



FEDERCHIMICA  
ASSOBIOTEC

Associazione nazionale per lo sviluppo  
delle biotecnologie

# IL VALORE DELL'INNOVAZIONE FARMACEUTICA

volume 1

*Aree terapeutiche ad alta innovatività  
e nuovi disegni degli studi clinici*

Stefano Vella



# IL VALORE DELL'INNOVAZIONE FARMACEUTICA

volume 1

*Aree terapeutiche ad alta innovatività  
e nuovi disegni degli studi clinici*

MARZO 2023

**Stefano Vella**

*Docente di Metodologia della Ricerca Clinica, Università di Tor Vergata*

*Docente di Salute Globale, Università Cattolica, Roma*

*Docente di Health Policies in Europe, LUISS, ROMA*

*L'autore ringrazia il Dr Leonardo Villani, Dipartimento Scienze della Vita e Sanità Pubblica, Università Cattolica (UCSC), Roma, per il contributo alla stesura di questo volume.*

*Un sentito ringraziamento va a Riccardo Palmisano e Fabrizio Greco, rispettivamente Past President e attuale Presidente di Federchimica Assobiotech, per la possibilità di sistematizzare in tre volumi anni di ricerche sull'innovazione biofarmaceutica, arrivando fino agli ultimi ritrovati e scoperte.*

*Fondamentale la spinta propulsiva data al progetto da Alfonso Gentile, Coordinatore del Gruppo di lavoro Sperimentazione clinica interno all'associazione al momento della nascita dell'iniziativa e promotore scientifico di un'operazione scientifica e insieme culturale.*

*Ringrazia, inoltre, Maria Grazia Proscia per il coordinamento del progetto; Marcello Turconi per la revisione e la traduzione dei testi; Elisa Barlocco per l'impaginazione grafica, Daniele Leonardi per il coordinamento lavori e creative-farm per la direzione creativa.*

*Federchimica Assobiotech ringrazia per il supporto non condizionato alla realizzazione di questa opera in tre volumi:*



## INDICE

<b>1.1 Aree terapeutiche ad alta innovatività</b> .....	<b>6</b>
<b>A. Malattie oncologiche</b> .....	<b>7</b>
A.1. Le terapie oncologiche a bersaglio molecolare (target therapy) .....	8
A.2. Terapie oncologiche target con molecole chimiche (Small Molecule Inhibitors) .....	12
A.3. Terapie oncologiche target basate su anticorpi monoclonali (mAbs).....	21
A.4. Antibody Directed Chemotherapy (ADC) .....	22
A.5. Immunoterapia dei tumori .....	24
A.6. Leucemie, Linfomi, Mielomi .....	29
A.7. Il concetto di farmaco agnostico .....	32
A.8. Companion diagnostics .....	33
<b>B. Terapie Avanzate (ATMP)</b> .....	<b>36</b>
B.1. Terapia genica .....	38
B.2. Terapia cellulare (CAR-T) .....	42
<b>C. Anticorpi monoclonali: storia, meccanismo d'azione e indicazioni terapeutiche non oncologiche</b> .....	<b>46</b>
<b>D. Malattie Neurologiche</b> .....	<b>52</b>
<b>E. Vaccini</b> .....	<b>58</b>
<b>F. Altre aree ad alta innovatività</b> .....	<b>65</b>
<b>1.2 Disegni innovativi e nuovi end-point degli studi clinici</b> .....	<b>80</b>

---

---

## EXECUTIVE SUMMARY

Questa opera in tre volumi, ideata come un "manuale di navigazione" in un'area estremamente complessa quale l'innovazione farmaceutica, ha l'ambizione di essere utile sia per gli addetti ai lavori sia per i meno esperti.

Nei diversi volumi sarà possibile trovare, per ogni argomento, gli opportuni riferimenti scientifici, normativi e tecnici, commentati e spesso riportati nella loro interezza, con le fonti bibliografiche e i link ai siti ufficiali.

Per il lettore, si tratterà di un viaggio che, partendo dalla descrizione delle aree terapeutiche ad alta innovatività (ma toccando anche i nuovi disegni degli studi clinici) affronterà aspetti normativi e regolatori, anche a livello europeo, per giungere infine ai nuovi modelli di valutazione dell'innovazione, per il Paziente e per la Società, e alla tematica cruciale rappresentata dall'accesso ai medicinali.

Perché tra le tante innovazioni che scienza e biotecnologia hanno portato all'essere umano negli ultimi venti anni, l'innovazione farmaceutica (soprattutto quella che soddisfa bisogni di salute altrimenti non soddisfatti) è certamente una tra le più straordinarie.

Il primo volume tratta quindi di quelle innovazioni che hanno cambiato o stanno modificando la storia naturale di diverse malattie (basti pensare ai farmaci antiretrovirali o a quelli per l'epatite C).

Ma giungendo ad epoche più recenti, sono state trattate estesamente le molecole (chimiche e biologiche, come gli anticorpi monoclonali, inclusi quelli che trasportano farmaci direttamente sul tumore - *antibody directed chemotherapy - ADC*) che stanno rivoluzionando la terapia dei tumori - la target therapy e l'immunoterapia - senza dimenticare i "companion diagnostics" che devono accompagnare la medicina di precisione basata su marcatori genetici. E poi, gli straordinari successi nella lotta a leucemie e linfomi, ad alcune malattie neurologiche, fino ai farmaci basati sull'RNA (con riferimento non solo ai vaccini contro il COVID19, ma in generale ai farmaci che modificano la traduzione degli RNA messaggeri e, quindi, la produzione di proteine). Ancora, le terapie avanzate, cellulari e genetiche: una rivoluzione terapeutica impensabile fino a qualche anno fa, che interessa moltissimi pazienti, tra cui ovviamente quelli affetti da malattie rare. E, ovviamente, i vaccini, forse una delle armi più potenti che abbiamo a disposizione (e non solo per le malattie infettive, visto il ruolo crescente anche in oncologia).

Tutto ciò, necessariamente, ha portato all'analisi di un'altra rivoluzione, quella che riguarda i nuovi disegni degli studi clinici, con l'introduzione dei Master Protocols, con i basket trials e gli umbrella trial, che permettono di velocizzare la valutazione clinica delle terapie innovative.

Purtroppo, per ragioni di spazio, non è stato possibile elencare tutte le innovazioni, né è stato possibile accennare a tutto quello che sta per arrivare, soprattutto nella frontiera rappresentata dalle terapie che riguardano il sistema nervoso centrale, la "manipolazione positiva" dell'aging, la rivoluzione della bio-ingegneria, l'interfaccia tra esseri umani e dispositivi biomedici, e l'uso dell'Intelligenza Artificiale che probabilmente sarà in grado di modificare positivamente molti scenari terapeutici e diagnostici in un futuro non lontano.

Prima di affrontare gli aspetti relativi alla valutazione dei farmaci innovativi, ci si è soffermati, nel secondo volume, sulle azioni della Commissione Europea e dell'Agenzia

---

---

Europea per i Medicinali (EMA) in tema di innovazione farmaceutica. Quindi, il lettore potrà leggere della nuova Strategia Farmaceutica Europea, delle azioni di contrasto alla resistenza antimicrobica (AMR), del Regolamento Europeo sulle sperimentazioni cliniche attualmente in vigore, del Piano Europeo contro il Cancro, dei progetti di ricerca di Horizon Europe, inclusa la Cancer Mission, fino a iniziative pubblico-privato come l'innovative Medicine Initiative e la futura Innovative Health Initiative.

Come accennato all'inizio, questa trilogia si conclude con gli aspetti che riguardano la determinazione del valore, anche economico, dell'innovazione farmaceutica, senza dimenticare il valore di prodotti e servizi non solo per il Paziente ma anche per la Società.

Il terzo volume affronta infatti questo delicato (e spesso controverso) aspetto coprendo punti di vista diversi, non sempre allineati, ma che l'Autore ritenga possano dare un'idea della complessità di questo argomento. In queste pagine il lettore troverà, inoltre, le azioni dell'EMA per l'innovazione: dallo schema PRIME, alle strategie per le Malattie Rare e i Farmaci Orfani.

Ovviamente, la parte più complessa del terzo volume è quella che cerca di guidare il lettore attraverso i meccanismi di valutazione dei medicinali, soffermandosi fondamentalmente sull'Health Technology Assessment (HTA). Compresa un'importante trattazione del nuovo Regolamento Europeo HTA che, come già accaduto per il regolamento sulle sperimentazioni cliniche, tende ad armonizzare le procedure europee per tutti gli Stati membri.

Farmaci e terapie straordinarie hanno cambiato la storia naturale di tante malattie, e in molti casi sono in grado di abbattere i costi sanitari a valle, prevenendo le complicazioni evitabili o ritardandone la progressione, con impatti importanti su occupazione e produttività. Tuttavia, malgrado questi innegabili progressi, visti i prezzi sempre più alti delle nuove terapie, i responsabili politici e le Autorità Regolatorie dei Paesi con sistemi sanitari pubblici che rimborsano i medicinali, sono sempre più preoccupati dalla sostenibilità del sistema. D'altra parte, se è vero che il processo di R&S è costoso e complesso, il grande dilemma è come garantire, insieme, lo sviluppo di importanti innovazioni farmaceutiche e un accesso sostenibile ed equo. In altre parole, come far sì che i nuovi medicinali arrivino a tutti coloro che ne hanno bisogno, ad un costo ragionevole, pur mantenendo gli incentivi all'innovazione?

È quello che viene trattato nel terzo volume, in cui si sono voluti presentare diversi meccanismi di accesso ai medicinali (a partire dai Managed Entry Agreements, passando dal value-based pricing, per finire alle Partnerships Pubblico-Privato) affiancati a commenti di stakeholder diversi, pubblici e privati, comprese le Associazioni di pazienti.

Per finire, l'Autore ha pensato di terminare questa trilogia con un accenno al problema globale dell'accesso all'innovazione per i Paesi più poveri: è un aspetto che lo tocca da vicino, avendo lavorato per tanti anni sulla pandemia HIV/AIDS, che rappresenta un modello virtuoso di accesso, anche attraverso esempi di voluntary licensing (che pur garantendo il diritto di proprietà intellettuale per i Paesi più ricchi, la rimodula per i Paesi poveri). L'autore ritiene che questi meccanismi potrebbero essere applicati a innumerevoli altri farmaci essenziali, anche per le malattie croniche, in una ottica di Salute Globale.



Marzo 2023

# **1.1. Aree terapeutiche ad alta innovatività**

## A. Malattie oncologiche

La gestione e il trattamento delle malattie oncologiche rappresenta una delle più grandi sfide della medicina moderna e della Sanità Pubblica. Negli ultimi anni si è assistito a un aumento del numero di persone affette da patologie oncologiche, che attualmente rappresentano una delle principali cause di morte a livello globale, tanto nei Paesi ad alto reddito quanto in quelli a basso reddito. Le malattie oncologiche sono tra le prime 10 cause di decesso, responsabili della morte di oltre 10 milioni di persone ogni anno (in particolare i tumori alla trachea, ai bronchi e ai polmoni, che insieme costituiscono circa il 20% dei decessi; quelli del colon-retto, circa il 10%; del fegato, 8,3%; dello stomaco, 7,7%; del seno, 6,9%). Inoltre, le malattie oncologiche impattano in modo drammatico sulla qualità di vita, con un elevato numero di anni vissuti con disabilità e di anni di vita persi prematuramente, con effetti che sono secondi solo a quelli dovuti alle malattie cardiovascolari.

Si stima che, a livello globale, nel 2020 più di 19 milioni di persone saranno affette da nuove patologie oncologiche, con un incremento previsto fino a 29 milioni di nuovi casi nel 2040. Questo aumento è spiegato da diversi fattori, legati alla maggiore aspettativa di vita (invecchiamento della popolazione), alla modifica degli stili di vita verso comportamenti non sani (fumo, scorretta alimentazione, sedentarietà). Ma c'è anche da considerare, questa volta in senso positivo, il grande progresso terapeutico (in ambito chirurgico, farmacologico e radioterapeutico) che consente di effettuare trattamenti specifici e altamente efficaci, aumentando l'aspettativa e la qualità di vita dei pazienti oncologici.

Anche a livello europeo le malattie oncologiche presentano un elevato burden, con stime che vedono un notevole incremento del numero di pazienti oncologici: ogni anno, a 2,6 milioni di persone nell'Unione Europea viene diagnosticato un cancro e si prevede che tale cifra aumenterà di circa il 25% entro il 2035. Sempre in Europa, è particolarmente elevato il numero di decessi, pari a circa il 20% del totale a livello globale (circa 2 milioni nel 2020). Per questo motivo, una delle quattro missioni prioritarie approvate dalla Commissione Europea nell'ambito del programma di innovazione e ricerca Horizon Europe per il periodo 2021-2027 è proprio la lotta al cancro (il cosiddetto EU beating cancer plan): gli obiettivi da raggiungere prevedono la riduzione del numero di nuovi casi di malattia attraverso programmi di educazione sanitaria, la prevenzione e la diagnosi precoce (implementazione dei sistemi di screening), il miglioramento dell'offerta terapeutica e della qualità di vita dei pazienti e delle famiglie.

