanee di reazioni avverse ai farmaci e pubblicati nella letteratura scientifica. Questo con lo scopo principale di identificare farmaci potenzialmente associati a tale reazione avversa e, in seconda istanza, di stabilire il ruolo, da un lato della patologia di base e dall'altro dell'immunosoppressione farmacologica nello sviluppo della PML.

Metodi

Selezione dei casi di PML da farmaci

Sono stati selezionati tutti i casi di PML indotta da farmaci presenti nei due principali database internazionali di segnalazioni spontanee: FDA-AERS e WHO-VigiBase (per maggiori dettagli sui due database e sulla modalità di data mining, si veda Box 6). Per ciascun caso di PML rilevato sono state raccolte le seguenti informazioni: data dell'evento, dati demografici del paziente, farmaco/i sospetto/i, patologia di base, nazione del segnalatore.

Tutti i dati sono stati raccolti in un database Microsoft Access 2003 creato ad hoc. È stato necessario effettuare diverse operazioni di pulizia del dato per eliminare i record multipli e i duplicati. Questi sono stati identificati all'interno di ciascuna fonte di dati combinando i principali campi di ogni singolo record, come età e sesso del paziente, data dell'evento e nazione del segnalatore. Si precisa che i due database sono stati analizzati sempre separatamente a causa della possibile presenza di uno stesso caso in entrambi.

Box 6 Descrizione delle fonti di dati utilizzate

FDA-AERS

Il database FDA Adverse Event Reporting System (AERS) è un archivio informatizzato impiegato per la raccolta di tutte le segnalazioni spontanee di reazione avverse ai farmaci¹⁵⁶. Esso comprende tutte le segnalazioni spontanee di reazioni avverse del territorio americano e in più quelle delle reazioni avverse gravi degli altri Paesi. Le reazioni avverse sono classificate secondo la terminologia MedDra (Medical Dictionary for Regulatory Activities)¹⁶⁶. I dati sono organizzati in trimestri e sono disponibili gratuitamente sul sito web della FDA (www.fda.gov).

Nell'ottobre 2008 sono stati scaricati i dati relativi al periodo gennaio 2004 - giugno 2008.

Sono state raccolte le seguenti informazioni: (1) farmaci sospettati - DRUG file; (2) reazione avversa - REACTION file, (3) informazioni demografiche del paziente - DEMO file e (4) indicazione del farmaco - INDI file.

Tutte le informazioni contenute nelle diverse tabelle sono state collegate tra loro mediante un numero univoco (ISR) che identifica la segnalazione. Sono state selezionate tutte le segnalazioni riportanti il termine “progressive multifocal leukoencephalopathy”.

WHO-VigiBase

Il database dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (VigiBase) comprende le segnalazioni spontanee di reazioni avverse provenienti da 82 centri nazionali di farmacovigilanza, che collaborano con il Centro per il Monitoraggio dei farmaci, Uppsala Monitoring Centre (UMC) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità¹⁵⁷.

Nell'ottobre 2008, quando è stata effettuata la ricerca dei casi, il database conteneva più di 4 milioni di segnalazioni.

I casi di PML all'interno del database sono stati ricercati tramite la terminologia MedDra di ““progressive multifocal leukoencephalopathy” e sono stati selezionati gli ATC (sistema di classificazione Anatomico Terapeutico e Chimico¹⁵⁸). Per ogni caso sono state estratte le informazioni sulla nazione del segnalatore, sesso ed età del paziente, farmaco sospettato e indicazione per la quale era stato impiegato.

MEDLINE

Allo scopo di tenere in considerazione anche le informazioni pubblicate in letteratura, è stata effettuata una ricerca dei case reports e case series di PML presenti in MEDLINE. La ricerca è stata effettuata nell'ottobre 2008, tramite il termine MESH “Leukoencephalopathy, Progressive Multifocal/chemically induced” (indicizzato nel 1973). Sono stati esclusi i casi associati a sostanze diverse da farmaci. Per poter paragonare questi casi con quelli presenti nelle banche dati di segnalazioni spontanee, i casi sono stati suddivisi in base alla data di pubblicazione in (1) prima del 2004 e (2) tra il 2004 e l'ottobre 2008.

Metodi di analisi

Una prima analisi è stata condotta per confrontare le informazioni contenute nelle diverse fonti di dati utilizzate.

Al fine di individuare tutti i possibili farmaci associati alla PML e coprire un territorio più ampio, le singole coppie farmaco-reazione rilevate sono state analizzate in base alle caratteristiche del paziente, alla malattia di base e alla presenza di più farmaci sospettati.

I farmaci sono stati suddivisi in 4 classi: a) MAb, b) immunosoppressori convenzionali, c) farmaci anti-HIV e d) altri farmaci, quest'ultimo gruppo comprendeva farmaci antineoplastici, antiinfettivi diversi da quelli impiegati per l'HIV e tutti gli altri farmaci non contenuti nei gruppi sopracitati.

Al fine di stimare la forza della relazione farmaco-reazione, sono stati suddivisi i casi in cui il farmaco era il "singolo" sospettato, da quelli in cui il farmaco era "co-sospettato" assieme ad altri farmaci di indurre la PML. Per valutare la differenza esistente all'interno di ogni gruppo terapeutico considerato tra casi "singoli" e casi "co-sospettati" è stato utilizzato il test del χ^2 .

Allo scopo di individuare eventuali caratteristiche predisponenti alla PML e per risalire alla patologia di base del paziente sono state analizzate le patologie per le quali il paziente stavano assumendo i farmaci sospettati di aver indotto la PML.

Convalida del metodo

Generazione di un segnale di farmacovigilanza da database di segnalazione spontanea

Il principale obiettivo della farmacovigilanza consiste nell'identificazione tempestiva di reazioni avverse ai farmaci che possono essere considerate nuove in base alla loro natura clinica, alla gravità o alla frequenza. Ciò si traduce nell'individuazione di un "segnale" su una relazione farmaco-reazione avversa ancora non emersa. Un "segnale" è definito dalla WHO come una possibile relazione tra un farmaco e una reazione avversa non nota o non completamente documentata¹⁵⁹. Una metodologia per generare un segnale è rappresentata proprio dall'analisi con procedure statistiche o non statistiche di grandi database di segnalazione spontanea. Tali procedure vengono indicate con il termine data mining, proprio per rappresentare il concetto di ricerca all'interno di una grande miniera di dati di informazioni preziose su particolari relazioni farmaco-reazione. Lo sviluppo e l'impiego di strumenti di data mining si sta diffondendo tra i centri di farmacovigilanza, tra le agenzie regolatorie e nelle aziende farmaceutiche, con la speranza di individuare segnali di farmacovigilanza in modo tempestivo.

I database, che rappresentano il punto di partenza del processo di data mining, sono alimentati dalle segnalazioni spontanee di reazioni avverse relative ai farmaci che sono

in commercio. Questo approccio metodologico è dotato di una potenzialità intrinseca notevole, in quanto consente di sorvegliare un gran numero di pazienti per lunghi periodi di tempo a partire dalla sua entrata in commercio del farmaco, e permette di identificare reazioni avverse rare e inattese che, per la bassa incidenza, non sempre si manifestano durante le sperimentazioni cliniche, o, qualora compaiano, talvolta vengono classificate come casuali o non correlate al trattamento.

Tuttavia, l'impiego dei dati provenienti dalla segnalazione spontanea presenta dei limiti intrinseci, legati proprio alla spontaneità del processo. Ad esempio, è possibile il verificarsi di fenomeni di sottosegnalazione (underreporting) o sovra segnalazione (over-reporting), legati ad esempio alla sensibilità dei medici verso la farmacovigilanza o agli obblighi di legge in materia. Un altro problema può essere rappresentato dalla variazione temporale per le segnalazioni di reazioni avverse a un determinato farmaco che, ad esempio, sono soggette a un picco immediatamente dopo la commercializzazione dello stesso (Weber effect). Altro punto cruciale è rappresentato dalla qualità e dalla completezza dei dati inseriti, in quanto queste variano molto tra segnalatore e segnalatore.

Va considerato anche che l'approccio descrittivo, benché caratterizzato da elevata sensibilità, da una significativa potenzialità, da una notevole precocità e da un basso costo, non è in grado di fornire dati relativi all'incidenza del fenomeno rilevato, valore espresso dal rapporto fra numero assoluto di reazioni avverse accadute e numero totale di pazienti trattati. Relativamente al numeratore di questo rapporto, la mancanza di dati è imputabile al fenomeno della sottosegnalazione: poiché le segnalazioni spontanee si basano sul concetto di volontarietà, accade che il numero delle segnalazioni raccolte sia sempre inferiore al numero delle reazioni realmente accadute. D'altra parte, anche il numero totale di pazienti trattati è problematico da ricavare e può essere calcolato approssimativamente sulla base del numero di confezioni vendute¹⁶⁰.

Nonostante questi limiti, gli strumenti che utilizzano la segnalazione spontanea per identificare un segnale di farmacovigilanza rappresentano il principale strumento per gli studi di sicurezza post-marketing. Tuttavia, bisogna tenere in considerazione che essi generano il primo campanello d'allarme a proposito di eventi legati alla sicurezza di un farmaco, a cui dovranno far seguito studi analitici volti a stabilire l'incidenza del fenomeno, l'esistenza o meno di un nesso di causalità e a identificare la popolazione a rischio. Solo successivamente è possibile effettuare una rivalutazione del valore terapeutico del farmaco.

Per ciò che riguarda il campione di dati da analizzare, appare scontato che la possibilità di identificare un segnale dipende molto dalla grandezza del database e dalla sua tipologia. Ecco pertanto che l'impiego simultaneo di più banche dati, diverse tra loro per tipologia, territorio di riferimento e quantità di dati può generare un segnale sicuramente più forte¹⁶¹.

Risultati

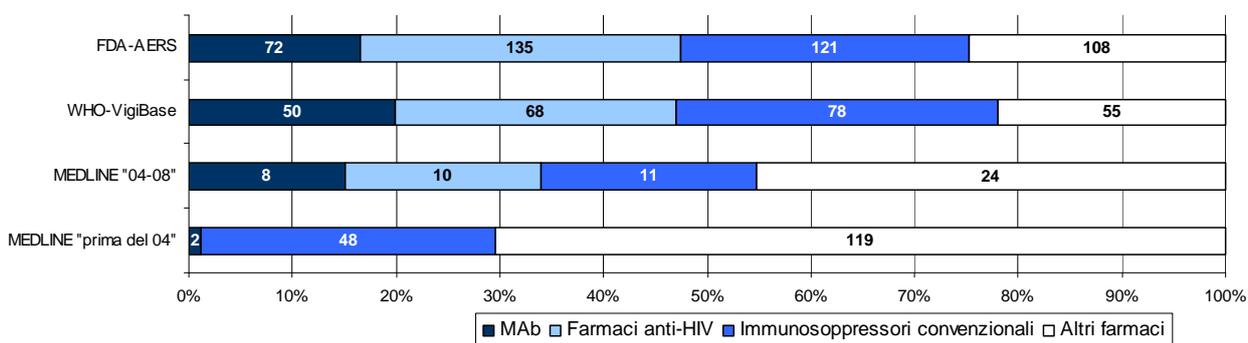
Comparazione tra le fonti analizzate

Dal database FDA-AERS sono stati selezionati 214 casi di PML (corrispondenti a 436 coppie farmaco-reazione), mentre dal database WHO-VigiBase 118 casi (251 coppie farmaco-reazione).

Da MEDLINE, sono stati selezionati 105 case-reports o case-series, per un totale di 140 casi (111 casi pubblicati prima del 2004 e 29 nel periodo 2004-2008). Complessivamente, sono state raccolte 169 coppie farmaco-reazione "prima del 2004" e 53 nel periodo "2004-2008".

La ricerca ha identificato liste simili di principi attivi sospettati di indurre la PML nel database FDA-AERS e in quello WHO-VigiBase (Figura 23). L'analisi è stata effettuata su entrambi i database, per avere una migliore copertura geografica e in modo da tenere in considerazione le diverse regole d'inserimento delle segnalazioni adottate dalla FDA e dal WHO.

Figura 23 Gruppi terapeutici implicati nella PML ritrovati nelle diverse fonti di dati



Il Nord America rappresenta la zona in cui si è verificata la maggior parte delle segnalazioni di PML in entrambi i database (55% in FDA-AERS e 76% in WHO), mentre i casi pubblicati in MEDLINE provengono più frequentemente dall'Europa (22%) prima del 2004 e dall'Asia (34%) nel periodo 2004-2008. Tuttavia, un gran numero di casi non

presentavano l'informazione sulla nazione del segnalatore in tutte le fonti considerate (dal 14% in MEDLINE 2004-2008 al 49% in FDA-AERS).

Analisi delle coppie farmaco-reazione

Sono state identificate 120 differenti sostanze attive potenzialmente associate alla PML. I gruppi terapeutici maggiormente implicati nei casi di PML sono stati i farmaci anti-HIV e i farmaci immunosoppressori convenzionali, in tutte le fonti considerate (Figura 23), mentre i MAb sono stati più frequentemente riportati nei database di segnalazione spontanea e nella letteratura più recente.

La Tabella 24 mostra i farmaci con più di 5 casi di PML in almeno una fonte.

Tra i MAb sono stati riportati rituximab e natalizumab (in tutte le fonti) e alemtuzumab (nei database di segnalazione spontanea). Tra i farmaci anti-HIV, la lamivudina, il ritonavir e la sua associazione con il lopinavir, la zidovudina e la stavudina sono presenti molto spesso in entrambi i database di segnalazione spontanea. La ciclofosfamide, il tacrolimus e il prednisone, invece, rappresentano gli immunosoppressori convenzionali più rappresentati nei database FDA-AERS e WHO-VigiBase; il metotrexato è il farmaco con il maggior numero di casi di PML riportati nella letteratura meno recente. Tra gli "altri farmaci", vincristina e doxorubicina sono state riportate spesso in entrambi i database di segnalazione spontanea, mentre fluorouracile e levamisolo, che spesso sono impiegati in combinazione, hanno fatto registrare un alto numero di casi di PML nella letteratura meno recente.

Tabella 24 Farmaci con ≥ 5 casi di PML in almeno una fonte

Gruppo Terapeutico	Principio attivo	FDA-AERS	WHO-VigiBase	MEDLINE "04-08"	MEDLINE "prima del 04"
MAb	Rituximab	46	29	5	2
	Natalizumab	13	7	3	
	Alemtuzumab	3	8		
Farmaci anti-HIV	Lamivudina	21	11	3	
	Lopinavir/Ritonavir	16	6		
	Ritonavir	14	9		
	Zidovudina	13	6	3	
	Stavudina	12	4		
	Nevirapina	9	5	1	
	Efavirenz	9	4	2	
	Tenofovir	6	3		
	Indinavir	5	2		
Immunosoppressori convenzionali	Ciclofosfamide	23	16	2	2
	Prednisone	22	12		
	Tacrolimus	10	10	2	1
	Ciclosporina	9	5	1	5
	Acido Micofenolico	8	5		1
	Interferone β -1a	6			
	Azatioprina	6	3		4
	Metotrexato	6	6	1	29
	Peginterferone α -2a	5	2		
	Prednisolone	5	2	1	2
	Interferone α/β		8		
Altri farmaci	Vincristina	13	6	2	
	Doxorubicina	13	7	2	
	Fludarabina	9	6	1	8
	Citarabina	9	3	1	7
	Ribavirina	5	1		
	Fluorouracile			1	30
	Carmofur				6
	Levamisolo			7	33
	Calcio folinato				10

Analisi delle caratteristiche dei pazienti

Il rapporto maschi/femmine, tra i pazienti con PML indotta da farmaci, è stato di circa 1 in tutte le fonti, e l'età media dei pazienti era simile in tutte le fonti analizzate, varando da 45 anni in WHO-VigiBase a 51 anni in MEDLINE prima del 2004. Considerando la patologia per cui i pazienti ricevevano il trattamento (Tabella 25 e Figura 24), una gran parte dei casi di PML è stata riscontrata in soggetti con HIV, specialmente nei database di segnalazioni spontanee (58 casi -27%, in FDA-AERS e 23 casi -19%, in WHO-VigiBase) e meno nella letteratura (solo 3 casi -10%, in MEDLINE 2004-2008). I disturbi linfoproliferativi, specialmente linfoma e leucemia, sono stati segnalati in percentuali simili in tutte le fonti (circa il 28% di tutti i casi). Pazienti affetti da cancro (in particolare cancro del colon) erano presenti quasi esclusivamente nella letteratura meno recente e corrispondevano al 50% dei casi di PML pubblicati prima del 2004, mentre nelle altre fonti costituivano circa l'8% dei casi. Una piccola percentuale (5-10%) di pazienti che avevano ricevuto un trapianto era presente in tutte le fonti. Circa il 20% di tutti i casi era costituito da patologie autoimmuni in tutte le fonti analizzate tranne la letteratura meno recente, dove queste rappresentavano appena il 4%. Tra queste malattie la SM era quella maggiormente rappresentata con 16 casi in FDA-AERS, 10 in WHO-VigiBase e 2 in MEDLINE 2004-2008. Alla SM seguiva il lupus eritematoso sistemico con 9 casi in FDA-AERS, 4 in WHO-VigiBase e 1 in MEDLINE 2004-2008. Altre malattie autoimmuni riscontrate sono state il morbo di Crohn, la psoriasi e l'artrite reumatoide.

Tabella 25 Patologie di base dei pazienti con PML farmaco indotta, classificate in macro-aree patologiche

Malattia	FDA-AERS	%	WHO-VigiBase	%	MEDLINE "04-08"	%	MEDLINE "prima del 04"	%
HIV	58	27%	23	19%	3	10%		0%
Disturbi linfoproliferativi	55	26%	39	33%	8	28%	31	28%
Malattie autoimmuni	46	21%	22	19%	6	21%	4	4%
Trapianti	16	7%	12	10%	3	10%	6	5%
Cancro	11	5%	7	6%	2	7%	56	50%
Infezioni e infestazioni	11	5%	4	3%		0%	1	1%
Altro	10	5%	2	2%	7	24%	8	7%
Malattia non nota	7	3%	9	8%		0%	5	5%
Total	214	100%	118	100%	29	100%	111	100%

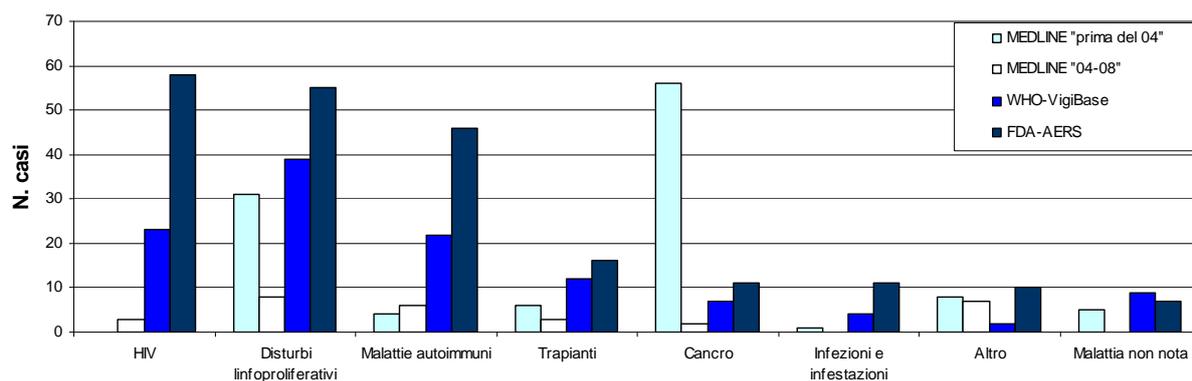


Figura 24 Distribuzione delle patologie di base dei pazienti con PML farmaco indotta

Forza della relazione farmaco-reazione

La stima della forza della relazione farmaco-reazione è stata effettuata distinguendo per ogni farmaco i casi di PML in cui era l'unico sospettato (singolo) da quelli in cui era co-sospettato assieme ad altri farmaci. Sono state riscontrate differenze statisticamente significative tra i casi in cui i farmaci erano i singoli sospettati da quelli in cui erano co-sospettati, in entrambi i database di segnalazione spontanea [$\chi^2_{(d.F.=3)}$ complessivo=47,19 in FDA-AERS ($p<0,0001$) e 32,72 in WHO-VigiBase ($p<0,0001$), si veda Tabella 26). Tale differenza è stata riscontrata soprattutto per i MAb che erano principalmente "singoli" sospettati [$\chi^2_{(d.F.=1)}$ =44,17 ($p<0,0001$) in FDA-AERS e 30,05 ($p<0,0001$) in WHO-VigiBase]. Gli altri gruppi terapeutici, invece, erano più spesso riportati come co-sospettati, senza differenze tra i diversi gruppi.