Il quadro italiano ricalca quello europeo: si stima, infatti, che nel 2020 siano state effettuate circa 377.000 nuove diagnosi di tumore, con valori in costante aumento rispetto agli anni precedenti. Inoltre, tali malattie sono responsabili del decesso di circa 180.000 persone ogni anno, seppur tale dato è in diminuzione grazie ai progressi diagnostici e terapeutici disponibili nel nostro Paese.

Da quanto brevemente esposto risulta evidente l'elevato peso delle malattie oncologiche a livello globale, europeo e italiano. Tuttavia, l'impegno delle istituzioni nella lotta a tali patologie e la possibilità di usare nuovi approcci terapeutici derivanti dal progresso tecnologico (specialmente in ambito farmaceutico) rappresenta un valore fondamentale per curare i pazienti e migliorarne la qualità di vita.

Infine, è importante segnalare l'effetto negativo della pandemia di COVID-19: oltre ad avere avuto un impatto sanitario devastante in termini di mortalità diretta, la pandemia ha infatti avuto anche effetti indiretti particolarmente gravi (sanitari indiretti, sociali ed economici). In ambito oncologico la pandemia è stata responsabile di una riduzione dell'accesso agli screening e alle visite di controllo, e la

posticipazione di interventi chirurgici e di cicli di chemio-radioterapia, elemento che ha determinato un aumento della mortalità dei pazienti oncologici e un incremento, previsto e osservabile nei prossimi anni, della loro incidenza.

Come già accennato, nel corso degli anni si è assistito ad un progresso straordinario nella lotta al cancro, che ha portato ad un aumento dell'aspettativa e della qualità di vita dei pazienti oncologici. In particolare, oltre alle terapie chirurgiche e alla radioterapia, sono stati sviluppati nuovi farmaci altamente efficaci che hanno superato, almeno in parte, il concetto della "vecchia" chemioterapia basata su farmaci citotossici, che sovente colpivano senza distinzione cellule sane e cellule tumorali. Si tratta della generazione dei farmaci a bersaglio molecolare, che neutralizzano specificamente le cellule tumorali e che inducono effetti sul processo di replicazione o che stimolano in modo selettivo il sistema immunitario (immunoterapia dei tumori, si veda oltre). A queste terapie, per alcune patologie oncologiche, soprattutto onco-ematologiche, si affiancano le CAR-T, che fanno parte della famiglia delle terapie avanzate (Advanced Therapy Medicinal Product, ATMP), di cui parleremo nei capitoli successivi.

### A.1. Le Terapie Oncologiche a bersaglio molecolare: la target therapy

Le terapie a bersaglio molecolare (target therapies) sono state sviluppate negli ultimi 20 anni e rappresentano il fondamento della moderna oncologia di precisione. Si tratta di un tipo di trattamento che ha come bersaglio specifiche caratteristiche molecolari delle cellule tumorali, ad esempio le proteine che controllano la crescita, il differenziamento e la divisione cellulare.

La target therapy è specifica per un "bersaglio molecolare" (un recettore di membrana o un enzima intracellulare) che viene espresso dalle cellule tumorali, spesso indipendentemente dall'istologia e dalla sede del tumore stesso. In questo modo, l'azione è altamente selettiva e rivolta esclusivamente contro le cellule tumorali, evitando che le cellule sane dell'organismo vengano coinvolte. Questi farmaci, agendo sulle proteine espresse dalle cellule tumorali, sono in grado di bloccare e spegnere i segnali che determinano la crescita cellulare oppure di indurre nelle cellule tumorali meccanismi di morte programmata. In particolare, in base al meccanismo d'azione, è possibile distinguere farmaci inibitori dell'angiogenesi, inibitori della crescita e della duplicazione cellulare, inibitori del segnale di trasmissione, induttori dell'apoptosi e modulatori dell'espressione genica.

Poiché tali terapie sono indirizzate contro bersagli molecolari, possono essere efficaci contro differenti tipi di tumore che originano e si localizzano in tessuti diversi (da qui la definizione, in alcuni casi, di terapie "agnostiche" - si veda oltre). La grande innovazione apportata da questi farmaci, che li distingue dalle terapie classiche, risiede quindi nella possibilità di mirare a un bersaglio molecolare preciso che può essere espresso da differenti cellule tumorali, senza danneggiare troppo le cellule sane dell'organismo e dunque riducendo notevolmente gli effetti collaterali legati alle terapie oncologiche.

Purtroppo, non sempre e non tutti i tumori esprimono bersagli molecolari aggredibili dai nuovi farmaci, e in questo caso l'oncologo dovrà ricorrere ad altri metodi e a farmaci meno specifici.



Figura A.1.1: schema generale che descrive la target therapy, ossia le terapie mirate, differenziate secondo i diversi marker tumorali: a ciascun paziente con un marker tumorale specifico, la sua terapia.

In base al tipo di molecola su cui vanno ad agire, si distinguono differenti tipi di farmaci a bersaglio molecolare. L'azione di questi farmaci può:

- bloccare o spegnere i segnali chimici che favoriscono la crescita e la divisione delle cellule tumorali
- modificare le proteine all'interno delle cellule tumorali in modo che queste muoiano (apoptosi)
- bloccare la creazione di nuovi vasi sanguigni per alimentare le cellule tumorali
- attivare il sistema immunitario per uccidere le cellule tumorali
- trasportare altre molecole ad azione terapeutica verso le cellule tumorali per ucciderle.

Dunque, molti tipi di neoplasie possono essere trattate con terapie mirate che, in base al meccanismo di azione, possono essere classificate in diversi tipi:

- **Inibitori della trasduzione del segnale:** interrompono i segnali cellulari in modo da modificare le azioni della cellula cancerosa, come ad esempio l'imatinib (indicazione terapeutica per alcune leucemie croniche).
- **Inibitori dell'angiogenesi:** bloccano la formazione di nuovi vasi sanguigni che alimentano e nutrono le cellule tumorali, come ad esempio il bevacizumab (usato per trattare molti tipi di cancro).
- **Anticorpi monoclonali:** possono veicolare molecole e/o farmaci all'interno della cellula tumorale per ucciderla. Sono esempi l'alemtuzumab (usata contro alcune leucemie croniche), il trastuzumab (alcuni tumori del seno) e il cetuximab (alcuni tumori del colon-retto, del polmone, della testa e del collo). Alcuni farmaci monoclonali sono definiti terapie mirate perché hanno un bersaglio specifico su una cellula tumorale che devono trovare, agganciare e attaccare. Altri anticorpi monoclonali, invece, agiscono come un'immunoterapia perché fanno in modo che il sistema immunitario risponda meglio e permetta all'organismo di trovare e attaccare le cellule tumorali in modo più efficace.
- **Inibitori del proteasoma:** interrompono le normali funzioni cellulari in modo che le cellule tumorali muoiano, come ad esempio il bortezomib (mieloma multiplo).

Poiché nei capitoli seguenti verranno citati diversi termini importanti, si ritiene utile proporre un breve glossario e una lista delle abbreviazioni che verranno utilizzate:

## GLOSSARIO

### *Medicina personalizzata*

Un approccio all'assistenza sanitaria che ha l'obiettivo primario di identificare quali interventi possono essere più vantaggiosi per determinati pazienti, in base alle caratteristiche dell'individuo e della sua malattia. Il termine include anche l'uso di marcatori prognostici, predittori di tossicità e qualsiasi parametro, come fattori ambientali e legati allo stile di vita, che porti a un adattamento del trattamento per il singolo paziente.

### *Oncologia di precisione*

Insieme di terapie che dovrebbero conferire benefici a un sottogruppo di pazienti il cui tumore presenta specifiche caratteristiche molecolari o cellulari (più comunemente, alterazioni genomiche e modelli di espressione genica e/o proteica). Gli approcci alla caratterizzazione dei tumori comprendono una gamma ampia di tecnologie, come il sequenziamento genico di ultima generazione e l'imaging funzionale.

### *Farmacogenomica*

Una componente della medicina di precisione: lo studio di come la variazione genomica all'interno dell'individuo o della sua malattia (compresa l'espressione genica, l'epigenetica, le mutazioni germinali e somatiche) influenzi la sua risposta ai farmaci. Nella farmacogenomica la variazione genomica è correlata alla farmacodinamica e alla farmacocinetica. L'obiettivo della farmacogenomica è ottimizzare la terapia farmacologica massimizzando l'effetto terapeutico e minimizzando gli effetti avversi.

### *Tumor molecular board*

Si tratta di uno specifico tipo di comitato multidisciplinare, . In comune con un classico comitato multidisciplinare, ha l'obiettivo di fornire raccomandazioni cliniche e terapeutiche. Tuttavia, non si occupa solo dei classici dati radiologici, clinici e biologici standard del paziente, ma anche dei moderni test diagnostici molecolari. La sua composizione deve comprendere oltre agli oncologi, biologi molecolari, genetisti e bioinformatici.

### *Mutazione genomica*

Un'alterazione permanente nella sequenza del DNA che può essere somatica (acquisita durante la vita) o presente nelle cellule germinali (ereditata).

### *Cancer genes*

I geni del cancro, o geni tumorali, sono forme mutate di geni di cellule normali che possono promuovere lo sviluppo e la progressione del cancro. I geni del cancro sono distinti in oncogeni e geni soppressori (oncosoppressori) del tumore. Gli oncogeni promuovono la proliferazione cellulare attraverso un aumento dell'espressione genica o attraverso mutazioni che determinano un aumento dell'attività delle proteine codificate dall'oncogene. Al contrario, gli oncosoppressori agiscono per opporsi ai processi che possono guidare la progressione del cancro, come la proliferazione cellulare. Pertanto, è la ridotta espressione o l'inattivazione del prodotto proteico del gene soppressore dei tumori a contribuire alla carcinogenesi. Per definizione, i geni tumorali sono sottoposti a selezione positiva in un tumore. L'analisi statistica delle sequenze genomiche di oltre 7000 tumori ha identificato circa 200 geni tumorali, ma si prevede che ne rimangano molti altri ancora non identificati.

**Alterazione genomica bersagliabile/farmacologica**

Un'alterazione genomica che codifica una proteina alterata contro la quale esiste o può essere sintetizzato un farmaco (ad esempio, la maggior parte delle chinasi sono proteine bersagliabili).

**Eterogeneità intra-tumorale**

La coesistenza, all'interno di un singolo tumore, di più popolazioni sub-clonali di cellule tumorali che differiscono per caratteristiche genomiche, epigenomiche, trascrizionali, morfologiche o comportamentali. L'eterogeneità intra-tumorale comprende l'eterogeneità temporale, in base alla quale la struttura sub-clonale varia nel tempo (anche durante l'esposizione al trattamento) e l'eterogeneità spaziale, in base alla quale i sub-cloni tumorali possono mostrare una variazione spaziale all'interno di un singolo tumore primario o metastatico.

**Evoluzione clonale**

Il meccanismo con cui un tumore si sviluppa da una cellula, un tempo normale, attraverso un processo reiterato di accumulo di mutazioni, selezione ed espansione clonale. L'accumulo di mutazioni può essere graduale e/o verificarsi in modo improvviso.

**LISTA DELLE ABBREVIAZIONI**

(molte derivano dalla corrispettiva nomenclatura in inglese)

**CLL/LLC** = leucemia linfocitica cronica

**EGFR** = fattore di crescita epidermico

**EMA** = European Medicines Agency – Agenzia Europea per i Medicinali

**FDA** = Food and Drug Administration (Stati Uniti)

**LMA** = leucemia mieloide acuta

**mAbs** = anticorpi monoclonali

**MCL** = linfoma a cellule del mantello

**MM** = mieloma multiplo

**MZL** = linfoma della zona marginale

**NHL** = linfoma non-Hodgkin

**NSCLC** = tumore del polmone non a piccole cellule

**SLL** = linfoma a piccoli linfociti

**SMinhs/SMI** = Small molecule inhibitors

**WM** = macroglobulinemia di Waldenstrom (linfoma follicolare)

**ADCC** = citotossicità cellulare anticorpo-dipendente

**CDC** = citotossicità complemento-dipendente

**ADCP** = fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente

**ADC** = immunoconiugati o coniugati anticorpo-farmaco

**AML** = leucemia mieloide acuta

**LLA** = leucemia linfocitica acuta

**OMS** = Organizzazione Mondiale della Sanità

**AIFA** = Agenzia Italiana del Farmaco

Nei capitoli seguenti, ci soffermeremo soprattutto sulle piccole molecole in grado di entrare all'interno delle cellule (Small Molecule inhibitors – SMI), e sugli anticorpi monoclonali oncologici (monoclonal Antibodies – mAbs). Le prime esplicano il loro effetto terapeutico, interferendo con l'attività enzimatica di una proteina, spesso una chinasi, mentre i secondi, essendo relativamente grandi, non possono entrare nelle cellule e sono quindi usati solo per bersagli che si trovano sulla superficie esterna della cellula. I mAbs agiscono dunque su recettori e ligandi dei recettori espressi in modo anomalo (o prevalente) dalle cellule tumorali, come ad esempio il recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano (HER-2).