Tabella 26 Test del χ^2 per valutare le differenze tra i casi in cui il farmaco è il singolo sospettato e quelli in cui è co-sospettato assieme ad altri farmaci nei vari gruppi terapeutici

Gruppo terapeutico	FDA-AERS		WHO-VigiBase	
	singolo sospettato	co-sospettato	singolo sospettato	co-sospettato
A) MAb	44	28	30	20
B) Farmaci anti-HIV	25	110	11	57
C) Immunosoppressori convenzionali	29	92	17	61
D) Altri farmaci	25	83	12	43
χ^2 (d.F.=3) complessivo	47,19 p<0,0001		32,72 p<0,0001	
χ^2 (d.F.=1) A vs. (B to D)	44,17 p<0,0001		30,05 p<0,0001	
χ^2 (d.F.=2) (B, C, D)	1,30 p=0,52		0,89 p=0,64	

Distinguendo per singolo principio attivo tra i casi in cui esso era il singolo sospettato da quelli in cui era co-sospettato, emerge che tra i MAb, il rituximab (28 vs. 18 in FDA-AERS e 20 vs. 9 in WHO-VigiBase) e il natalizumab (9 vs. 4 e 4 vs. 3 rispettivamente) sono maggiormente implicati nei casi di PML come gli unici sospettati. Tra gli immunosoppressori convenzionali, il tacrolimus era l'unico principio attivo con un numero di casi in cui era singolarmente sospettato superiore a quello in cui era co-sospettato assieme ad altri farmaci (8 vs. 2 in FDA-AERS e 7 vs. 3 in WHO VigiBase).

Discussione

L'analisi delle segnalazioni spontanee è uno dei metodi maggiormente impiegati per l'identificazione di un segnale di farmacovigilanza, soprattutto per reazioni avverse rare come la PML.

Come affermato da Hammond, l'individuazione immediata di un segnale di farmacovigilanza, in particolare per le reazioni avverse rare, dovrebbe coinvolgere l'impiego di diversi grandi database¹⁶¹.

Il presente studio ha utilizzato proprio tale strategia per individuare i farmaci potenzialmente coinvolti nell'induzione della PML. Esso ha individuato liste simili di farmaci sospettati di avere indotto la PML in entrambe le banche dati analizzate, sebbene nel database FDA-AERS fossero presenti un numero assoluto superiore di segnalazioni. Questa differenza può essere dovuta ai diversi metodi alla base dei due sistemi di segnalazione spontanea e alla possibile presenza di record multipli residuali. L'analisi inoltre è stata condotta sui due diversi database al fine di coprire differenti

aree geografiche, con la consapevolezza che ciò potrebbe generare una sovrapposizione tra i casi riscontrati.

Occorre considerare che esistono diversi limiti legati all'impiego dei database di segnalazioni spontanee, tra cui i principali sono: (a) mancanza di informazioni sul nesso di causalità, (b) sottosegnalazione (underreporting bias), (c) maggiori segnalazioni derivanti dalla diffusione di note informative specifiche da parte delle agenzie regolatorie (notoriety bias), (d) dipendenza del tasso di segnalazione dal tempo di presenza del farmaco sul mercato (Weber effect) e (e) scarsa qualità del dato (per es. dati mancanti, presenza di duplicati e record multipli)¹⁶²⁻¹⁶⁶.

È stata riscontrata un'ampia differenza tra i database di segnalazione spontanea e la letteratura, specialmente per i farmaci impiegati per l'HIV. Infatti, questi farmaci erano presenti quasi esclusivamente nei database di segnalazione spontanea e in misura minore nella letteratura. Ciò potrebbe essere dipeso da uno scarso interesse nel pubblicare case report di PML in pazienti affetti da HIV, condizione in cui la PML rappresenta una complicanza nota. Inoltre, poiché il trattamento dell'HIV prevede schemi terapeutici con più farmaci, risulta complesso stabilire la relazione di ciascuno di essi con la reazione avversa considerata.

Tra tutti i casi di PML riscontrati, gli immunosoppressori erano i farmaci più rappresentati, sia come "immunosoppressori convenzionali" sia come "MAb". Un possibile criticità della presente ricerca risiede nella suddivisione in 4 gruppi terapeutici dei farmaci individuati, in quanto questa è stata effettuata in base all'osservazione dei dati ottenuti, tuttavia essa appare utile per distinguere un'immunosoppressione generica, quella operata dagli immunosoppressori convenzionali, da un'immunosoppressione legata a un'azione su target specifici del sistema immunitario, qual è quella operata dai MAb.

Tutti gli immunosoppressori trovano impiego sia nei disordini linfoproliferativi, quali leucemie e linfomi, sia in patologie autoimmuni quali SM, lupus eritematoso sistemico, psoriasi, artrite reumatoide. In passato, la PML non era mai stata riscontrata in pazienti con patologie autoimmuni, mentre ora, con l'avvento dei farmaci biologici, è stato registrato un aumento di casi di PML anche in pazienti affetti da queste malattie. Occorre però considerare che questo aumento di casi di PML, da una parte potrebbe essere dovuto ad una reale relazione tra PML e MAb, dall'altra potrebbe dipendere da una migliorata capacità diagnostica della stessa o da una maggiore consapevolezza della sua esistenza da parte dei medici.

Attualmente la relazione tra PML e MAb è tenuta sotto stretto monitoraggio da parte delle autorità regolatorie, e recentemente stanno emergendo ipotesi sul meccanismo fisiopatologico per tale relazione^{122,154}.

I farmaci biologici, spesso, sono erroneamente considerati più sicuri dei farmaci non-biologici, per la loro mancanza di effetti in siti differenti dal loro bersaglio (effetti off-target). Tuttavia essi, attraverso un'azione altamente specifica su determinati bersagli (effetto on-target), possono determinare uno sbilanciamento importante del sistema immunitario, con conseguenti reazioni avverse gravi quali infezioni opportunistiche e tumori, come sostenuto da diversi autori¹⁶⁷⁻¹⁷⁰. Occorre pertanto tenere conto anche di ciò quando si effettua una valutazione del rapporto rischio/beneficio di questi agenti.

Al fine di stabilire la forza della relazione tra farmaco e reazione avversa, risulta indispensabile distinguere i casi in cui il farmaco era il solo sospettato, da quelli in cui la presenza di più farmaci poteva indurre in errore. Da questa ricerca è emerso che i MAb, in particolare rituximab e natalizumab, sono strettamente correlati con la PML. In modo del tutto analogo sembra essere associato alla PML anche l'anticorpo monoclonale efalizumab, farmaco indicato per il trattamento della psoriasi, che è stato ritirato dal mercato proprio a causa di 3 casi di PML. Infatti l'EMA ha giudicato sfavorevole il rapporto rischio/beneficio del farmaco¹⁵⁵. I casi relativi all'efalizumab però non sono presenti tra i risultati di questa analisi perchè la loro segnalazione è avvenuta successivamente all'ottobre 2008, data in cui è stata effettuata la raccolta dati.

Nel gruppo denominato "altri farmaci", un gran numero di casi di PML è stato associato a levamisolo, fluorouracile e calcio folinato (presenti solo in MEDLINE) e a vincristina e doxorubicina (nei due database di segnalazione spontanea). Il levamisolo, da solo o in associazione con il 5-fluorouracile, può causare una leucoencefalopatia multipla infiammatoria con un declino progressivo¹⁷¹, come ben noto da diverso tempo. Mentre, sulla base dei dati emersi da questo studio, gli altri farmaci non possono essere considerati direttamente correlati alla PML, in quanto essi spesso sono impiegati in regimi di politerapia.

Infine, nell'impiego di tutti i farmaci, e nello specifico dei nuovi biologici, per i quali non si conosce completamente il profilo di sicurezza, occorre effettuare un attento esame del rapporto rischio/beneficio. Infatti, se da una parte il rischio di PML indotta da farmaci potrebbe essere considerato accettabile in patologie che mettono a rischio la vita del paziente (es. leucemie e linfomi), dall'altra tale rischio diventa meno accettabile in patologie, sicuramente gravi e debilitanti, ma non letali, quali le

patologie autoimmuni. Pertanto, in queste patologie occorrerebbe limitare l'uso dei farmaci biologici solo in caso di insuccesso delle altre terapie e monitorare strettamente il loro utilizzo. In Italia, ad esempio, la prescrizione del natalizumab è vincolata alla compilazione di un Registro volto a monitorare appropriatezza d'uso e sicurezza del farmaco¹⁷² (per maggiori informazioni si veda pag. 72).

In conclusione, è possibile affermare che la PML può essere considerata un effetto di classe dei MAb. Quindi, sulla base dei risultati di questo studio, occorrerebbe sottoporre a un attento monitoraggio tutti i pazienti che ricevono terapie biologiche in modo da individuare in maniera tempestiva i segni e i sintomi della PML.

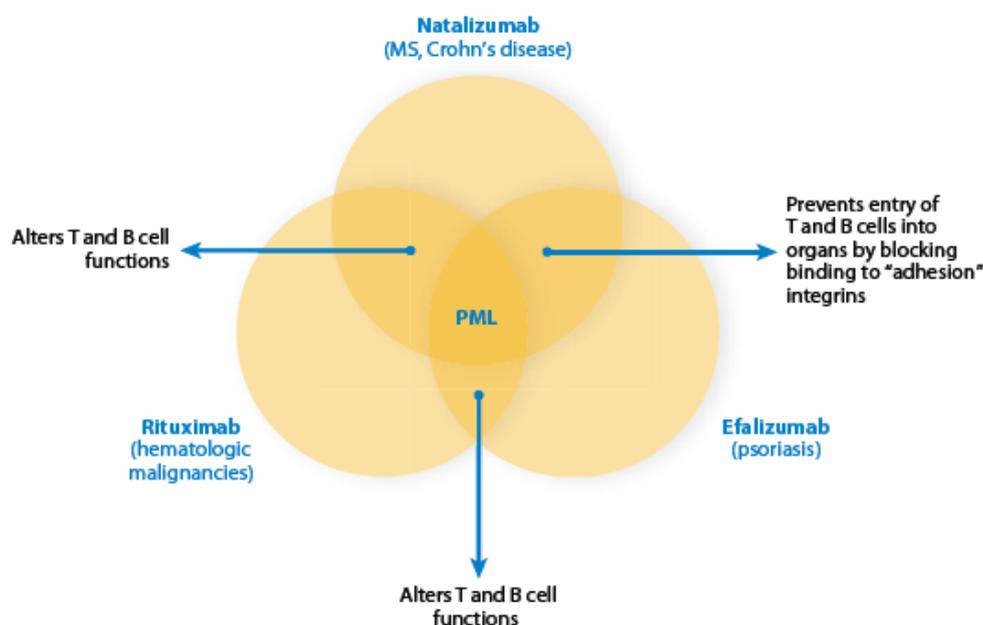
Addendum

Recenti ipotesi sul meccanismo alla base della relazione tra PML e anticorpi monoclonali

Successivamente alla pubblicazione dei dati descritti in questo studio e all'aumentare dei casi di PML indotta da MAb, è stata messa in discussione tutta la conoscenza patogenetica riguardo la PML e sono state pubblicate alcune ipotesi di meccanismo alla base della relazione esistente tra PML e MAb.