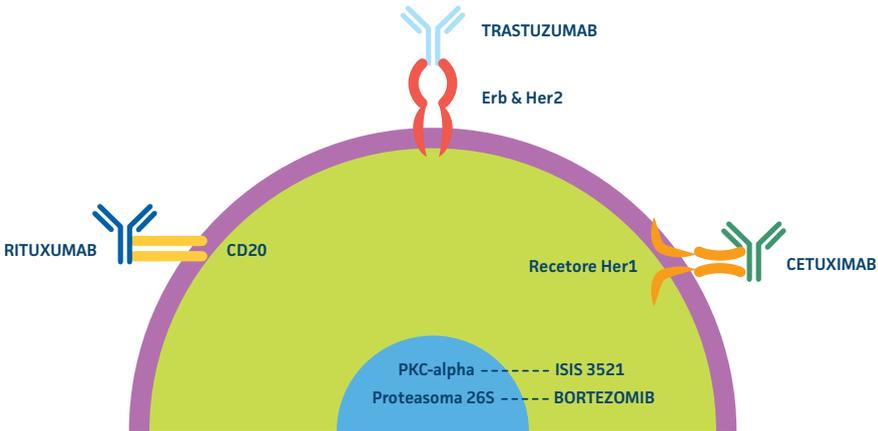
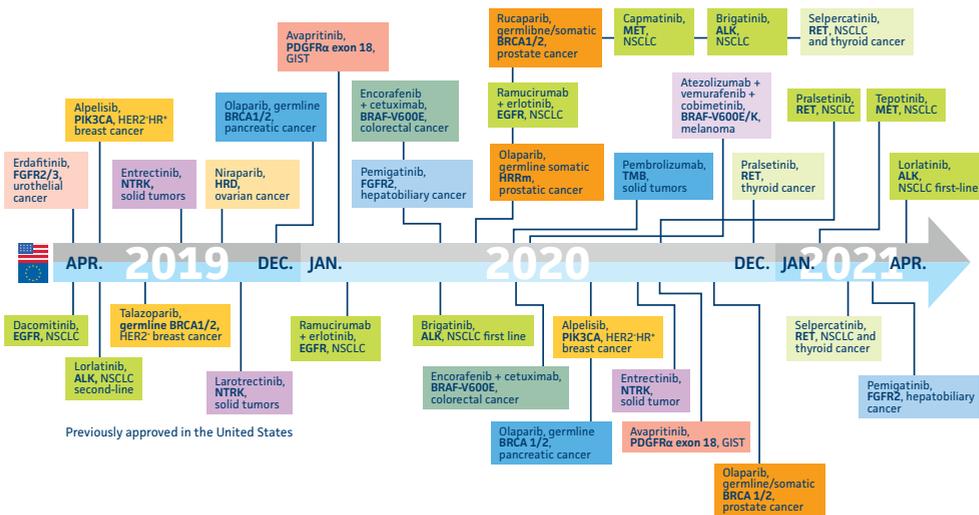


Figura A.1.2: gli SMI, come ISIS 3521 e il bortezomib , svolgono la loro funzione all'interno della cellula, agendo su specifiche proteine. I più grandi mAbs, come il trastuzumab, il cetuximab e il rituxumab, si legano invece a recettori e ligandi dei recettori di membrana.

## A.2. Terapie oncologiche target con molecole chimiche (Small molecule inhibitors – SMI)

Dal primo inibitore di una tirosin-chinasi (imatinib) approvato dalla FDA nel 2001, un numero crescente di SMinh è stato sviluppato per il trattamento dei tumori maligni, tanto che, al dicembre 2020, sono stati approvati dalla FDA 89 farmaci antitumorali mirati basati su piccole molecole chimiche, e numerosi sono in fase di sperimentazione.



In particolare, 40 di questi farmaci sono stati approvati tra il 2017 e il 2020, a dimostrazione di un aumentato impegno nell'identificazione di bersagli molecolari specifici e di una virata significativa dell'attività di ricerca scientifica verso questo campo di ricerca negli ultimi anni. Esistono diverse piccole molecole che hanno specifici bersagli: in particolare, si possono distinguere inibitori dei recettori delle tirosin-chinasi (ALK, c-Met, EGFR, FLT3, VEGFR/FGFR/PDGFR, TRK), inibitori delle vie di segnalazione attivate dai recettori delle tirosin-chinasi (Bcr-Abl1, BTK, JAK), inibitori dei recettori delle serino-chinasi (BRAF/MEK/ERK, CDK, PI3K/AKT/mTOR), inibitori epigenetici, inibitori di BCL-2, inibitori della via di segnalazione Hedgehog, inibitori del proteasoma e inibitori delle Poli-ADP-ribosio-polimerasi (PARP).

Le chinasi sono un gruppo di oltre 500 proteine coinvolte nei meccanismi di crescita, proliferazione e differenziazione delle cellule. In base al substrato (tirosina, serina) è possibile identificare differenti chinasi, la cui sovraespressione o anormale attivazione è alla base dello sviluppo di numerosi tumori solidi, come il tumore del polmone non a piccole cellule (NSCLC), l'adenocarcinoma polmonare, il tumore renale, della tiroide, il glioma. Le chinasi regolano la cascata di trasmissione del segnale che parte dal legame recettore-ligando e che si conclude a livello del nucleo cellulare, inducendo attività di crescita e proliferazione. Tra queste, si riportano in modo non esaustivo le chinasi ALK, ROS, e la famiglia delle MAP chinasi, che attivano diversi segnali a valle, tra cui le vie PI3K/AKT, STAT e NF-κB. Sono di seguito riportati i meccanismi di azione di questa classe di farmaci e le principali innovazioni terapeutiche degli ultimi anni o attualmente in corso di sperimentazione.

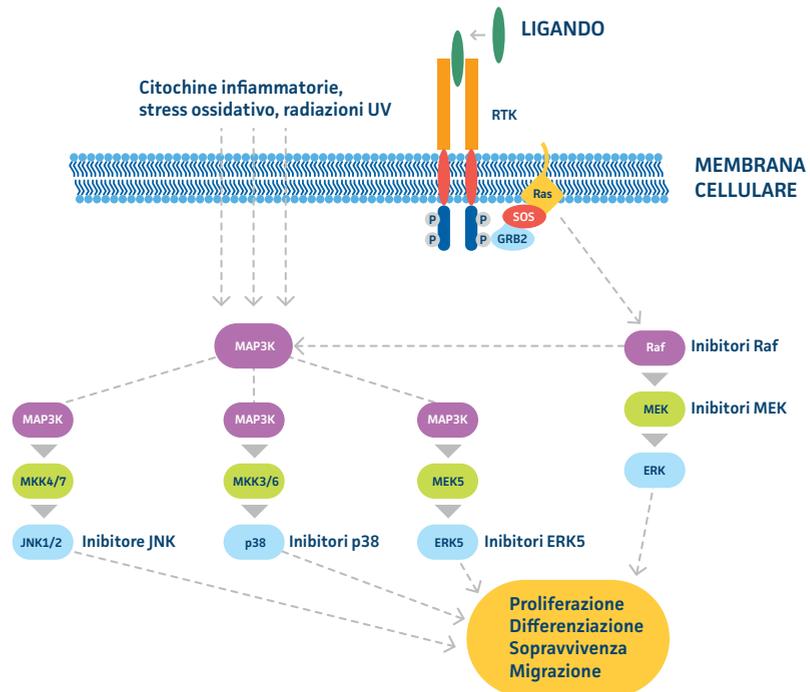


Figura A.2.2: rappresentazione schematica dei componenti del percorso della MAP chinasi, bersaglio di molecole inibitrici. Gli inibitori (piccole molecole e/o peptidi) sono stati sviluppati per raggiungere bersagli molecolari quali Raf, MEK, JNK1/2, p38 e ERK5.

## 1. INIBITORI DEI RECETTORI DELLE TIROSIN-CHINASI

Nel corso degli anni sono stati sperimentati numerosi inibitori dei recettori delle tirosin-chinasi, con bersagli specifici che interferiscono con la proliferazione, differenziazione e crescita delle cellule tumorali. I principali target di questa classe di farmaci sono le chinasi ALK, c-Met, EGFR, FLT3, VEGFR/FGFR/PDGFR RKA, TRKB e TRKC.

### » ALK

Il Crizotinib è un inibitore delle chinasi di prima generazione che ha come bersaglio più tirosin-chinasi tra cui quelle del linfoma anaplastico (ALK), il fattore di transizione cellulare-mesenchimale-epiteliale (c-Met) e la tirosin-proteinchinasi ROS. Tale farmaco (primo della sua classe e approvato nel 2011) è risultato superiore rispetto alla chemioterapia in pazienti affetti da carcinoma metastatico del polmone non a piccole cellule (NSCLC), seppur molti pazienti trattati sviluppavano resistenza entro 12 mesi dall'inizio della terapia. Sono dunque stati sviluppati inibitori multichinasi ALK di seconda generazione (ceritinib, alectinib e brigatinib) per trattare i tumori NSCLC ALK-positivi resistenti a crizotinib, l'ultimo dei quali (brigatinib) è stato approvato nel 2017. Inoltre, recentemente (2018) stati approvati lorlatinib e alectinib, inibitore di ALK di terza generazione che eludono i meccanismi di resistenza delle cellule nei confronti delle precedenti classi di inibitori.

### » c-Met

Un altro bersaglio degli inibitori delle chinasi è il fattore di transizione cellulare-mesenchimale-epiteliale (c-Met). Dopo l'approvazione di crizotinib e cabozantinib (rispettivamente nel 2011 e nel 2012) per il trattamento dei pazienti affetti da tumore avanzato del rene, NSCLC e carcinoma midollare della tiroide, sono stati approvati altri due farmaci nel 2020 (capmatinib e tepotinib). Mentre i primi farmaci erano inibitori multichinasi, capmatinib e tepotinib sono altamente specifici e hanno mostrato un'efficacia significativa nel trattamento di pazienti affetti da cancro con mutazioni c-Met. Infine, si segnala che sono in fase di studio altri inibitori c-Met, come foretinib e glesatinib, per cui sono in corso numerosi trial clinici in diversi stadi (prevalentemente fase II), in monoterapia oppure in associazione con altri farmaci. Tra questi, si segnala il trial NCT02954991 che prevede la sperimentazione di glesatinib in combinazione con nivolumab per il trattamento dei pazienti con NSCLC.

### » EGFR

Numerosi inibitori delle chinasi sono diretti contro il recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR). Quando si lega al suo ligando (EGF e TGF- $\alpha$ ), EGFR dimerizza e si auto-fosforila, attivando così cascate di segnalazione intracellulare a valle, che sono strettamente legate alla proliferazione, alla sopravvivenza e all'apoptosi cellulare.

La prima generazione di questi farmaci è rappresentata da inibitori reversibili utilizzati nel trattamento del NSCLC metastatico. Gefitinib, erlotinib e icotinib hanno dimostrato efficacia sulla sopravvivenza libera da progressione per i pazienti NSCLC, mentre erlotinib si è dimostrato efficace anche nel trattamento dei pazienti affetti da carcinoma pancreatico (in associazione con chemioterapia). La seconda generazione di questi inibitori è stata sviluppata per eludere le mutazioni del recettore delle cellule tumorali, che rendevano inefficaci i farmaci di prima generazione. Afatinib e dacomitinib sono stati approvati rispettivamente nel 2013 e nel 2018, e sono utilizzati esclusivamente nel trattamento dei pazienti NSCLC metastatico, in quanto presentano un elevato rischio di effetti collaterali (dovuto al legame covalente irreversibile con il recettore EGFR).

Osimertinib e almonertinib sono inibitori EGFR di terza generazione (approvati nel 2015 e 2020, rispettivamente) che hanno mostrato un'elevata efficacia nel trattamento dei pazienti NSCLC resistenti ai farmaci di prima e seconda generazione. Entrambi hanno mostrato un aumento della sopravvivenza senza progressione di malattia di oltre 10 mesi maggiore rispetto allo standard of care. Infine, altri inibitori EGFR sono usati nel trattamento del tumore al seno metastatico: lapatinib e neratinib sono inibitori dual-target che inibiscono le attività di EGFR e HER2. Un'azione simile è svolta da tucatinib, approvato nel 2020 per il trattamento delle pazienti con cancro metastatico al seno HER2 positivo.

» **FLT3**

Un altro bersaglio molecolare è il recettore Fms-like tirosin-chinasi 3 (FLT3). Il legame del ligando con questo recettore, ampiamente sovraespresso nei pazienti con leucemia mieloide acuta (LMA), attiva cascate di segnalazione intracellulare come PI3K/AKT/mTOR, RAS/RAF/MAPK e JAK/STAT, che sono strettamente legate alla proliferazione, differenziazione, sopravvivenza e apoptosi delle cellule. Sono stati prodotti numerosi farmaci per inibire FLT3: sorafenib, sunitinib, midostaurin, tandutinib, e lestaurtinib sono inibitori multichinasi (di prima generazione) approvati tra il 2005 e il 2017, che agiscono contro numerose proteine come PDGFR, KIT, VEGFR, RAF, e JAK2. Tali farmaci sono stati affiancati dalla seconda generazione, più potente e specifica e con minore tossicità. Inoltre, gilteritinib (approvato nel 2018) è il primo inibitore FLT3 efficace in monoterapia per la LMA. In particolare, uno studio randomizzato di fase III (studio ADMIRAL, numero di protocollo NCT02421939) ha mostrato che la sopravvivenza globale mediana è significativamente più lunga nel gruppo di monoterapia con gilteritinib (9,3 mesi) rispetto ai pazienti trattati con chemioterapia convenzionale (5,6 mesi). Allo stesso modo, nel 2019 è stato approvato, sempre per pazienti con LMA, il quizartinib.

Inoltre, sono in corso numerosi studi per valutare l'efficacia di altri inibitori FLT3: in particolare inavolisib e crenolanib, originariamente sviluppato come inibitore di PDGFR, che è attualmente in studio in due trial clinici come inibitore di FLT3 come trattamento di prima linea nei pazienti con LMA con FLT3 mutato. Per i pazienti affetti da LMA con mutazione FLT3 sono inoltre in corso studi di fase I/II per valutare l'efficacia e la sicurezza di ponatinib in combinazione con chemioterapia.

» **VEGFR/FGFR/PDGFR**

Gli inibitori dei recettori VEGFR/FGFR/PDGFR sono farmaci che interferiscono con il processo di angiogenesi. In numerosi tumori solidi le cellule producono infatti fattori di crescita dei vasi sanguigni (angiogenesi) per incrementare l'afflusso di ossigeno e sostanze nutritive necessarie alla crescita del tumore stesso. Gli inibitori dell'angiogenesi interferiscono con questi segnali di crescita per impedire la formazione dei vasi. Senza l'apporto di sangue, infatti, i tumori arrestano la loro crescita e tendono a regredire. Esistono numerosi fattori pro-angiogenici, che costituiscono quindi un importante target molecolare per gli inibitori dei recettori delle tirosin-chinasi: tra questi il fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF), il fattore di crescita dei fibroblasti (bFGF), il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF), il fattore di crescita trasformante (TGF), il fattore di crescita insulino-simile, il fattore di crescita epidermico (EGF) e l'angiopoietina.

Attualmente sono stati approvati più di 10 inibitori dell'angiogenesi, utilizzati per il trattamento di numerosi tipi di tumore solido. In particolare, il primo approvato (2005) è il sorafenib, che può inibire una serie di recettori tirosin-chinasi tra cui VEGFR-1/2/3, c-Kit, FLT3, RET, PDGFR $\beta$  e RAF ed è usato in pazienti affetti da carcinoma renale avanzato, carcinoma della tiroide e carcinoma epatico. Insieme al lenvatinib, sono i due farmaci usati come prima linea di terapia nel trattamento

del carcinoma epatico. Altri inibitori anti-angiogenici approvati per il trattamento di prima o seconda linea del carcinoma renale e della tiroide sono sunitinib (2006), pazopanib (2009), axitinib (2012), cabozantinib (2016) e tivozanib (2017). Recentemente (2020) sono stati approvati altri due inibitori altamente specifici per la proteina Ret (selpercatinib e pralsetinib) per il trattamento del NSCLC metastatico. Oltre agli effetti anti-angiogenici, recentemente sono stati approvati anche diversi inibitori selettivi di FGFR o PDGFR. In particolare, si segnalano le recenti immissioni in commercio di pemigatinib (2020), primo farmaco specifico per il trattamento dei pazienti con colangiocarcinoma metastatico, di avapritinib (2020) e ripretinib (2020) per il trattamento dei tumori GIST, di erdafitinib (2019) per il trattamento dei tumori uroteliali, di selpercatinib (2020) e pralsetinib (2020) per il trattamento dei del NSCLC e del carcinoma della tiroide.

» **TRKA, TRKB e TRKC**

Infine, un altro bersaglio delle SMinhs è rappresentato dai recettori della tropomiosina chinasi (TRKA, TRKB e TRKC), la cui espressione aberrante è stata riscontrata in numerosi tumori solidi, come ad esempio il fibrosarcoma infantile, il carcinoma secretorio del seno e il carcinoma secretorio delle ghiandole salivari. Sulla base dell'efficacia di "basket trial" condotti in diversi tumori positivi alla fusione NTRK, due farmaci (larotrectinib e entrectinib, approvati rispettivamente nel 2018 e 2019) hanno ottenuto l'approvazione della FDA per il trattamento di pazienti adulti e pediatrici con tumori solidi con fusione TRK. Si segnala, inoltre, che sono in corso studi in differenti fasi per testare altri inibitori di TRK (cabozantinib, merestinib, belizatinib, sitravatinib e altiratinib).

## **2. INIBITORI DELLE VIE DI SEGNALE ATTIVATE DAI RECETTORI DELLE TIROSIN-CHINASI**

In svariate tipologie di tumore sono state riscontrate mutazioni associate a proteine coinvolte nella cascata enzimatica successiva al legame ligando-recettore. Tra queste, sono di particolare interesse e di sperimentazione per l'identificazione di inibitori efficaci la traslocazione del cromosoma Philadelphia BCR-ABL1, la tirosin-chinasi dell'agammaglobulinemia di Bruton (BTK) e la JAK chinasi.

» **BCR-ABL1**

La traslocazione del cromosoma Philadelphia porta alla giustapposizione di ABL1 e della Breakpoint Cluster Region (BCR) del cromosoma 22, formando un gene aberrante di fusione BCR-ABL1 sul cromosoma 22. Tale traslocazione determina la codifica di un'oncoproteina capace di autofosforilazione che attiva costitutivamente il percorso a valle, favorendo la proliferazione incontrollata delle cellule leucemiche in quasi tutti i casi di leucemia mieloide cronica (LMC) e in circa il 20% dei casi di leucemia linfoblastica acuta. Sono dunque stati sviluppati numerosi farmaci inibitori di BCR-ABL1. Imatinib è stato approvato per la LMC nel 2006 e, in uno studio di follow-up a 5 anni, ha mostrato che la sopravvivenza globale e la sopravvivenza libera da progressione di malattia raggiungono rispettivamente l'89% e il 93%. L'introduzione di imatinib per il trattamento dei pazienti con LMC con traslocazione del cromosoma Philadelphia (scoperta nel 1960!) ha rappresentato un'importante prova dell'efficacia di tale farmaco che, attualmente, rappresenta il gold standard terapeutico nei pazienti per questa patologia. Anche se il trattamento con imatinib ha raggiunto risultati entusiasmanti, la resistenza al farmaco causata da mutazioni puntiformi nel dominio della chinasi di BCR-ABL è emersa frequentemente, portando alla ricerca di nuovi farmaci con lo stesso meccanismo d'azione: dasatinib, nilotinib, bosutinib,

e radotinib, approvati rispettivamente nel 2006, 2007, 2012 e 2012. Inoltre, la ricerca sullo sviluppo di nuovi inibitori di BCR-ABL1 contro le mutazioni resistenti ai farmaci è in corso. Ad oggi, infatti, sono entrati in studi clinici 13 nuovi possibili inibitori. Un altro bersaglio in questa categoria di inibitori è il recettore delle cellule B (BCR): l'attivazione anomala della segnalazione BCR è stata infatti identificata in molteplici tumori maligni ematologici, tra cui il linfoma non-Hodgkin (NHL) a cellule B, la leucemia linfocitica cronica (CLL), il linfoma a piccoli linfociti (SLL), il linfoma a cellule del mantello (MCL), il linfoma della zona marginale (MZL), il linfoma follicolare e la macroglobulinemia di Waldenstrom (WM).

#### » BTK

La tirosin-chinasi dell'agammaglobulinemia di Bruton (BTK) è un componente cruciale del percorso BCR-BTK ed è il bersaglio di numerosi inibitori. In particolare, ibrutinib (le cui approvazioni variano, a seconda della patologia, dal 2013 al 2017) ha dimostrato di essere superiore alla chemioterapia standard in diversi studi in pazienti affetti da MCL, CLL, WM, SLL e MZL. Nonostante il successo clinico, sono stati riportati anche numerosi effetti collaterali, tra cui artralgia, fibrillazione atriale, polmonite e rash, che ne limitano l'uso clinico. Sono dunque stati sviluppati altri farmaci diretti contro BCR-BTK: acalabrutinib e zanubrutinib sono stati approvati per il trattamento del MCL e sono in fase di studio per il trattamento del mieloma multiplo e del tumore ovarico. Inoltre, tirabrutinib e spebrutinib sono in fase di valutazione per il trattamento di CLL, SLL, WM e NHL.

#### » JAK

Sono stati sviluppati e sono in via di sperimentazione numerosi farmaci che inibiscono le JAK chinasi, proteine in grado di trasferire segnali extracellulari al nucleo e di mediare la trascrizione del DNA e l'espressione delle proteine, attraverso la fosforilazione delle proteine STAT. In numerosi tumori ematologici si riscontrano infatti mutazioni che inducono una sovraespressione di JAK/STAT. Sono dunque stati approvati inibitori della via JAK/STAT: ruxolitinib è stato approvato nel 2011 per il trattamento della mielofibrosi (neoplasia mieloproliferativa), e della policitemia. Fedratinib, recentemente approvato (2019), è un inibitore selettivo di JAK2 ed è utilizzato per il trattamento clinico della mielofibrosi. Inoltre, tale farmaco è attualmente sperimentato per il trattamento del NSCLC. Sempre nel 2019 è stato approvato zanubrutinib per il trattamento della leucemia mieloide cronica. Inoltre, uno studio di fase I di WP1066 (inibitore di JAK2 e STAT3) è in corso di sperimentazione per valutare i suoi effetti nel trattamento del melanoma e del glioblastoma (NCT01904123). Anche gandotinib (inibitore orale di JAK1 e JAK2) è stato sperimentato, mostrando buoni risultati preliminari in termini di efficacia, sicurezza e tollerabilità, per il trattamento di neoplasie mieloproliferative (numero di protocollo NCT01594723). Infine lestaurtinib, inibitore multichinasi che ha come bersaglio JAK2, FLT3 e il recettore della neurotropina TrkA, è stato sperimentato per il trattamento varie tipologie di cancro, compresi i tumori del pancreas e della prostata, la policitemia vera, la trombocitosi essenziale e il neuroblastoma refrattario.

### 3. INIBITORI DELLE SERINO-CHINASI

Come per le tirosin-chinasi, anche le serino-chinasi sono coinvolte nei meccanismi di proliferazione, differenziazione e crescita cellulare. Numerosi tumori, solidi ed ematologici, mostrano una sovraespressione e una disregolazione delle vie di segnalazione attivate da tali recettori, che rappresentano dunque un importante bersaglio della terapia molecolare.

» **RAS-RAF-MAPK-ERK**

La via di segnalazione RAS-RAF-MAPK-ERK controlla la crescita cellulare, la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule. La disregolazione di tale via si osserva in numerosi tumori, ed è per lo più dovuta a mutazioni in RAS o BRAF.

Sono stati approvati numerosi farmaci che inibiscono le chinasi di questa via di trasduzione del segnale, come vemurafenib (2011), dabrafenib (2013), ed encorafenib (2018), inibitori BRAF approvati per il trattamento del melanoma. Inoltre, tre inibitori MEK1/2 approvati tra il 2013 e il 2018 (trametinib, binimetinib e cobimetinib) sono usati in combinazione con gli inibitori BRAF per il trattamento del melanoma non resecabile o metastatico. L'elevata efficacia di tali terapie per il trattamento del melanoma ha portato allo sviluppo di nuovi inibitori, che sono in fase di studio, come il pimasertib e il ravoxertinib. L'applicazione clinica degli inibitori BRAF e MEK, soprattutto utilizzati in combinazione, ha cambiato la prospettiva del trattamento del melanoma, migliorando significativamente il tasso di risposta e la sopravvivenza dei pazienti.

Recentemente (2020) è stato approvato il selumetinib per il trattamento della neurofibromatosi tipo 1 e dei neurofibromi. Sono inoltre in corso di sperimentazione alcuni inibitori ERK, tra cui BVD-523 e GDC-0994.