Appare evidente che l'alterazione del sistema immunitario, in seguito a trattamento con MAb, sia alla base dello sviluppo della PML, tuttavia il meccanismo specifico che determina tale connessione è ancora in fase di studio e sembra coinvolgere diversi fattori del sistema immunitario. Infatti, i MAb per i quali sono emersi casi di PML hanno meccanismi d'azione che in parte sono nettamente distinti e in parte sono sovrapponibili tra loro (Figura 1). Ad esempio l'efalizumab, similmente al natalizumab (per maggiori dettagli si veda pag. 63), è un inibitore delle α -integrine, però i target specifici dei due farmaci presentano una diversa localizzazione. Ancora più differente il meccanismo del rituximab, un anticorpo diretto verso il CD20 dei linfociti B (per maggiori dettagli si veda pag. 61)

Figura 25 MAb e PML, ipotesi di meccanismo
Fonte: E.O. Major, Annu. Rev. Med. 2010



Tutte le ipotesi di meccanismo alla base della relazione esistente tra PML e MAb concordano sul fatto che il solo abbassamento delle difese immunitarie, dovuto ad una terapia immunosoppressiva, non può essere l'unico fattore scatenante, bensì questo deve coinvolgere meccanismi ben più specifici. È stato ipotizzato che le cellule CD34+ e le cellule B del midollo osseo, che contengono DNA virale latente, non riuscendo a migrare dalla circolazione sistemica al sistema nervoso centrale a causa del blocco delle integrine, permangono in circolo e favoriscono l'attivazione della sintesi del DNA virale. Il virus poi, sfruttando l'indebolimento del sistema immunitario e usando le cellule B come trasportatori, attraversa la barriera ematoencefalica e giunge nel cervello dove causa la necrosi degli oligodendrociti e le conseguenti manifestazioni cliniche della PML¹⁵⁰.

Conclusioni generali

I risultati, descritti nella presente tesi, pongono l'accento sull'importanza di studi di farmacoepidemiologia per patologie complesse e con un quadro non del tutto definito come la SM. Gli strumenti che sono stati utilizzati in questa ricerca sono quelli propri degli studi di farmacoutilizzazione e di farmacovigilanza.

Tramite la costruzione del database per il monitoraggio regionale dei trattamenti DMD in Emilia-Romagna, è stato possibile delineare le modalità di impiego delle terapie attualmente a disposizione per il trattamento della malattia. Dall'analisi dei dati raccolti è emerso un largo impiego di farmaci immunomodulanti, quali interferone e glatiramer, a discapito dei farmaci immunosoppressori come azatioprina e metotrexato. L'analisi dei dati raccolti ha dimostrato, inoltre, come si differenziano le scelte terapeutiche in base alle caratteristiche cliniche dei pazienti. Ciò ha permesso, ai neurologi coinvolti nel progetto, di confrontarsi su quali fossero le migliori strategie da intraprendere in funzione di ogni specifico quadro clinico, giungendo a un'armonizzazione e una razionalizzazione dell'impiego dei farmaci DMD sul territorio regionale.

L'esperienza del registro dell'Emilia Romagna ha posto le basi per la realizzazione del Registro nazionale Tysabri, istituito dall'AIFA, per il monitoraggio delle prescrizioni del natalizumab. L'analisi dei dati dopo due anni di attività del Registro Tysabri, ha dimostrato che, l'applicazione di criteri di accesso al trattamento più restrittivi e lo stretto monitoraggio delle prescrizioni, favoriscono l'appropriatezza prescrittiva e permettono di minimizzare il manifestarsi di effetti avversi anche gravi.

Partendo dalla mancanza di informazioni sulle reazioni avverse di farmaci nuovi (come il natalizumab) e utilizzando i metodi propri della farmacovigilanza, la ricerca ha indagato la possibile relazione tra MAb e PML, reazione avversa rara e letale. L'analisi dei principali sistemi di segnalazioni spontanee internazionali (FDA-AERS e WHO-VigiBase) ha evidenziato una forte relazione tra MAb e PML. Ciò ha determinato la comparsa di un "segnale" di farmacovigilanza che ha posto le basi per ulteriori studi su tale relazione e ha evidenziato maggiormente la necessità di monitorare tutti i farmaci biologici durante le loro primi fasi di commercializzazione.

Bibliografia

1. Clegg A, Bryant J, Milne R. Disease-modifying drugs for multiple sclerosis: a rapid and systematic review. *Health Technol.Assess.* 2000;4(9):i-101.
2. Compston A. Genetic epidemiology of multiple sclerosis. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 1997;62(6):553-61.
3. Hogancamp WE, Rodriguez M, Weinshenker BG. The epidemiology of multiple sclerosis. *Mayo Clin.Proc.* 1997;72(9):871-8.
4. Duquette P, Pleines J, Girard M, Charest L, Senecal-Quevillon M, Masse C. The increased susceptibility of women to multiple sclerosis. *Can.J.Neurol.Sci.* 1992;19(4):466-71.
5. Jacobs LD, Wende KE, Brownscheidle CM, Apatoff B, Coyle PK, Goodman A et al. A profile of multiple sclerosis: the New York State Multiple Sclerosis Consortium. *Mult.Scler.* 1999;5(5):369-76.
6. McDonnell GV, Hawkins SA. Primary progressive multiple sclerosis: a distinct syndrome? *Mult.Scler.* 1996;2(3):137-41.
7. Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vecsei L et al. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *Eur.J.Neurol.* 2006;13(7):700-22.
8. Granieri E, Economou NT, De Gennaro R, Tola MR, Caniatti L, Govoni V et al. Multiple sclerosis in the province of Ferrara : evidence for an increasing trend
9. *J.Neurol.* 2007;254(12):1642-8.
9. Neuhaus O, Kieseier BC, Hartung HP. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the interferon-betas, glatiramer acetate, and mitoxantrone in multiple sclerosis. *J.Neurol.Sci.* 2007;259(1-2):27-37.
10. Hartung HP, Bar-Or A, Zoukos Y. What do we know about the mechanism of action of disease-modifying treatments in MS? *J.Neurol.* 2004;251 Suppl 5:v12-v29.
11. Rodriguez M, Scheithauer B. Ultrastructure of multiple sclerosis. *Ultrastruct.Pathol.* 1994;18(1-2):3-13.
12. Kermode AG, Thompson AJ, Tofts P, MacManus DG, Kendall BE, Kingsley DP et al. Breakdown of the blood-brain barrier precedes symptoms and other MRI signs of new lesions in multiple sclerosis. Pathogenetic and clinical implications. *Brain* 1990;113 (Pt 5):1477-89.
13. Kieseier BC. Assessing long-term effects of disease modifying drugs. *J.Neurol.* 2006;253 [Suppl 6¹(VI):23-30.
14. Prineas JW, Barnard RO, Revesz T, Kwon EE, Sharer L, Cho ES. Multiple sclerosis. Pathology of recurrent lesions. *Brain.* 1993;116(Pt 3):681-93.
15. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann.Neurol.* 1983;13(3):227-31.
16. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann.Neurol.* 2001;50(1):121-7.
17. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann.Neurol.* 2005;58(6):840-6.

18. Polman CH, Wolinsky JS, Reingold SC. Multiple sclerosis diagnostic criteria: three years later. *Mult.Scler.* 2005;11(1):5-12.
19. Rizvi SA, Agius MA. Current approved options for treating patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2004;63(12 Suppl 6):S8-14.
20. Lublin F. History of modern multiple sclerosis therapy. *J.Neurol.* 2005;252 Suppl 3:iii3-iii9.
21. Durelli L, Cocito D, Riccio A, Barile C, Bergamasco B, Baggio GF et al. High-dose intravenous methylprednisolone in the treatment of multiple sclerosis: clinical-immunologic correlations. *Neurology* 1986;36(2):238-43.
22. Milligan NM, Newcombe R, Compston DA. A double-blind controlled trial of high dose methylprednisolone in patients with multiple sclerosis: 1. Clinical effects. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 1987;50(5):511-6.
23. Perkin GD. A critique of steroid trials in multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* 1987;6(1-2):40-5.
24. Millar JH, Vas CJ, Noronha MJ, Liversedge LA, Rawson MD. Long-term treatment of multiple sclerosis with corticotrophin. *Lancet.* 1967;2(7513):429-31.
25. Calabresi PA. Diagnosis and management of multiple sclerosis. *Am.Fam.Physician* 2004;70(10):1935-44.
26. Chen TC, Mackic JB, McComb JG, Giannotta SL, Weiss MH, Zlokovic BV. Cellular uptake and transport of methylprednisolone at the blood-brain barrier. *Neurosurgery* 1996;38(2):348-54.
27. Barkhof F, Hommes OR, Scheltens P, Valk J. Quantitative MRI changes in gadolinium-DTPA enhancement after high-dose intravenous methylprednisolone in multiple sclerosis. *Neurology* 1991;41(8):1219-22.
28. Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, Noseworthy JH, Lucchinetti CF, Dodick DW et al. A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. *Ann.Neurol.* 1999;46(6):878-86.
29. Wingerchuk DM. Multiple sclerosis disease-modifying therapies: adverse effect surveillance and management. *Expert.Rev.Neurother.* 2006;6(3):333-46.
30. REFI. 2006.
31. MICROMEDEX. 2007.
32. Kieseier BC, Wiendl H, Hemmer B, Hartung HP. Treatment and treatment trials in multiple sclerosis. *Curr.Opin.Neurol.* 2007;20(3):286-93.
33. Kappos L, Kuhle J, Gass A, Achtnichts L, Radue EW. Alternatives to current disease-modifying treatment in MS: what do we need and what can we expect in the future? *J.Neurol.* 2004;251 Suppl 5:v57-v64.
34. Rizvi SA, Bashir K. Other therapy options and future strategies for treating patients with multiple sclerosis. *Neurology* 2004;63(12 Suppl 6):S47-S54.
35. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2000;343(13):938-52.
36. Warrington AE, Asakura K, Bieber AJ, Ciric B, Van K, V, Kaveri SV et al. Human monoclonal antibodies reactive to oligodendrocytes promote remyelination in a model of multiple sclerosis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2000;97(12):6820-5.