» **CDK**

Un altro bersaglio di questa classe di farmaci sono le chinasi ciclina-dipendenti (CDK). Si tratta di enzimi che regolano il ciclo cellulare (in particolare il passaggio dalla fase G1 alla fase S). Durante tale processo, le cicline CDK4 e CDK6 inducono la fosforilazione (con conseguente inibizione) della proteina del retinoblastoma (RB1), codificata dal gene oncosoppressore RB1. Questa via di segnalazione svolge un ruolo chiave nel controllo della proliferazione cellulare e nello sviluppo di malattie oncologiche. L'inibizione delle CDK4 e CDK6 può arrestare il ciclo cellulare nella fase G1, rappresentando quindi un'importante opzione terapeutica nel bloccare la crescita cellulare. Al 2021 sono stati approvati tre inibitori delle CDK: palbociclib, ribociclib e abemaciclib. Questi farmaci sono indicati nel trattamento del tumore metastatico del seno (HR positivo, HER2 negativo) in combinazione con specifiche terapie ormonali. Inoltre, sono in corso studi per valutare l'efficacia di questi inibitori anche nel trattamento di altri tumori, come il cancro del polmone, quello della prostata, il melanoma e il glioblastoma.

» **PI3K/AKT/mTOR**

Infine, tra gli inibitori delle serino-chinasi, si segnalano gli inibitori di PI3K/AKT/mTOR. Queste chinasi sono coinvolte nel meccanismo di controllo della crescita, proliferazione e apoptosi delle cellule. La mutazione e l'amplificazione dei geni che codificano per queste proteine è riscontrata in numerosi tumori, oltre ad essere spesso associata a resistenza ai trattamenti standard. Nonostante molti inibitori di PI3K, AKT e mTOR siano stati sperimentati negli ultimi anni, solo pochi sono stati approvati per l'uso clinico. Idelalisib è il primo inibitore selettivo PI3K $\delta$  approvato nel 2017 sulla base della sua efficacia nel trattamento dei pazienti con leucemia linfocitica cronica (CLL) recidivata o refrattaria e del linfoma linfocitico. Nello stesso anno è stato approvato il copanlisib, un pan-PI3K inibitore usato nei pazienti con linfoma follicolare resistente a precedenti trattamenti. Infine, duvelisib (2018) e alpelisib (2019) sono rispettivamente inibitori di PI3K $\delta$  e PI3K $\alpha$ , usati nel trattamento della CLL, del linfoma a piccoli linfociti, del linfoma follicolare (solo duvelisib) e del tumore al seno (solo alpelisib). Per entrambi gli agenti si tratta di terapie approvate per forme avanzate e metastatiche, resistenti a precedenti linee di trattamento. Si segnala, inoltre, che sono in corso numerosi trial per sperimentare l'efficacia di inibitori doppi PI3K/mTOR come bimiralisib, dactolisib e gedatolisib.

Riguardo agli inibitori AKT, i progressi sono limitati e solo pochi farmaci sono in corso di sperimentazione: ipatasertib (trattamento del tumore metastatico prostatico e del tumore al seno metastatico), capivasertib (tumore al seno triplo negativo metastatico), afuresertib (tumori ematologici, compreso il mieloma multiplo) e uprosertib (mieloma multiplo resistente).

Infine, gli inibitori di mTOR sono classificati come analoghi della rapamicina (rapalogs) e inibitori ATP-competitivi. Attualmente, diversi rapalogs come sirolimus, temsirolimus ed everolimus sono stati approvati per il trattamento di vari tumori, tra cui il cancro del rene, del seno e del pancreas. Sebbene abbiano apportato dei benefici ai pazienti, la resistenza sviluppata dalle cellule neoplastiche limita il loro uso clinico. Sono in corso di sperimentazione inibitori mTOR di seconda generazione progettati come inibitori ATP-competitivi, che possono sopprimere simultaneamente l'attività di mTORC1 e mTORC2. Al momento (2022), nessun inibitore di questo tipo ha ricevuto l'approvazione, ma alcuni di essi sono in fase di valutazione clinica, come sapanisertib e vistusertib.

#### 4. INIBITORI DI BCL-2

La famiglia delle proteine BCL-2 (B-cell lymphoma 2) è fondamentale nel controllo dei processi apoptotici delle cellule, in quanto possono indurre o inibire l'attivazione delle caspasi, proteine coinvolte nei fenomeni di apoptosi. In particolare, le proteine anti-apoptotiche come BCL-2 e le proteine strettamente correlate BCL-XL, BCL-W, MCL-1 e A1/BFL-1 hanno quattro domini tandem "BCL-2 homology" (BH) e promuovono la sopravvivenza cellulare.

La mutazione del gene BCL-2 con conseguente alterazione dell'espressione delle proteine codificate è riscontrata in numerosi tumori solidi (tra cui melanoma, seno, prostata, polmoni), in cui si instaurano dei meccanismi anti-apoptotici che "immortalizzano" le cellule. Le proteine BCL-2 rappresentano dunque un importante target molecolare per lo sviluppo di inibitori specifici. Un importante passo avanti nel targeting di BCL-2 è lo sviluppo di piccole molecole, i BH3 mimetici chiamati ABT-737 e ABT-263 (navitoclax). Queste molecole possono imitare gli effetti anti-inibitori di BCL-2, promuovendo così l'apoptosi cellulare. Sfortunatamente ABT-737 ha una scarsa biodisponibilità e richiede una somministrazione parenterale continua, che ha ostacolato il suo sviluppo clinico, mentre l'uso di navitoclax è limitato in quanto induce trombocitopenia dose-dipendente come effetto collaterale. Attualmente (2022) navitoclax è sperimentato in uno studio di fase I/II in associazione con dabrafenib e trametinib per il trattamento del melanoma.

L'inibitore di BCL-2 approvato più di recente (2018) è venetoclax, usato inizialmente nel trattamento della leucemia mieloide acuta e successivamente esteso alla leucemia linfocitica cronica e al linfoma a piccoli linfociti.

#### 5. INIBITORI DELLA VIA DI SEGNALE DI HEDGEHOG (HH)

La via di segnalazione di Hedgehog (HH) ha un ruolo importante nello sviluppo embrionale e nella rigenerazione dei tessuti. Tale via è coinvolta nella attivazione/inattivazione della proteina trasduttrice transmembrana Smo (Smoothed), che promuove l'attivazione dei fattori di trascrizione GLI1, GLI2 e GLI3 dell'oncogene glioma-associato (GLI) e quindi induce l'espressione di geni bersaglio legati alla proliferazione, sopravvivenza e differenziazione cellulare.

L'attivazione aberrante della via HH è strettamente correlata all'oncogenesi e alla progressione di carcinomi solidi e tumori ematologici. Attualmente sono stati approvati tre inibitori di HH: vismodegib (2012) e sonidegib (2015) sono farmaci orali

utilizzati per il trattamento del carcinoma basocellulare localmente avanzato, non resecabile o metastatico, mentre glasdegib (2018) è approvato per il trattamento della leucemia mieloide acuta.

## 6. INIBITORI DEL PROTEASOMA

I proteasomi sono grandi complessi enzimatici multicatalitici espressi nel nucleo e nel citoplasma e sono responsabili di oltre l'80% della degradazione delle proteine nelle cellule. Il sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) ha un ruolo importante nel mantenimento dell'omeostasi delle proteine cellulari e nella regolazione di numerosi processi biologici, come la sopravvivenza cellulare, la trasduzione dei segnali, la riparazione del DNA e la presentazione degli antigeni. La maggior parte delle proteine mal ripiegate, non assemblate o danneggiate, che potrebbero formare aggregati potenzialmente tossici, vengono quindi degradate tramite l'UPS, in cui le proteine sono prima marcate (dall'ubiquitina) e quindi riconosciute e degradate in piccoli peptidi (dal complesso proteasoma). La disfunzione dell'UPS è riscontrata in numerosi tumori, rendendo tale complesso un importante bersaglio delle target therapies. In particolare, bortezomib, carfilzomib e ixazomib (approvati rispettivamente nel 2003, 2012 e nel 2015) sono usati nel trattamento del mieloma multiplo (MM), in quanto le cellule di questo tumore producono un eccesso di paraproteine e la loro crescita dipende dalle vie di segnalazione regolate dal proteasoma. Attualmente sono registrati più di 200 studi clinici relativi al bortezomib che si concentrano sulla sua combinazione con altri agenti, sull'efficacia in altri tumori oltre al MM, e anche su altre applicazioni non neoplasiche, come la malattia da trapianto contro l'ospite. Data l'efficacia di questi farmaci, sono in corso sperimentazioni su ulteriori inibitori: marizomib è sperimentato per il trattamento del MM e del linfoma recidivato o refrattario (studi di fase I/II), mentre oprozomib per il trattamento del MM refrattario e recidivante. Infine, l'efficacia di delanzomib è valutata in diversi studi clinici di fase I/II per MM, linfoma e tumori solidi.

## 7. INIBITORI DI PARP

Le poli-ADP-ribosio polimerasi (PARP) sono un gruppo di enzimi multifunzionali coinvolti in numerosi processi cellulari, tra cui la riparazione del DNA, la trascrizione, la mitosi e la regolazione del ciclo cellulare.

In particolare, esistono due differenti vie di riparazione di errori della sequenza del DNA: quella per errori del doppio filamento del DNA (DSBs) e quella per gli errori del filamento singolo (SSBs), e le proteine PARP (ad oggi ne sono state identificate 18) sono coinvolte nei meccanismi di riparazione delle SSBs. In numerosi tumori si assiste ad una sovraespressione degli enzimi coinvolti nei meccanismi di riparazione, al fine di mantenere l'integrità genomica e garantire la sopravvivenza del tumore.

Gli inibitori di tali proteine, tra cui PARP, sono bersagli importanti delle nuove terapie molecolari. La nicotinamide, il cofattore delle PARP, è il primo inibitore PARP che è stato identificato. Ad oggi sono stati approvati quattro farmaci inibitori dell'attività catalitica di PARP - nicotinamide (olaparib, rucaparib, niraparib e talazoparib).

Questi farmaci hanno diverse indicazioni e sono stati progressivamente approvati per il trattamento di molti tumori. In particolare, olaparib è stato approvato inizialmente per il trattamento del tumore ovarico (2014) e successivamente per il carcinoma delle tube di Falloppio (2015), il cancro del seno (2018), il carcinoma pancreatico (2019) e il cancro della prostata (2020). Indicazioni simili sono riportate per rucaparib (cancro ovarico e carcinoma delle tube di Falloppio - 2016, carcinoma peritoneale primitivo - 2018 e cancro della prostata - 2020) e niraparib (cancro ovarico, carcinoma delle

tube di Falloppio, carcinoma peritoneale primitivo – 2017). Infine, nel 2018 è stato approvato l'uso di talazoparib nel trattamento del tumore al seno BRCA mutato e HER2 negativo localmente avanzato o metastatico. Attualmente, un gran numero di studi clinici relativi a olaparib, rucaparib, niraparib o talazoparib in monoterapia o in combinazione sono ancora in corso per valutare l'efficacia in altre tipologie di cancro. Infine, si segnala la sperimentazione di veliparib, che in uno studio di fase III ha mostrato un aumento della sopravvivenza libera da malattia in pazienti affette da carcinoma ovarico sieroso di alto grado rispetto al trattamento standard con paclitaxel e carboplatino.

### **A.3. Terapie oncologiche target basate su anticorpi monoclonali**

Negli ultimi 30 anni, gli anticorpi monoclonali (monoclonal antibodies – mAbs) hanno rivoluzionato il campo della target therapy in ambito oncologico. I mAbs hanno come bersaglio proteine extracellulari in genere localizzate sulla membrana delle cellule tumorali e inibiscono la crescita del tumore interrompendo le interazioni tra recettori e ligandi. I mAbs agiscono secondo due meccanismi principali:

- **il meccanismo diretto, che prevede il legame dei mAbs a un antigene, a un recettore cellulare o a una proteina della membrana cellulare, al fine di esercitare il loro effetto su obiettivi specifici per indurre la morte cellulare attraverso il blocco della trasduzione del segnale, l'induzione di apoptosi, o il trasporto di "carichi" tossici, come tossine, radioisotopi, citochine (immunoconiugati o coniugati anticorpo-farmaco – ADC, v. oltre);**
- **il meccanismo indiretto, che si riferisce alla induzione di una risposta del sistema immunitario, come il reclutamento di cellule effettrici o la fagocitosi dopo la stimolazione tramite il legame dei mAbs agli antigeni specifici delle cellule tumorali. In questo caso i mAbs possono esercitare la loro azione attraverso citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC), citotossicità complemento-dipendente (CDC) e fagocitosi cellulare anticorpo-dipendente (ADCP).**

Alcuni mAbs sono invece diretti contro i cosiddetti "check-point" immunologici, un meccanismo alla base dell'immunoterapia dei tumori, una branca rivoluzionaria della cura dei tumori, che sarà affrontata specificamente in un successivo capitolo.

#### **MABS CHE BLOCCANO LA TRASDUZIONE DEL SEGNALE**

Negli anni sono stati sviluppati numerosi mAbs che si legano a recettori transmembrana determinando un blocco della trasduzione del segnale, esplicando dunque un'azione antiproliferativa. Tali farmaci sono tra i primi sperimentati ed autorizzati, rappresentando la base per lo sviluppo di altri tipi di farmaci, come gli ADC (vedi oltre), ADCC, CDC e ADCP. Alcuni esempi sono:

- **il bevacizumab, anti-VEGF-A che blocca il processo di angiogenesi tumorale. Tale farmaco è stato approvato inizialmente nel 2004 per il trattamento del carcinoma metastatico del colon-retto. Successivamente l'indicazione è stata ampliata al trattamento del carcinoma polmonare non a piccole cellule, glioblastoma e cancro renale metastatico;**
- **il panitumumab e il cetuximab, entrambi mAbs anti-EGFR, approvati rispettivamente nel 2006 e nel 2009 e usati nel trattamento del carcinoma metastatico del colon-retto (il cetuximab è indicato anche dei tumori testa-collo che esprimono EGFR);**
- **il trastuzumab, anti-HER2 (approvato nel 1998 in USA e nel 2000 in Europa) usato nel trattamento del tumore del seno HER2 positivo, in associazione con chemioterapia.**

Nelle forme metastatiche il farmaco rappresenta la prima linea di trattamento (in associazione con il paclitaxel). Tale farmaco è usato anche per il trattamento dell'adenocarcinoma dello stomaco e della giunzione esofagogastrica (cardias) metastatici che esprimono il recettore HER2;

- cetuximab e panitumumab, anti EGFR approvato nel 2009 e nel 2006 per il trattamento del tumore del colon-retto metastatico. Successivamente cetuximab è stato approvato anche per il trattamento del tumore testa-collo avanzato.

#### A.4. Antibody Directed Chemotherapy (ADC)

L'ADC è composto da anticorpo monoclonale che tramite un linker chimico, trasporta sul tumore una molecola citotossica. Gli ADCs si legano selettivamente a recettori di membrana delle cellule tumorali e, successivamente, il complesso recettore-ADC viene internalizzato per endocitosi e i farmaci citotossici vengono rilasciati all'interno della cellula.

Ogni elemento può influenzare l'efficacia e la sicurezza finale dell'ADC e, in generale, lo sviluppo di un ADC deve tenere conto di tutti questi componenti chiave, tra cui la selezione dell'antigene bersaglio, dell'anticorpo, del bagaglio citotossico, del linker e dei metodi di coniugazione.

Nel 2000, la FDA ha approvato per la prima volta un farmaco ADC, gemtuzumab-ozogamicin, per gli adulti affetti da leucemia mieloide acuta (AML), segnando l'inizio dell'era degli ADC nella terapia mirata contro il cancro. A dicembre 2021 sono state registrate 14 approvazioni di farmaci ADC sia per le neoplasie ematologiche che per i tumori solidi. Oltre 100 ADC sono in sperimentazione clinica (4 trial clinici di fase III). Con l'espansione dei bersagli e della terapia, si prevede che in futuro l'ADC possa completamente sostituire le chemioterapie convenzionali.

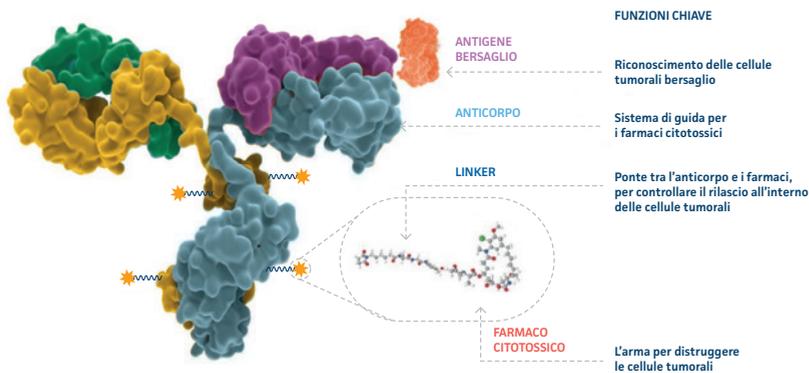


Figura A.4.1: struttura tipica di un farmaco ADC: si possono identificare l'anticorpo, la molecola citotossica e il linker chimico. Questo complesso va ad agire su un antigene target, posto sulla membrana delle cellule tumorali, viene internalizzato e rilascia il farmaco citotossico.

La selezione dell'antigene bersaglio espresso sulle cellule tumorali è priorità assoluta per i farmaci ADC, sia per identificare con precisione le cellule tumorali, sia per determinare il meccanismo (ad esempio, l'endocitosi) per l'ingresso nella cellula del farmaco citotossico.

Pertanto, un'adeguata selezione dell'antigene bersaglio è la prima considerazione per la costruzione di un ADC. Per ridurre la tossicità "fuori bersaglio", l'antigene deve

essere espresso esclusivamente o prevalentemente nelle cellule tumorali, mentre deve essere raro o scarso nei tessuti normali. L'antigene è idealmente un antigene di superficie (o extracellulare) piuttosto che intracellulare, per essere riconosciuto dagli ADC circolanti. Ad esempio, l'espressione del recettore HER2 in alcuni tipi di tumori è circa 100 volte superiore rispetto alle cellule normali, il che costituisce una solida base per lo sviluppo dei farmaci come ado-trastuzumab-emtansine, fam-trastuzumab-deruxtecan e disitamab-vedotin.

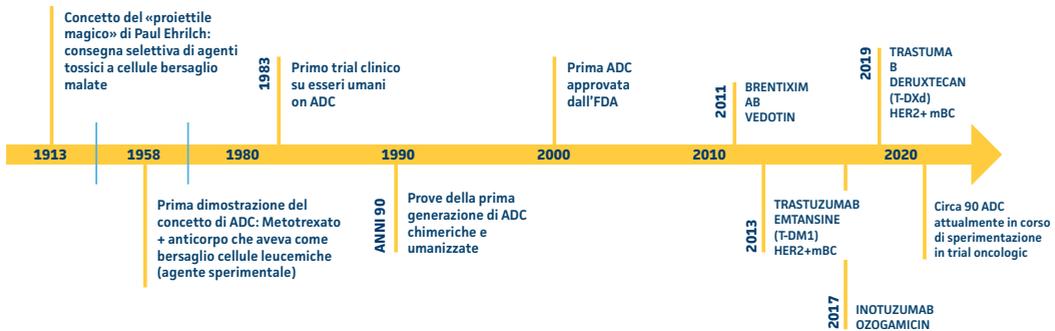


Figura A.4.2: lo sviluppo dei farmaci ADC si basa su quasi un secolo di ricerche relative al delivery di agenti tossici in cellule tumorali specifiche.

In secondo luogo, è importante che l'antigene bersaglio non sia secreto, poiché l'antigene secreto in circolo causerebbe un legame indesiderato dell'ADC al di fuori dei siti tumorali, con conseguente diminuzione del target tumorale e maggiori problemi di sicurezza.

In terzo luogo, l'antigene bersaglio ideale deve essere internalizzato al momento del legame con l'anticorpo monoclonale, in modo che il complesso ADC-antigene abbia accesso alle cellule tumorali, seguito da un'appropriata via di trasporto intracellulare e dal rilascio del carico citotossico.

Attualmente, gli antigeni bersaglio dei farmaci ADC approvati sono tipicamente proteine specifiche sovraesprese nelle cellule tumorali, tra cui HER2, Trop-2, nectina-4 ed EGFR nei tumori solidi e CD19, CD22, CD33, CD30, BCMA e CD79b nelle neoplasie ematologiche.

Ad oggi, più di 50 antigeni sono stati usati come target per lo sviluppo preclinico o clinico degli ADCs; questi antigeni includono il recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano (HER2), l'antigene 2 della superficie delle cellule del trofoblasto (Trop-2), e l'antigene di maturazione delle cellule B (BCMA).

Gemtuzumab-ozogamicin è stato il primo ADC approvato (2000). Tale farmaco deriva dall'anticorpo ricombinante IgG4 umanizzato specifico per il CD33. Inizialmente indicato per il trattamento dei pazienti affetti da leucemia mieloide acuta (LMA), il farmaco è stato poi approvato per il trattamento della leucemia linfocitica acuta (LLA).

Nel 2015 (dopo una prima approvazione nel 2011) è stato approvato anche brentuximab-vedotin, un ADC specifico per il CD30 usato nel trattamento del linfoma di Hodgkin, mentre nel 2013 è stato approvato Ado-trastuzumab-emtansine (2013), un anti-HER2 usato per il trattamento del tumore del seno metastatico.

Più recentemente sono stati approvati l'anti-CD22 inotuzumab-ozogamicin (2017) e l'anti-CD79b polatuzumab-vedotin-piiq (2019), che hanno mostrato elevata efficacia, rispettivamente, per il trattamento della LLA e del linfoma diffuso a grandi cellule B recidivante. Nel 2019 sono stati inoltre approvati enfortumab (anti nectina-4), usato

nel carcinoma uroteliale avanzato e trastuzumab-deruxtecan, per il trattamento delle pazienti affette da cancro del seno HER2 positivo. Questo potente farmaco ha ricevuto un'ulteriore recente approvazione: da gennaio 2022, infatti, è indicato nel trattamento del carcinoma polmonare metastatico non a piccole cellule che presentino una mutazione di HER2.

Infine, i tre farmaci approvati più di recente (tra il 2020 e il 2021) sono sacituzumab-govitecan (anti trop-2), belantamab-mafodotin (anti-BCMA) e loncastuximab-tesirine-lpyl (anti-CD19) usati rispettivamente nel trattamento del tumore del seno triplo negativo metastatico, del mieloma multiplo refrattario e recidivante e del linfoma diffuso a grandi cellule B refrattario e recidivante.

In particolare, sacituzumab govitecan ha mostrato un tasso di risposta del 33,3% e la durata mediana della risposta è stata di 7,7 mesi. Tale farmaco rappresenta un importante progresso per il trattamento dei pazienti, in quanto è il primo ADC approvato specificamente mirato al tumore del seno triplo negativo metastatico.

Allo stesso modo, belantamab-mafodotin ha mostrato un tasso di risposta oggettivo del 31%, e il 73% dei pazienti affetti da mieloma multiplo ha mostrato un miglioramento persistente per 6 mesi o più. Infine, loncastuximab-tesirine-lpyl è stato approvato in monoterapia, mostrando un tasso di risposta del 48,3% con una durata mediana di 10,3 mesi.

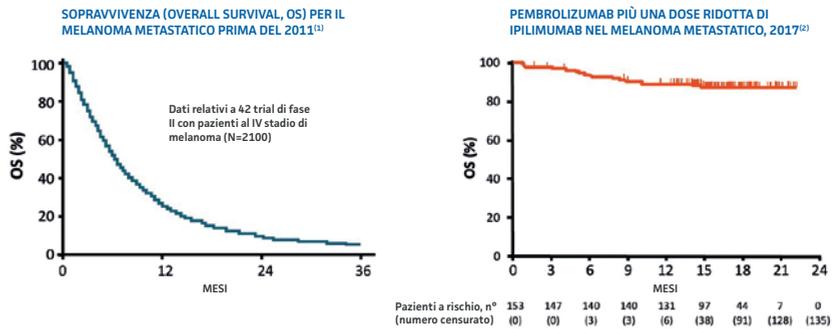
Attualmente sono in corso studi per valutare l'efficacia di farmaci ADC anche per altri tumori e molti sono i farmaci attualmente in fase II/III di sperimentazione, che mirano a differenti bersagli e includono numerose neoplasie. Si segnalano, ad esempio:

- **depatuxizumab-mafodotin, anti-EGFR, sperimentato per il trattamento del glioblastoma;**
- **naratuximab-emtansine, anti-CD37, per il trattamento del linfoma diffuso a grandi cellule B e del cancro uroteliale;**
- **anetumab-ravtansine, anti mesotelina, per il trattamento del mesotelioma.**

### A.5. Immunoterapia dei tumori

Come premessa a questo paragrafo, occorre ricordare che il Premio Nobel per la Medicina 2018 è stato assegnato a James Allison e a Tasuku Honjo «per la loro scoperta della terapia del cancro mediante l'inibizione della regolazione immunitaria negativa». Le loro scoperte hanno spianato la strada all'avvento dell'immunoterapia, considerata l'ultima (e per certi versi la più affascinante) frontiera della lotta al cancro. L'immunoterapia dei tumori agisce liberando il sistema immunitario da un meccanismo (appunto la regolazione immunitaria negativa, traduzione della locuzione anglosassone di "immune check point") che purtroppo riesce a "frenare" i linfociti T nel riconoscere e distruggere le cellule cancerose.