37. GrandPre T, Nakamura F, Vartanian T, Strittmatter SM. Identification of the Nogo inhibitor of axon regeneration as a Reticulon protein. *Nature* 2000;403(6768):439-44.
38. Whitaker JN, McFarland HF, Rudge P, Reingold SC. Outcomes assessment in multiple sclerosis clinical trials: a critical analysis. *Mult.Scler.* 1995;1(1):37-47.
39. Zaffaroni M. Treatment optimisation in multiple sclerosis. *Neurol.Sci.* 2005;26 Suppl 4:S187-92.:S187-S192.
40. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann.Neurol.* 2000;47(6):707-17.
41. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33(11):1444-52.
42. Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, Vukusic S et al. Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology.* 2005;64(7):1144-51.
43. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet* 1998;352(9139):1498-504.
44. Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. *Lancet* 1998;352(9139):1491-7.
45. Double-blind randomized multicenter dose-comparison study of interferon-beta-1a (AVONEX): rationale, design and baseline data. *Mult.Scler.* 2001;7(3):179-83.
46. Panitch H, Goodin DS, Francis G, Chang P, Coyle PK, O'Connor P et al. Randomized, comparative study of interferon beta-1a treatment regimens in MS: The EVIDENCE Trial. *Neurology* 2002;59(10):1496-506.
47. Johnson KP, Brooks BR, Cohen JA, Ford CC, Goldstein J, Lisak RP et al. Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing-remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 1995;45(7):1268-76.
48. Comi G, Filippi M, Wolinsky JS. European/Canadian multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of the effects of glatiramer acetate on magnetic resonance imaging--measured disease activity and burden in patients with relapsing multiple sclerosis. European/Canadian Glatiramer Acetate Study Group. *Ann.Neurol.* 2001;49(3):290-7.
49. Millefiorini E, Gasperini C, Pozzilli C, D'Andrea F, Bastianello S, Trojano M et al. Randomized placebo-controlled trial of mitoxantrone in relapsing-remitting multiple sclerosis: 24-month clinical and MRI outcome. *J.Neurol.* 1997;244(3):153-9.
50. Hartung HP, Gonsette R, Konig N, Kwiecinski H, Guseo A, Morrissey SP et al. Mitoxantrone in progressive multiple sclerosis: a placebo-controlled, double-blind, randomised, multicentre trial. *Lancet* 2002;360(9350):2018-25.
51. Yudkin PL, Ellison GW, Ghezzi A, Goodkin DE, Hughes RA, McPherson K et al. Overview of azathioprine treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 1991;338(8774):1051-5.
52. Currier RD, Haerer AF, Meydrech EF. Low dose oral methotrexate treatment of multiple sclerosis: a pilot study. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 1993;56(11):1217-8.

53. Goodkin DE, Rudick RA, VanderBrug MS, Daughtry MM, Schwetz KM, Fischer J et al. Low-dose (7.5 mg) oral methotrexate reduces the rate of progression in chronic progressive multiple sclerosis. *Ann.Neurol.* 1995;37(1):30-40.
54. Sorensen PS. The gap between effect of drugs and effectiveness of treatments. *J.Neurol.Sci.* 2007;259(1-2):128-32.
55. Comi G, Filippi M, Barkhof F, Durelli L, Edan G, Fernandez O et al. Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet* 2001;357(9268):1576-82.
56. Martinelli V. Combination therapy. *Neurol.Sci.* 2006;27 Suppl 5:S350-4.:S350-S354.
57. Multiple sclerosis. Clinical Guideline 8. Management of multiple sclerosis in primary and secondary care. 2003. National Institute for Clinical Excellence.
58. Jeffery D, Bashir K, Buchwald L, Coyle P, Freedman M, Markowitz C et al. Optimizing immunomodulatory therapy for MS patients: an integrated management model. *J.Neurol.Sci.* 2002;201(1-2):89-90.
59. Treatment optimization in multiple sclerosis: report of an international consensus meeting. *Eur.J.Neurol.* 2004;11(1):43-7.
60. Flachenecker P. Disease-modifying drugs for the early treatment of multiple sclerosis. *Expert.Rev.Neurother.* 2004;4(3):455-63.
61. Jacobs LD, Beck RW, Simon JH, Kinkel RP, Brownschidle CM, Murray TJ et al. Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. *N.Engl.J.Med.* 2000;343(13):898-904.
62. Kappos L, Freedman MS, Polman CH, Edan G, Hartung HP, Miller DH et al. Effect of early versus delayed interferon beta-1b treatment on disability after a first clinical event suggestive of multiple sclerosis: a 3-year follow-up analysis of the BENEFIT study. *Lancet.* 2007;370(9585):389-97.
63. Martinelli V, Comi G. Induction versus escalation therapy. *Neurol.Sci.* 2005;26 Suppl 4:S193-9.:S193-S199.
64. Zaffaroni M, Ghezzi A, Comi G. Intensive immunosuppression in multiple sclerosis. *Neurol.Sci.* 2006;27 Suppl 1:S13-7.:S13-S17.
65. Wingerchuk DM, Noseworthy JH. Randomized controlled trials to assess therapies for multiple sclerosis. *Neurology* 2002;58(8 Suppl 4):S40-S48.
66. Pachner AR, Steiner I. The multiple sclerosis severity score (MSSS) predicts disease severity over time. *J.Neurol.Sci.* 2009;278(1-2):66-70.
67. Weinshenker BG. Databases in MS research: pitfalls and promises. *Mult.Scler.* 1999;5(4):206-11.
68. Trojano M. Can databasing optimise patient care? *J.Neurol.* 2004;251 Suppl 5:v79-v82.
69. Butzkueven H, Chapman J, Cristiano E, Grand'Maison F, Hoffmann M, Izquierdo G et al. MSBase: an international, online registry and platform for collaborative outcomes research in multiple sclerosis. *Mult.Scler.* 2006;12(6):769-74.
70. Flachenecker P, Stuke K. National MS registries. *J.Neurol.* 2008;255 Suppl 6:102-8.:102-8.
71. Trojano M. Is it time to use observational data to estimate treatment effectiveness in multiple sclerosis? *Neurology.* 2007;69(15):1478-9.

72. MedDRA - the Medical Dictionary for Regulatory Activities.
<http://www.meddrasso.com/MSSOWeb/index.htm> . 2009. 23-2-2009.
73. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 1996;46(4):907-11.
74. Novantrone, Riassunto delle caratteristiche del prodotto. 2005.
75. FDA Food and Drug AdministrationEuropean Medicines Agency. Novantrone. Label and Approval History.
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_ApprovalHistory . 2-11-2009.
76. Bollettino di informazione sui farmaci. Bollettino di Informazione sui farmaci 2006;N.6 anno XIII.
77. Paolillo A, Pozzilli C, Giugni E, Tomassini V, Gasperini C, Fiorelli M et al. A 6-year clinical and MRI follow-up study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated with Interferon-beta. *Eur.J.Neurol.* 2002;9(6):645-55.
78. Li DK, Zhao GJ, Paty DW. Randomized controlled trial of interferon-beta-1a in secondary progressive MS: MRI results. *Neurology.* 2001;56(11):1505-13.
79. Caon C, Din M, Ching W, Tselis A, Lisak R, Khan O. Clinical course after change of immunomodulating therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur.J.Neurol.* 2006;13(5):471-4.
80. Scott TF, Allen D, Price TR, McConnell H, Lang D. Characterization of major depression symptoms in multiple sclerosis patients. *J.Neuropsychiatry Clin.Neurosci.* 1996;8(3):318-23.
81. Caraccio N, Dardano A, Manfredonia F, Manca L, Pasquali L, Iudice A et al. Long-term follow-up of 106 multiple sclerosis patients undergoing interferon-beta 1a or 1b therapy: predictive factors of thyroid disease development and duration. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 2005;90(7):4133-7.
82. Lopez-Diego RS, Weiner HL. Novel therapeutic strategies for multiple sclerosis--a multifaceted adversary. *Nat.Rev.Drug Discov.* 2008;7(11):909-25.
83. Presta LG. Engineering of therapeutic antibodies to minimize immunogenicity and optimize function. *Adv.Drug Deliv.Rev.* 2006;58(5-6):640-56.
84. Bielekova B, Becker BL. Monoclonal antibodies in MS: mechanisms of action. *Neurology.* 2010;74 Suppl 1:S31-40.:S31-S40.
85. FDA Food and Drug AdministrationEuropean Medicines Agency. Rituxan. Label and Approval History.
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_ApprovalHistory#apphist . 2-11-2004.
86. EMEA European Medicines Agency. MabThera. European Public Assessment Report (EPAR).
<http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/mabthera/mabthera.htm> . 30-10-2009.
87. Bar-Or A, Calabresi PA, Arnold D, Markowitz C, Shafer S, Kasper LH et al. Rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis: a 72-week, open-label, phase I trial. *Ann.Neurol.* 2008;63(3):395-400.
88. Hauser SL, Waubant E, Arnold DL, Vollmer T, Antel J, Fox RJ et al. B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2008;358(7):676-88.
89. FDA Food and Drug AdministrationEuropean Medicines Agency. Campath. Label and Approval History.
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_ApprovalHistory#apphist . 19-9-2007.

90. EMEA European Medicines Agency. MabCampath. European Public Assessment Report (EPAR). <http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/mabcampath/mabcampath.htm> . 8-2-2010.
91. Ratzinger G, Reagan JL, Heller G, Busam KJ, Young JW. Differential CD52 expression by distinct myeloid dendritic cell subsets: implications for alemtuzumab activity at the level of antigen presentation in allogeneic graft-host interactions in transplantation. *Blood*. 2003;101(4):1422-9.
92. Stanglmaier M, Reis S, Hallek M. Rituximab and alemtuzumab induce a nonclassic, caspase-independent apoptotic pathway in B-lymphoid cell lines and in chronic lymphocytic leukemia cells. *Ann.Hematol*. 2004;83(10):634-45.
93. Zent CS, Chen JB, Kurten RC, Kaushal GP, Lacy HM, Schichman SA. Alemtuzumab (CAMPATH 1H) does not kill chronic lymphocytic leukemia cells in serum free medium. *Leuk.Res*. 2004;28(5):495-507.
94. Coles AJ, Compston DA, Selmaj KW, Lake SL, Moran S, Margolin DH et al. Alemtuzumab vs interferon beta-1a in early multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med*. 2008;359(17):1786-801.
95. Waldmann T. The contrasting roles of IL-2 and IL-15 in the life and death of lymphocytes: implications for the immunotherapy of rheumatological diseases. *Arthritis Res*. 2002;4 Suppl 3:S161-7. Epub;2002 May 9.:S161-S167.
96. Bielekova B, Richert N, Howard T, Blevins G, Markovic-Plese S, McCartin J et al. Humanized anti-CD25 (daclizumab) inhibits disease activity in multiple sclerosis patients failing to respond to interferon beta. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*. 2004;101(23):8705-8.
97. Rose JW, Watt HE, White AT, Carlson NG. Treatment of multiple sclerosis with an anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody. *Ann.Neurol*. 2004;56(6):864-7.
98. Rose JW, Burns JB, Bjorklund J, Klein J, Watt HE, Carlson NG. Daclizumab phase II trial in relapsing and remitting multiple sclerosis: MRI and clinical results. *Neurology*. 2007;69(8):785-9.
99. Bielekova B, Howard T, Packer AN, Richert N, Blevins G, Ohayon J et al. Effect of anti-CD25 antibody daclizumab in the inhibition of inflammation and stabilization of disease progression in multiple sclerosis. *Arch Neurol*. 2009;66(4):483-9.
100. von Andrian UH, Mempel TR. Homing and cellular traffic in lymph nodes. *Nat.Rev.Immunol*. 2003;3(11):867-78.
101. Engelhardt B, Briskin MJ. Therapeutic targeting of alpha 4-integrins in chronic inflammatory diseases: tipping the scales of risk towards benefit? *Eur.J.Immunol*. 2005;35(8):2268-73.
102. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell*. 1994;76(2):301-14.
103. von Andrian UH, Mackay CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N.Engl.J.Med*. 2000;343(14):1020-34.
104. Lee SJ, Benveniste EN. Adhesion molecule expression and regulation on cells of the central nervous system. *J.Neuroimmunol*. 1999;98(2):77-88.
105. von Andrian UH, Engelhardt B. Alpha4 integrins as therapeutic targets in autoimmune disease. *N.Engl.J.Med*. 2003;348(1):68-72.
106. Sandborn WJ, Colombel JF, Enns R, Feagan BG, Hanauer SB, Lawrance IC et al. Natalizumab induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N.Engl.J.Med*. 2005;353(18):1912-25.
107. Sheremata WA, Vollmer TL, Stone LA, Willmer-Hulme AJ, Koller M. A safety and pharmacokinetic study of intravenous natalizumab in patients with MS. *Neurology*. 1999;52(5):1072-4.

108. Miller DH, Khan OA, Sheremata WA, Blumhardt LD, Rice GP, Libonati MA et al. A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2003;348(1):15-23.
109. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2006;354(9):899-910.
110. Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2006;354(9):911-23.
111. Goodin D. The return of natalizumab: weighing benefit against risk. *Lancet Neurol.* 2006;5(5):375-7.
112. EMEA European Medicines Agency. Tysabri. European Public Assessment Report (EPAR). <http://www.ema.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/tysabri/tysabri.htm> . 18-6-2009.
113. Chaudhuri A. Lessons for clinical trials from natalizumab in multiple sclerosis. *BMJ.* 2006;332(7538):416-9.
114. FDA Food and Drug Administration European Medicines Agency. Tysabri. Label and Approval History. http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm?fuseaction=Search.Label_ApprovalHistory#apphist . 10-3-2008.
115. Van Assche G, Van Ranst M, Sciot R, Dubois B, Vermeire S, Noman M et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy after natalizumab therapy for Crohn's disease. *N.Engl.J.Med.* 2005;353(4):362-8.
116. Kleinschmidt-DeMasters BK, Tyler KL. Progressive multifocal leukoencephalopathy complicating treatment with natalizumab and interferon beta-1a for multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2005;353(4):369-74.
117. Langer-Gould A, Atlas SW, Green AJ, Bollen AW, Pelletier D. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a patient treated with natalizumab. *N.Engl.J.Med.* 2005;353(4):375-81.
118. Yousry TA, Major EO, Ryschkewitsch C, Fahle G, Fischer S, Hou J et al. Evaluation of patients treated with natalizumab for progressive multifocal leukoencephalopathy. *N.Engl.J.Med.* 2006;354(9):924-33.
119. The TYSABRI TOUCH® Prescribing Program. http://www.tysabri.com/tysbProject/tysb.portal/_baseurl/threeColLayout/SCSRepository/en_US/tysb/home/treatment-with-tysabri/touch-prescribing-program.xml . 5-3-2010.
120. Tysabri - FDA Approval Letter. FDA (U.S.Food and Drug Administration) . 5-6-2006. 23-2-2009. <http://www.fda.gov/cder/foi/applletter/2006/125104s015LTR.pdf>
121. Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2006;354(9):899-910.
122. Major EO. Reemergence of PML in natalizumab-treated patients--new cases, same concerns. *N.Engl.J.Med.* 2009;361(11):1041-3.
123. Hartung HP. New cases of progressive multifocal leukoencephalopathy after treatment with natalizumab. *Lancet Neurol.* 2009;8(1):28-31.
124. EMEA European Medicines Agency. Doc. Ref. EMEA/CHMP/424554/2008 European Medicines Agency update on progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) and Tysabri . <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/tysabri/42455408en.pdf> . 13-8-2008.
125. Gazzetta Ufficiale N. 265 del 14 Novembre 2005. 14-11-2005.

126. AIFA Agenzia Italiana del Farmaco. DETERMINAZIONE 7 dicembre 2006 - Regime di rimborsabilita' e prezzo di vendita della specialita' medicinale «Tysabri» (natalizumab) - autorizzata con procedura centralizzata europea dalla Commissione europea. (Determinazione/C n. 115/2006). (GU n. 292 del 16-12-2006). 7-12-2006.
127. Rio J, Nos C, Tintore M, Tellez N, Galan I, Pelayo R et al. Defining the response to interferon-beta in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Ann.Neurol.* 2006;59(2):344-52.
128. Karussis D, Biermann LD, Bohlega S, Boiko A, Chofflon M, Fazekas F et al. A recommended treatment algorithm in relapsing multiple sclerosis: report of an international consensus meeting. *Eur.J.Neurol.* 2006;13(1):61-71.
129. Pozzilli C, Prosperini L, Sbardella E, De Giglio L, Onesti E, Tomassini V. Post-marketing survey on clinical response to interferon beta in relapsing multiple sclerosis: the Roman experience. *Neurol.Sci.* 2005;26 Suppl 4:S174-8.:S174-S178.
130. Portaccio E, Zipoli V, Siracusa G, Sorbi S, Amato MP. Response to interferon-beta therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis: a comparison of different clinical criteria. *Mult.Scler.* 2006;12(3):281-6.
131. Trojano M, Russo P, Fuiani A, Paolicelli D, Di Monte E, Granieri E et al. The Italian Multiple Sclerosis Database Network (MSDN): the risk of worsening according to IFNbeta exposure in multiple sclerosis. *Mult.Scler.* 2006;12(5):578-85.
132. EMEA European Medicines Agency. Doc. Ref. EMEA/CHMP/139489/2008 EMEA concludes new advice to doctors and patients for Tysabri (natalizumab) needed . <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/tysabri/42455408en.pdf> . 20-3-2008.
133. Ransohoff RM. Natalizumab for multiple sclerosis. *N.Engl.J.Med.* 2007;356(25):2622-9.
134. Gliklich RE, Dreyer NA. Registries for Evaluating Patient Outcomes: A User's Guide. Rockville, MD: Agency for Healthcare Research and Quality.: AHRQ Publication No. 07-EHC001-1; 2007.
135. Garattini S, Bertele' V. How can we regulate medicines better? *BMJ.* 2007;335(7624):803-5.
136. La via italiana agli studi di post-marketing. *Bollettino di Informazione sui farmaci* 2008;XV(4).
137. EMEA European Medicines Agency. Doc. Ref. EMEA/CHMP/496612/2008 European Medicines Agency recommends update of product information of Tysabri and risk of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) . <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/tysabri/49661208en.pdf> . 25-9-2009.
138. EMEA European Medicines Agency. EMA/37607/2010 European Medicines Agency recommends additional measures to better manage risk of progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) with Tysabri . <http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/tysabri/3760710en.pdf> . 31-1-2010.
139. Weber T, Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy: molecular biology, pathogenesis and clinical impact. *Intervirol.* 1997;40(2-3):98-111.
140. Koralnik IJ. New insights into progressive multifocal leukoencephalopathy. *Curr.Opin.Neurol.* 2004;17(3):365-70.
141. Astrom KE. [Progressive multifocal leukoencephalopathy. Demyelinating viral disease--common complication of AIDS]. *Lakartidningen.* 2001;98(39):4206-11, 4213.
142. Zu Rhein GM. Polyoma-like virions in a human demyelinating disease. *Acta Neuropathol.* 1967;8(1):57-68.
143. Padgett BL, Walker DL, ZuRhein GM, Eckroade RJ, Dessel BH. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. *Lancet.* 1971;1(7712):1257-60.

144. Brooks BR, Walker DL. Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Neurol.Clin.* 1984;2(2):299-313.
145. Sacktor N. The epidemiology of human immunodeficiency virus-associated neurological disease in the era of highly active antiretroviral therapy. *J.Neurovirol.* 2002;8 Suppl 2:115-21.:115-21.
146. Holman RC, Torok TJ, Belay ED, Janssen RS, Schonberger LB. Progressive multifocal leukoencephalopathy in the United States, 1979-1994: increased mortality associated with HIV infection. *Neuroepidemiology.* 1998;17(6):303-9.
147. Power C, Gladden JG, Halliday W, Del Bigio MR, Nath A, Ni W et al. AIDS- and non-AIDS-related PML association with distinct p53 polymorphism. *Neurology.* 2000;54(3):743-6.
148. Gonzalez H, Bolgert F, Camporo P, Leblond V. Progressive multifocal leukoencephalitis (PML) in three patients treated with standard-dose fludarabine (FAMP). *Hematol.Cell Ther.* 1999;41(4):183-6.
149. Tan CS, Dezube BJ, Bhargava P, Autissier P, Wuthrich C, Miller J et al. Detection of JC virus DNA and proteins in the bone marrow of HIV-positive and HIV-negative patients: implications for viral latency and neurotropic transformation. *J.Infect.Dis.* 2009;199(6):881-8.
150. Major EO. Progressive multifocal leukoencephalopathy in patients on immunomodulatory therapies. *Annu.Rev.Med.* 2010;61:35-47.:35-47.
151. Berenguer J, Miralles P, Arrizabalaga J, Ribera E, Dronda F, Baraia-Etxaburu J et al. Clinical course and prognostic factors of progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with highly active antiretroviral therapy. *Clin.Infect.Dis.* 2003;36(8):1047-52.
152. Yousry TA, Major EO, Ryschkeiwitsch C, Fahle G, Fischer S, Hou J et al. Evaluation of patients treated with natalizumab for progressive multifocal leukoencephalopathy. *N.Engl.J.Med.* 2006;354(9):924-33.
153. Study to Explore the Effect of Mefloquine in Subjects With Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML). *ClinicalTrials.gov* . 4-3-2010.
<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00746941?term=mefloquine+PML&rank=1>
154. Carson KR, Focosi D, Major EO, Petrini M, Richey EA, West DP et al. Monoclonal antibody-associated progressive multifocal leukoencephalopathy in patients treated with rituximab, natalizumab, and efalizumab: a Review from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) Project. *Lancet Oncol.* 2009;10(8):816-24.
155. EMEA European Medicines Agency. Doc. Ref. EMEA/CHMP/20857/2009 European Medicines Agency recommends suspension of the marketing authorisation of Raptiva (efalizumab) .
<http://www.ema.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/raptiva/2085709en.pdf> . 19-2-2009.
156. FDA-AERS. FDA (U.S.Food and Drug Administration) . 15-1-2009. 23-2-2009.
<http://www.fda.gov/cder/aers/default.htm>
157. Kesselring J, Miller DH, MacManus DG, Johnson G, Milligan NM, Scolding N et al. Quantitative magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: the effect of high dose intravenous methylprednisolone. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 1989;52(1):14-7.
158. World Health Organization. WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. WHO (World Health Organization) . 15-4-2009. 23-2-2009. <http://www.whocc.no/atcddd/>
159. Stahl M, Edwards IR, Bowring G, Kiuru A, Lindquist M. Assessing the impact of drug safety signals from the WHO database presented in 'SIGNAL': results from a questionnaire of National pharmacovigilance Centres. *Drug Saf.* 2003;26(10):721-7.
160. Stephenson WP, Hauben M. Data mining for signals in spontaneous reporting databases: proceed with caution. *Pharmacoepidemiol.Drug Saf.* 2007;16(4):359-65.