In realtà gli immune check points rappresentano un meccanismo naturale di regolazione della risposta immunitaria. Tuttavia molti tumori sovraesprimono molecole inibitorie (esempio PD-L1, ma ce ne sono diverse) della funzionalità delle cellule T. L'immunoterapia dei tumori è quindi basata su anticorpi monoclonali che si inseriscono tra l'immune check point del tumore e il ligando sul linfocita T.



1. Korn, JCO. 2008;26:527 2. Long, Lancet Oncol. 2017;18:1202.

Figura A.5.1: benefici delle terapie immunoterapiche osservati nel melanoma metastatico.

Il principio fondante dell'immunoterapia dei tumori si basa sulla stretta relazione tra sistema immunitario e cellule tumorali: il sistema immunitario umano, infatti, nato per difenderci da batteri, virus ma anche da cellule che riconosce come estranee (pensiamo al rigetto dei trapianti), può paradossalmente permettere lo sviluppo e la progressione del tumore attraverso un processo di "immunoediting" che procede attraverso tre fasi: eliminazione, equilibrio e fuga. Durante la fase di eliminazione, l'immunità innata e l'immunità adattativa cooperano per riconoscere e uccidere le cellule cancerogene sfuggite ai meccanismi intrinseci di soppressione del tumore. Tuttavia, rari sottocloni tumorali possono sopravvivere all'eliminazione e progrediscono nella fase di equilibrio, in cui la crescita netta del tumore è limitata e, nel tempo, può essere bloccata.

La pressione costante del sistema immunitario adattativo, unita all'instabilità genetica delle cellule tumorali, può però selezionare sottocloni tumorali con immunogenicità ridotta, che possono eludere il riconoscimento immunitario e la conseguente eliminazione. Questo processo di selezione, dunque, non comporta la morte del clone tumorale, ma piuttosto favorisce l'insorgenza di modifiche nelle cellule tumorali (come la perdita della presentazione dell'antigene, la variazione dell'espressione di PD-L1 a causa di cambiamenti epigenetici o la diminuzione della secrezione di IFN- $\gamma$  da parte delle cellule T). Questi tumori possono dunque entrare nella fase di fuga, in cui la loro crescita è incontrollata e la malattia diventa clinicamente evidente. Il processo di "immunoediting" del cancro si verifica durante la progressione naturale dei tumori, ma le prove disponibili da studi su pazienti oncologici trattati con immunoterapie indicano che questo processo si può ripresentare, in parte o nella sua totalità, anche in risposta al trattamento.

Come accennato in precedenza, molti tumori esprimono sulla superficie cellulare molecole che inibiscono la risposta del sistema immunitario, consentendone dunque la sopravvivenza e proliferazione. La sovraespressione da parte di cellule tumorali del PD-L1 e dei ligandi di CTLA-4 sono un esempio di espressione di antigeni ad azione inibitoria del sistema immunitario. I recettori PD-1 e CTLA-4, infatti, sono normalmente espressi dai linfociti T e svolgono un ruolo chiave nel regolare e mantenere l'equilibrio tra l'attivazione delle cellule T e la tolleranza immunitaria.

## **BERSAGLI DELL'IMMUNOTERAPIA: CTLA-4, PD-1, PD-L1**

CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) è un recettore espresso dai linfociti CD4 e CD8 che, in seguito al legame con le proteine B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86), svolge un'azione di tipo inibitorio. Il blocco dell'attività inibitoria di CTLA-4 determina una up-regolazione del sistema immunitario, favorendo dunque la produzione di citochine, che esercitano le loro funzioni effettrici citotossiche nel microambiente tumorale. Sono dunque stati sviluppati e sono in via di sperimentazione mAbs diretti contro CTLA-4. In particolare, ipilimumab è stato approvato nel 2011 per il trattamento del melanoma metastatico. Successivamente il farmaco ha ricevuto indicazione per il trattamento del carcinoma epatocellulare, del mesotelioma e del cancro del colon-retto. Recentemente, in combinazione con nivolumab/ ipilimumab è indicata come prima linea nel trattamento del NSCLC metastatico e nel carcinoma renale avanzato. Tremelimumab è un anticorpo monoclonale diretto contro CTLA-4 in attesa di approvazione e sperimentato nel trattamento del NSCLC. Tale farmaco si lega a CTLA-4 sui linfociti T attivati e blocca il legame dei ligandi delle cellule presentanti l'antigene B7-1 e B7-2, con conseguente inibizione della down-regulation mediata da CTLA-4 dell'attivazione delle cellule T. Questo promuove l'interazione di B7-1 e B7-2 con il CD28, un'altra proteina recettore di superficie delle cellule T, e risulta in un'attivazione delle cellule T mediata da B7-CD28 che non è contrastata dall'inibizione mediata da CTLA-4. Tale processo porta a una risposta immunitaria mediata dai linfociti T citotossici contro le cellule tumorali.

Inoltre, un nuovo farmaco anti B7-H3 (omburtamab) è in fase di revisione presso l'EMA dopo aver ottenuto risultati incoraggianti nel trattamento dei pazienti affetti da carcinoma del sistema nervoso centrale e delle metastasi delle leptomeningi da neuroblastoma.

Un meccanismo d'azione simile è alla base degli anticorpi anti PD-1. Le cellule tumorali spesso esprimono PD-L1 che, legandosi al recettore PD-1 espresso dalle cellule T, impedisce alle cellule T di uccidere le cellule contenenti PD-L1, comprese le cellule tumorali. Alcuni inibitori dei checkpoint immunitario si legano a PD-L1 e bloccano il suo legame con PD-1. Questo rilascia i "freni" del sistema immunitario e permette alle cellule T libere di uccidere le cellule tumorali.

Sette farmaci che hanno come bersaglio PD-1 e PD-L1 sono stati approvati tra il 2015 e il 2021 (nivolumab, pembrolizumab, cemiplimab, dostarlimab sono diretti contro PD-1, mentre atezolizumab, avelumab e durvalumab contro PD-L1). In particolare, nivolumab è stato approvato per il trattamento di diverse tipologie di tumore: inizialmente indicato per il melanoma metastatico, ha progressivamente ricevuto l'approvazione per il trattamento del tumore del colon-retto, del linfoma di Hodgkin recidivante, del cancro esofageo e dello stomaco, del mesotelioma (prima linea nelle forme non resecabili), del NSCLC, del carcinoma renale (prima linea in associazione a ipilimumab), del carcinoma uroteliale e del carcinoma squamoso testa collo.

Come nivolumab, pembrolizumab è stato approvato nel 2015 per il trattamento del melanoma non resecabile o metastatico. Successivamente, il farmaco ha ricevuto l'indicazione al trattamento di numerose neoplasie, come monoterapia di prima linea (nelle forme avanzate e non resecabili di malattia) o in associazione ad altri farmaci: tumore del seno triplo negativo recidivante come terapia neoadiuvante, tumore della cervice, tumore endometriale, linfoma di Hodgkin recidivante e linfoma diffuso a grandi cellule B, cancro esofageo, cancro dello stomaco, NSCLC, carcinoma renale, carcinoma uroteliale e carcinoma squamoso testa collo. Inoltre, nel 2017

pembrolizumab ha ricevuto l'approvazione per il trattamento di tutti i tumori solidi che sono tumor mutational burden-high (TMB-H) e sono metastatici o non possono essere rimossi con la chirurgia.

Cemiplimab è stato approvato nel 2019 per il trattamento del carcinoma squamoso della cute e del carcinoma basocellulare. Inoltre, il farmaco è indicato per il trattamento del NSCLC metastatico e non resecabile.

Infine, nel 2021 è stato approvato dostarlimab per il trattamento del carcinoma endometriale e per il trattamento di pazienti adulti affetti da tumori solidi ricorrenti o avanzati con deficit di riparazione del mismatch (dMMR).

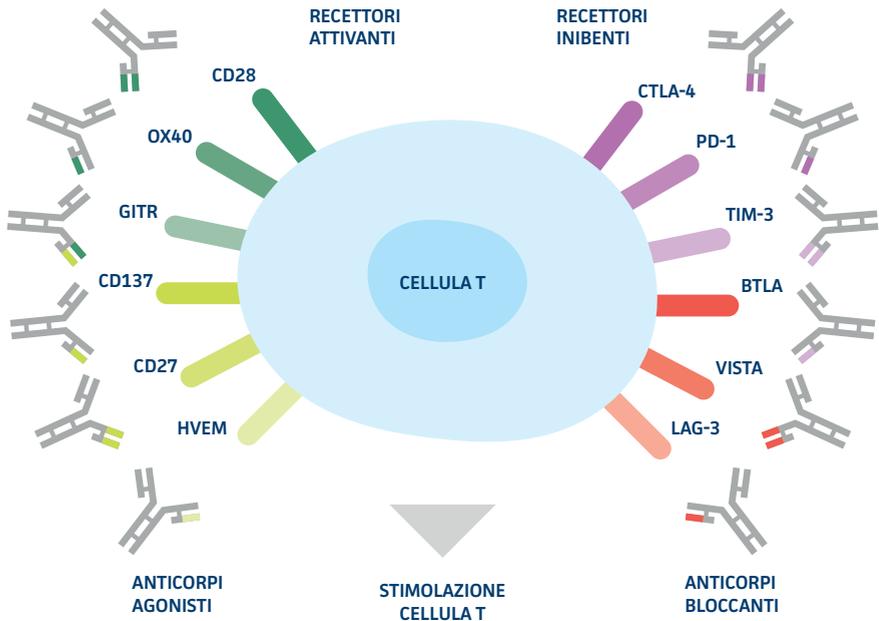


Figura A.5.2: i recettori espressi sulla membrana delle cellule T – che possono risultare in una loro attivazione o inibizione – sono bersaglio di diversi farmaci immunoterapici

Atezolizumab, avelumab e durvalumab sono invece altri farmaci diretti contro PD-L1. Il primo è indicato per il trattamento dell'epatocarcinoma e del carcinoma uroteliale. Nel 2020 l'indicazione si estende al trattamento del NSCLC metastatico e non resecabile. Avelumab è indicato per il tumore a cellule di Merkel metastatico e non resecabile, così come il carcinoma uroteliale e renale. Durvalumab, infine, è stato approvato nel 2018 per il trattamento del NSCLC metastatico e non resecabile e come prima linea (in associazione a chemioterapia) per il cancro del polmone a piccole cellule avanzato.

Infine, sono in fase di revisione presso l'EMA e l'FDA cinque nuovi farmaci anti PD-1, con differenti indicazioni: retifanlimab (carcinoma anale), toripalimab (carcinoma nasofaringeo), sintilimab (NSCLC), penpulimab (carcinoma nasofaringeo metastatico) e tislelizumab (carcinoma esofageo).

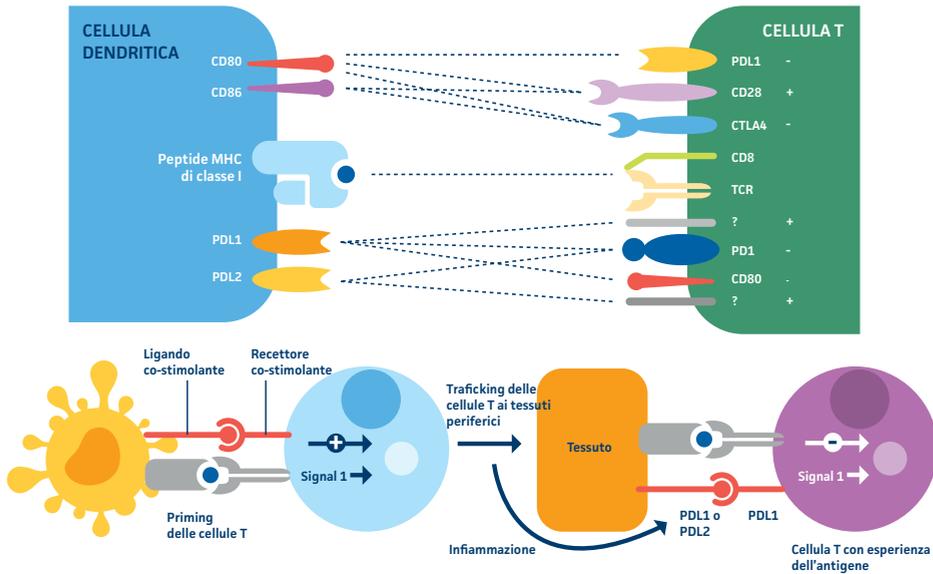


Figura A.5.3: meccanismo d'azione dei farmaci immunoterapici che hanno come bersaglio i recettori CTLA-4, PD-1, PD-L1

## BERSAGLI DELL'IMMUNOTERAPIA: LAG3, NKG2A, TIGIT E TIM3

È in fase di sperimentazione una nuova generazione di mAbs che ha come target proteine quali LAG3, NKG2A, TIGIT e TIM3, e i cui meccanismi di azione possono coinvolgere sia le cellule T che le cellule NK. Tra questi, relatlimab (anti LAG3) è stato approvato dall'FDA nel 2022 per il trattamento del melanoma, ma è ancora in fase di valutazione presso l'EMA. Lo stesso vale per tebentafusp (anti gp100) approvato per il melanoma uveale metastatico. Tiragolumab, una nuova immunoterapia contro il cancro progettata per legarsi a TIGIT, ha ottenuto la Breakthrough Therapy Designation (BTD) dalla Food and Drug Administration statunitense, in combinazione con Tecentriq per il trattamento di prima linea di persone con carcinoma polmonare non a piccole cellule metastatico i cui tumori hanno un'elevata espressione di PD-L1 senza aberrazioni genomiche tumorali EGFR o ALK. Tiragolumab è la prima molecola anti-TIGIT ad aver ottenuto il BTD dalla FDA e la designazione si basa su dati randomizzati dello studio di fase II CITYSCAPE. CITYSCAPE ha infatti fornito la prima prova che il targeting di entrambi i recettori inibitori immunitari, TIGIT e PD-L1, può aumentare l'attività antitumorale, potenzialmente amplificando la risposta immunitaria.