161. Hammond IW, Gibbs TG, Seifert HA, Rich DS. Database size and power to detect safety signals in pharmacovigilance. *Expert.Opin.Drug Saf.* 2007;6(6):713-21.
162. Furberg CD, Levin AA, Gross PA, Shapiro RS, Strom BL. The FDA and drug safety: a proposal for sweeping changes. *Arch Intern Med* 2006;166(18):1938-42.
163. Pariente A, Gregoire F, Fourrier-Reglat A, Haramburu F, Moore N. Impact of safety alerts on measures of disproportionality in spontaneous reporting databases: the notoriety bias. *Drug Saf* 2007;30(10):891-8.
164. Motola D, Vargiu A, Leone R, Conforti A, Moretti U, Vaccheri A et al. Influence of regulatory measures on the rate of spontaneous adverse drug reaction reporting in Italy. *Drug Saf* 2008;31(7):609-16.
165. Hartnell NR, Wilson JP. Replication of the Weber effect using postmarketing adverse event reports voluntarily submitted to the United States Food and Drug Administration. *Pharmacotherapy.* 2004;24(6):743-9.
166. Hauben M, Reich L, DeMicco J, Kim K. 'Extreme duplication' in the US FDA Adverse Events Reporting System database. *Drug Saf* 2007;30(6):551-4.
167. Uetrecht J. Immune-mediated adverse drug reactions. *Chem.Res.Toxicol.* 2009;22(1):24-34.
168. Hamilton CD. Infectious complications of treatment with biologic agents. *Curr.Opin.Rheumatol.* 2004;16(4):393-8.
169. Bongartz T, Sutton AJ, Sweeting MJ, Buchan I, Matteson EL, Montori V. Anti-TNF antibody therapy in rheumatoid arthritis and the risk of serious infections and malignancies: systematic review and meta-analysis of rare harmful effects in randomized controlled trials. *JAMA* 2006;295(19):2275-85.
170. Strangfeld A, Listing J, Herzer P, Liebhaber A, Rockwitz K, Richter C et al. Risk of herpes zoster in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha agents. *JAMA* 2009;301(7):737-44.
171. Wu VC, Huang JW, Lien HC, Hsieh ST, Liu HM, Yang CC et al. Levamisole-induced multifocal inflammatory leukoencephalopathy: clinical characteristics, outcome, and impact of treatment in 31 patients. *Medicine (Baltimore).* 2006;85(4):203-13.
172. Mancardi GL, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P et al. Natalizumab: a country-based surveillance program. *Neurol.Sci.* 2008;29 Suppl 2:S235-7.:S235-S237.

Indice delle figure

Figura 1 Ipotetico meccanismo patogenetico della SM - Fonte: Neuhaus et al., J.Neurological Sciences 2007	8
Figura 2 Modello di progressione di malattia - Fonte: Kieseier, J.Neurol 2006	10
Figura 3 Tipi di decorso nella SM - Fonte: Rizvi et al., Neurology 2004	12
Figura 4 Siti d'azione di interferone β , glatiramer acetato e mitoxantrone - Fonte: Neuhaus et al., J.Neurological Sciences 2006	18
Figura 5 Scala di disabilità EDSS - Fonte: Kurtzke, Neurology 1983.....	22
Figura 6 Scala MSSS valutata per un gruppo di pazienti - Fonte: Roxburgh et al. 2005.....	23
Figura 7 Infiammazione e degenerazione assonale durante il decorso della SM - Fonte: Flachenecker et al., Expert Rev. Neurotherapeutics 2004.....	27
Figura 8 Modello di escalation therapy - Fonte: Martinelli et al., <i>Neurol Sci</i> 2005.....	29
Figura 9 Andamento della raccolta dati per numero di pazienti	37
Figura 10 Tipologie dei sistemi funzionali compromessi	41
Figura 11 Tipologia delle patologie concomitanti.....	42
Figura 12 Scelta del farmaco	43
Figura 13 Numero di casi di reazioni avverse raggruppate per classificazione sistemica organica MedDRA.	52
Figura 14 MSSS medio per trattamento farmacologico	55
Figura 15 Funzioni fisiologiche e patologiche delle integrine - Fonte: von Andrian UH, N Engl J Med 2003	65
Figura 16 Criteri di eleggibilità per il natalizumab	75
Figura 17 Azione di un registro sulla selezione dei pazienti.....	78
Figura 18 Dislocazione dei Centri accreditati e pazienti registrati per singola regione	81
Figura 19 Pazienti registrati per data di registrazione	82
Figura 20 Stato dei pazienti in base all'EDSS all'ultimo follow-up	88
Figura 21 Ipotesi di meccanismo patogenetico alla base della PML - Fonte: Major E.O., Annual Review of Medicine, 2010	93
Figura 22 Lesioni cerebrali da PML in donna di 89 anni (risonanza magnetica assiale) - Fonte: Carson KR, Lancet Oncology, 2009	94
Figura 23 Gruppi terapeutici implicati nella PML ritrovati nelle diverse fonti di dati	101
Figura 24 Distribuzione delle patologie di base dei pazienti con PML farmaco indotta.....	105
Figura 25 MAb e PML, ipotesi di meccanismo - Fonte: E.O. Major, Annu. Rev. Med. 2010.....	110

Indice delle tabelle

Tabella 1 Criteri di McDonald 2001 ¹⁶ revisionati da Polman 2005 ¹⁷	11
Tabella 2 Tabella riassuntiva delle caratteristiche dei trattamenti per la SM	16
Tabella 3 Caratteristiche cliniche e diagnostiche dei pazienti	40
Tabella 4 Quantità di sistemi funzionali compromessi	41
Tabella 5 Quantità delle patologie concomitanti	42
Tabella 6 Posologie utilizzate per i vari farmaci	44
Tabella 7 Scelta del trattamento in funzione dei parametri clinico-diagnostici	45
Tabella 8 Trattamento farmacologico delle diverse forme di SM	46
Tabella 9 Trattamento farmacologico per diversi valori EDSS	47
Tabella 10 Interruzioni transitorie dei trattamenti e relative motivazioni	49
Tabella 11 Interruzioni definitive del trattamento e relative motivazioni	50
Tabella 12 Cambiamenti dei trattamenti	51
Tabella 13 Descrizione reazioni avverse in base ai trattamenti registrati	52
Tabella 14 Descrizione reazioni avverse per trattamento	53
Tabella 15 Esiti delle visite di follow-up	54
Tabella 16 Target ed effetti dei MAb per la SM Fonte: Bielekova, Neurology 2010	61
Tabella 17 Dati di sintesi al 29 Settembre 2008	80
Tabella 18 Caratteristiche dei pazienti al baseline e confronto con AFFIRM	84
Tabella 19 Reazioni avverse segnalate nel Registro Tysabri secondo la classificazione MedDra	85
Tabella 20 Reazioni avverse gravi inserite nel Registro	86
Tabella 21 Causa di Fine Trattamento tra i pazienti del gruppo A (N=1277)	87
Tabella 22 Causa di Fine Trattamento tra i pazienti del gruppo B (N=148)	87
Tabella 23 Ricadute in corso di terapia in base alle ricadute nell'anno precedente la terapia	88
Tabella 24 Farmaci con ≥ 5 casi di PML in almeno una fonte	103
Tabella 25 Patologie di base dei pazienti con PML farmaco indotta, classificate in macro-aree patologiche	104
Tabella 26 Test del χ^2 per valutare le differenze tra i casi in cui il farmaco è il singolo sospettato e quelli in cui è co-sospettato assieme ad altri farmaci nei vari gruppi terapeutici	106

Indice dei box

Box 1 Meccanismo patogenetico della SM	9
Box 2 Siti d'azione di interferone β , glatiramer acetato e mitoxantrone	18
Box 3 Struttura del database e modalità di condivisione dei dati	33
Box 4 Funzioni fisiologiche e patologiche delle integrine	66
Box 5 Struttura del Registro Tysabri	74
Box 6 Descrizione delle fonti di dati utilizzate	98

L'autore

Il Dott. Carlo Piccinni si è laureato con voti 110/110 e lode in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche, Facoltà di Farmacia, presso l'Università degli Studi di Bologna nell'ottobre 2006.

Nel 2007 il Dott. Piccinni si è iscritto al XXII ciclo del Dottorato di Ricerca in Farmacologia e Tossicologia (durata del Dottorato: 3 anni) vincendo la borsa di studio ministeriale.

Il Dott. Piccinni ha svolto l'attività di ricerca prevista nell'ambito del programma di dottorato presso il Dipartimento di Farmacologia dell'Università di Bologna, avendo come docente guida il Dott. Alberto Vaccheri.

Durante gli anni di Dottorato, il Dott. Piccinni ha lavorato con assiduità e interesse sulle problematiche riguardanti lo studio della farmacoutilizzazione e farmacovigilanza con particolare interesse alle malattie neurodegenerative. Queste malattie rappresentano un importante scenario clinico che si sta arricchendo negli ultimi tempi di nuovi presidi terapeutici. Tuttavia, non sono state ancora studiate le modalità di impiego nella pratica clinica dei farmaci ad oggi disponibili e il loro preciso profilo rischio-beneficio. La ricerca del Dott. Piccinni è stata indirizzata allo studio delle modalità di impiego nella reale pratica clinica dei farmaci per la sclerosi multipla, con particolare interesse alla raccolta di informazioni di carattere clinico riguardanti i pazienti in trattamento. Inoltre, la ricerca ha avuto l'obiettivo di studiare l'inserimento nel ventaglio terapeutico disponibile per la sclerosi multipla dell'anticorpo monoclonale natalizumab, cercando di definire al meglio le caratteristiche dei pazienti che potrebbero avere maggior beneficio da questo trattamento e soprattutto il suo profilo di rischio. L'ultima parte della ricerca del Dott. Piccinni è stata indirizzata allo studio della PML (Progressive multifocal leukoencephalopathy), una particolare reazione avversa emersa proprio in seguito al trattamento con natalizumab dei pazienti affetti da sclerosi multipla. Le ricerche svolte dal Dott. Piccinni rientrano nel campo degli studi osservazionali e nello specifico degli studi di farmacoutilizzazione e farmacovigilanza, il cui obiettivo principale è quello di superare i limiti intrinseci degli studi clinici legati soprattutto all'elevata selezione dei pazienti e alla limitata durata dell'osservazione.

In quest'ambito, il Dott. Piccinni ha sviluppato un approccio sperimentale che utilizza banche dati create ad hoc o grandi database già esistenti. Il Dott. Piccinni durante il percorso del dottorato ha appreso le capacità di creazione, gestione e analisi di tali banche dati, imparando a conoscerne vantaggi e limiti e acquisendo capacità critiche nel loro sviluppo e nella loro interrogazione al fine di raccogliere e ottenere informazioni di carattere clinico e terapeutico. Nello specifico, il Dott. Piccinni ha maturato un'esperienza nell'analisi di database amministrativi presenti a livello della Regione Emilia-Romagna (AFO - Assistenza Farmaceutica Ospedaliera e AFT - Assistenza Farmaceutica Territoriale), di registri nazionali per la prescrizione di farmaci predisposti dall'Agenzia Italiana del Farmaco - AIFA (Registro Tysabri) e di banche dati di segnalazioni spontanee di reazioni avverse ai farmaci (FDA-AERS - e WHO-VigiBase).

I risultati raggiunti con notevole impegno dal Dott. Piccinni forniscono importanti informazioni sulle scelte operate dai neurologi per il trattamento della sclerosi multipla e sul profilo rischio-beneficio del natalizumab.

Il Dott. Piccinni durante il periodo di Dottorato ha partecipato attivamente alle attività del Gruppo di Ricerca di Farmacoepidemiologia, collaborando a Progetti di Ricerca a livello Nazionale riguardanti diversi aspetti della farmacoutilizzazione. In particolare ha collaborato a progetti di ricerca indipendente

sponsorizzati dall'AIFA in materia di farmaci antipsicotici e di farmaci per l'osteoporosi. Il Dott. Piccinni ha collaborato anche alla conduzione di ricerche su database amministrativi della Regione Emilia-Romagna, con particolare interesse alla valutazione dell'aderenza alla terapia con farmaci cardiovascolari.

Durante il corso del Dottorato, il Dott. Piccinni ha inoltre prestato servizio presso il Centro Regionale di Informazione e Valutazione sui Farmaci (CRVIF), acquisendo competenze nel ricercare e fornire informazioni sui farmaci a medici, farmacisti e pazienti, produrre valutazioni sui farmaci in base alle evidenze disponibili in letteratura, allestire la documentazione richiesta dai Comitati Etici per la conduzione degli studi osservazionali sui farmaci in accordo alle linee guida AIFA e realizzare analisi dell'utilizzo dei farmaci per conto del Servizio Politica del Farmaco della Regione Emilia-Romagna.

Nel 2008, il Dott. Piccinni ha usufruito di un contratto per l'assegnazione di un incarico di lavoro autonomo occasionale inerente la revisione degli stampati dei farmaci da mutuo riconoscimento, nell'ambito della convenzione tra il Dipartimento di Farmacologia e l'AIFA. Inoltre, il Dott. Piccinni ha collaborato a progetti nell'ambito della stessa convenzione con l'AIFA riguardanti l'aggiornamento dei foglietti illustrativi dei medicinali secondo quanto previsto dalle norme europee di buona leggibilità del Foglietto illustrativo e la realizzazione degli stampati per prodotti ex-galenici.

Il Dott. Piccinni ha presentato i risultati delle proprie ricerche a numerosi Congressi Nazionali e Internazionali e agli appuntamenti annuali dei Seminari Nazionali per Dottorandi in Farmacologia e Scienze Affini (Certosa di Pontignano, Siena).

Dal 2008 il Dott. Piccinni è Student Member dell'International Society for Pharmacoepidemiology (ISPE). I risultati della sua attività scientifica sono stati pubblicati su riviste internazionali a fattore di impatto.

Pubblicazioni

I risultati descritti nella presente tesi sono stati oggetto delle seguenti pubblicazioni:

In extenso:

1. Mancardi GL, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, Provinciali L, Rossi P, Savettieri G, Tedeschi G, Tola MR, Vanacore N, Covezzoli A, De Rosa M, Piccinni C, Montanaro N, Periotto L, Addis A, Martini N, **Natalizumab: a country-based surveillance program**, *Neurol Sci.* 2008 Sep;29 Suppl 2:S235-7.
2. Piccinni C, Sacripanti C, Poluzzi E, Motola D, Magro L, Moretti U, Conforti A, Montanaro N., **Stronger association of drug-induced progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) with biological immunomodulating agents**, *Eur J Clin Pharmacol.* 2009 Oct 17.
3. Tedeschi G, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, Rossi P, Savettieri G, Tola MR, Vanacore N, Covezzoli A, De Rosa M, Comi G, Pozzilli C, Bertolotto A, Marrosu MG, Grimaldi LM, Piccinni C, Montanaro N, Periotto L, Iommelli R, Addis A, Martini N, Provinciali L, Mancardi GL., **The pharmacovigilance program on natalizumab in Italy: 2 years of experience**, *Neurol Sci.* 2009 Oct;30 Suppl 2:S163-5.

Comunicazioni a congressi:

1. Poluzzi E, Piccinni C, Raschi E, Mazzolani M, D'Alessandro R, Tola MR, Galeotti M, Neri W, Malagù S, Motti L, Montanaro N, **Progetto di monitoraggio della prescrizione di farmaci *disease-modifying* nella sclerosi multipla in Emilia-Romagna, La valutazione dell'uso e della sicurezza dei farmaci: esperienze in Italia (2006). Riassunti. Congressi ISTISAN 06/C10.**
2. Piccinni C, **A project for monitoring disease modifying drug prescriptions for multiple sclerosis in Emilia Romagna, XI Seminario Nazionale per Dottorandi in Farmacologia e scienze affini, Siena - Certosa di Pontignano 24-27 settembre 2007.**

3. Mancardi GL, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, Provinciali L, Rossi P, Savettieri G, Tedeschi G, Tola MR, Vanacore N; Covezzoli A, De Rosa M; Piccinni C, Montanaro N; Periotto L, Addis A, Martini N, **Natalizumab: aggiornamento dei dati di farmacovigilanza**, *Congresso annuale Società Neurologia Ospedaliera, Milano 21-24 maggio 2008*.
4. Piccinni C, Periotto L, Addis A, Amato MP, Mancardi GL, Poluzzi E, Montanaro N and Neurological Panel, **"The Italian Natalizumab Registry: a 1-year follow-up"**, *24th International Conference on Pharmacoepidemiology & Therapeutic Risk Management Copenhagen, Denmark August 17-20, 2008*.
5. Poluzzi E, Piccinni C, Sacripanti C, Tola MR, D'Alessandro R, Montanaro N and ER-SM study group, **Monitoring the use of disease-modifying drugs in multiple sclerosis**, *24th International Conference on Pharmacoepidemiology & Therapeutic Risk Management Copenhagen, Denmark August 17-20, 2008*.
6. Piccinni C, **Use of disease-modifying drugs for multiple sclerosis in neurological centres of Emilia Romagna**, *XII Seminario Nazionale per Dottorandi in Farmacologia e scienze affini, Siena - Certosa di Pontignano 22-25 settembre 2008*
7. Piccinni C, Poluzzi E, Sacripanti C, Montanaro N, D'Alessandro R and ER-SM study group. **Monitoring disease-modifying drugs in multiple sclerosis in Emilia Romagna**, XXXIX Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli 18-22 ottobre 2008
8. Mancardi GL, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, Provinciali L, Rossi P, Savettieri G, Tedeschi G, Tola MR, Vanacore N, Covezzoli A, De Rosa M, Piccinni C, Montanaro N, Periotto L, Addis A, Martini N, **The Italian Surveillance Program on Natalizumab**, XXXIX Congresso Società Italiana di Neurologia, Napoli 18-22 ottobre 2008
9. Piccinni C, Sacripanti C, Poluzzi E, Motola D, Magro L, Moretti U, Montanaro N, **Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva: complicanza dell'immunosoppressione o reazione avversa da farmaci?**, *La valutazione dell'uso e della sicurezza dei farmaci: esperienze in Italia (2008). Riassunti. Congressi ISTISAN 08/C3*
10. Piccinni C, **Drug-induced Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: data mining of international spontaneous ADR report databases**, *XIII Seminario Nazionale per Dottorandi in Farmacologia e scienze affini, Siena - Certosa di Pontignano 27-30 giugno 2009*
11. Piccinni C, Sacripanti C, Poluzzi E, Motola D, Magro L, Moretti U, Montanaro N, **Progressive Multifocal Leukoencephalopathy (PML): only immunosuppressive complication or also drug adverse reaction?**, *9th Congress of the EACPT (European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics), Edinburgh July 12-15, 2009*
12. Piccinni C, Sacripanti C, Poluzzi E, Motola D, Magro L, Moretti U, Conforti A, Montanaro N, **Progressive Multifocal Leukoencephalopathy: an effect of immunodeficiency or an adverse drug reaction?** *34° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia Rimini, Palacongressi 14-17 Ottobre 2009*

Tesi di laurea:

1. Piccinni C, Sorveglianza farmaco-tossicologica dei trattamenti immunomodulanti nei pazienti affetti da sclerosi multipla, Tesi Sperimentale in Tossicologia, C.d.L in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche, Facoltà di Farmacia, Sessione II Anno Accademico 2005-2006,
2. Raschi E, Studio farmacoepidemiologico dei trattamenti immunomodulanti nella sclerosi multipla, Tesi Sperimentale in Farmacologia, C.d.L in Medicina e Chirurgia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Sessione II Anno Accademico 2005-2006
3. Sacripanti C, Monitoraggio di modalità d'impiego, efficacia clinica e rischi delle terapie immunomodulanti nella sclerosi multipla, Tesi Sperimentale in Tossicologia, C.d.L in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche, Facoltà di Farmacia, Sessione II Anno Accademico 2006-2007

Report periodici per il Gruppo Regionale SM e per il Servizio Politica del Farmaco della Regione Emilia-Romagna, disponibili sul sito del CREVIF (www.crevif.it).

Depositata online il 10 marzo 2010

nella Collezione AMS Tesi di Dottorato (<http://amsdottorato.cib.unibo.it/>)

dell'Alma Mater Studiorum - Università di Bologna