## T-CELL ENGAGING BIAB

Un'altra classe di farmaci in via di sviluppo è quella dei T-cell engaging biAb (T-biAb), che fanno parte dei bispecific antibodies (biAbs). Si tratta di molecole progettate per riconoscere due diversi epitopi o antigeni contemporaneamente. In particolare, questi farmaci, di cui al 2022 blinatumomab è l'unico approvato per il trattamento di tumori ematologici (nel 2015), sono anticorpi che mediano una citotossicità potente e selettiva reclutando e attivando le cellule T con un braccio e prendendo di mira i recettori di superficie delle cellule tumorali con l'altro braccio. La maggior parte dei T-biAbs in studi preclinici utilizzano un frammento di anticorpo anti-CD3, componente del complesso del recettore delle cellule T (TCR). L'impegno del CD3 da parte di un

T-biAb media la formazione di sinapsi citolitiche tra cellule T e cellule tumorali (che esprimono altri recettori, come il CD19, CD40, BCMA, CD123) che assomigliano alle sinapsi immunologiche naturali formate dall'interazione del TCR con un peptide presentato da un complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe I o II. In questo modo, dunque, si garantisce l'attivazione delle cellule T che esplicano la loro azione contro le cellule tumorali. Sono in fase di revisione due farmaci appartenenti a questo gruppo: teclistamab (T-biAb CD3, BCMA) e mosunetuzumab (CD3, CD20) per il trattamento, rispettivamente, del mieloma multiplo e del linfoma follicolare. In fase avanzata di sperimentazione per il trattamento della leucemia mieloide è flotetuzumab (CD3, CD123), mentre sono in fase I oltre 85 T-biAbs. Tali farmaci sono sperimentati prevalentemente per il trattamento delle neoplasie ematologiche, anche se alcune sperimentazioni sono indirizzate verso tumori solidi. Tra gli antigeni coinvolti nel legame dei T-biAbs espressi sulle cellule T e sulle cellule tumorali, ci sono rispettivamente CD3 x HER2, CD3 x CD33, CD3 x BCMA, CD3 x CD123, CD3 x CD19, CD3 x CD20, CD3 x CD38, CD3 x FLT3, PD-L1 x 4-1BB, PD-1 x ICOS.

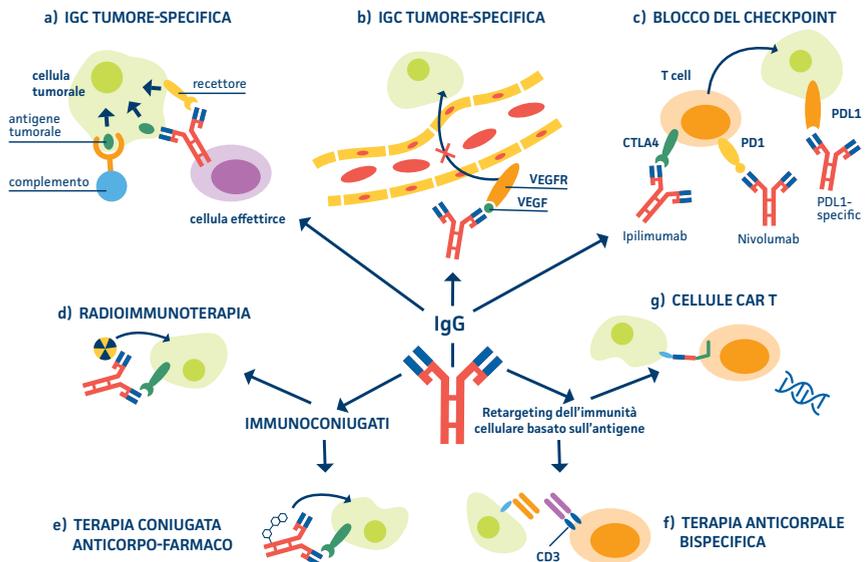


Figura A.5.4: i diversi meccanismi d'azione degli anticorpi monoclonali nel campo dei tumori

## A.6. Leucemie, linfomi e mielomi

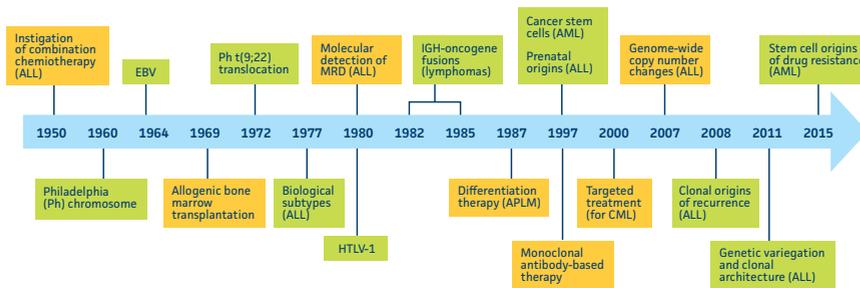
Dato l'aumento di sperimentazioni e di farmaci innovativi per il trattamento di leucemie, linfomi e mielomi, si ritiene opportuno approfondire le terapie per queste patologie in un capitolo specifico.

### LEUCEMIE

Tradizionalmente, il trattamento della leucemia negli adulti è stato basato su chemioterapia, radioterapia e trapianto di cellule staminali. Negli ultimi venti anni, la ricerca ha portato allo sviluppo di terapie mirate (target therapy) che sono diventate parte dello standard of care per alcuni tipi di leucemia, come la leucemia acuta linfoblastica, la leucemia mieloide acuta, la leucemia mieloide cronica, e la leucemia linfocitica cronica, mostrando un'elevata efficacia e una minore tossicità rispetto alle terapie tradizionali.

La leucemia acuta linfoblastica (Acute Lymphoblastic Leukemia – ALL) è un tumore ematologico caratterizzato da un accumulo di linfociti (tipo B o T) nel sangue, nel midollo osseo e in altri organi. Si tratta di uno dei tumori più frequenti in età pediatrica, riguardando circa l'80% delle leucemie e il 25% di tutti i tumori diagnosticati tra 0 e 14 anni, ma se presente anche in pazienti adulti e anziani.

I "vecchi" trattamenti chemioterapici intensivi usati per la ALL hanno effetti collaterali anche gravi, che spesso non sono tollerati da molti pazienti, specialmente anziani. Le terapie mirate, oltre a mostrare un'elevata efficacia, hanno anche meno effetti collaterali della chemioterapia. Sono dunque in corso numerosi studi clinici per testare combinazioni di questi tipi di terapie in sostituzione della chemioterapia tradizionale per i pazienti più anziani, specialmente per la ALL di tipo B. Recentemente, ad esempio, è stata analizzata l'efficacia di inotuzumab ozogamicin (INO), un anti-CD22 come terapia di salvataggio di prima o seconda linea in pazienti con ALL a cellule B negativa per il cromosoma Philadelphia. Questo farmaco ha mostrato maggiore efficacia rispetto alla chemioterapia in uno studio che ha coinvolto 326 adulti affetti da LLA recidivante e refrattaria ai trattamenti di prima linea. In particolare, dopo almeno 2 cicli di trattamento, circa l'80% di pazienti ha risposto al trattamento rispetto al 30% circa di risposte osservate nei pazienti che hanno ricevuto altra chemioterapia. I pazienti che avevano risposto al trattamento sono stati poi sottoposti a trapianto di cellule staminali, per giungere alla remissione completa.



Un importante trattamento altamente innovativo delle leucemie è rappresentato dalla tecnologia CAR-T, in cui le cellule T del paziente vengono prelevate, modificate in laboratorio per attaccare le cellule neoplastiche e re-infuse al paziente in grande quantità. Le CAR T saranno oggetto, più avanti, di un capitolo specifico. Tuttavia, effettueremo una trattazione preliminare dello sviluppo di questa straordinaria innovazione terapeutica.

Tisagenlecleucel è stato approvato nel 2017 per il trattamento dei pazienti pediatrici e giovani adulti fino a 25 anni di età con LLA a cellule B refrattaria, recidivante post-trapianto o in seconda o ulteriore recidiva, per i quali ha mostrato un'elevata efficacia. Lo studio ELIANA ha mostrato un tasso globale di remissione completa dell'81.3%, e le analisi più aggiornate mostrano una risposta duratura (66.6% a 12 mesi e 63.5% a 21 mesi) con una sopravvivenza globale a 12 mesi del 75.9%. I risultati osservati nello studio ELIANA mostrano che tisagenlecleucel possa essere potenzialmente curativo in molti pazienti con LLA in fase avanzata.

Nel 2021 è stata approvata anche un'altra CAR-T, brexucabtagene autoleucel, per il trattamento di adulti affetti da ALL a cellule B refrattaria o recidivante. Il farmaco è stato approvato in base ai risultati di uno studio clinico di fase I/II (ZUMA-3) in cui, entro 3 mesi dal trattamento, più della metà dei pazienti (in totale 50) ha mostrato una remissione completa.

Anche la leucemia mieloide acuta (Acute Myeloid Leukemia – AML) è un tumore ematologico altamente aggressivo che colpisce principalmente la popolazione adulta. Nel corso degli anni sono state sviluppate numerose terapie innovative che stanno cambiando radicalmente l'approccio terapeutico a tale patologia. In particolare, sono state recentemente approvate diverse terapie geniche per il trattamento delle forme recidivanti e refrattarie ai trattamenti standard: enasidenib, ivosidenib, venetoclax, gemtuzumab ozogamicin, midostaurin, gilteritinib, e glasdegib. Recentemente (aprile 2022) sono stati pubblicati risultati incoraggianti circa la somministrazione di ivosidenib, un inibitore della isocitrato deidrogenasi. In particolare, in uno studio di fase III, è stata valutata l'efficacia di ivosidenib in associazione ad azacitidina rispetto alla somministrazione della sola azacitidina. Al follow-up mediano di 12,4 mesi, la sopravvivenza libera da eventi è stata significativamente più lunga nel gruppo ivosidenib-azacitidina rispetto al gruppo azacitidina, con una probabilità stimata che un paziente rimanga libero da eventi a 12 mesi del 37% nel gruppo ivosidenib-e-azacitidina rispetto al 12% nel gruppo azacitidina. Inoltre, la sopravvivenza globale mediana è stata di 24,0 mesi con ivosidenib e azacitidina e di 7,9 mesi con la sola azacitidina.

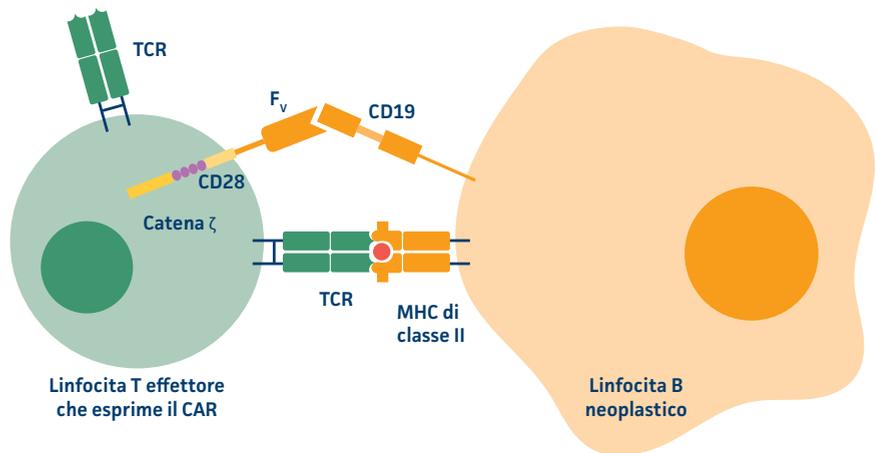


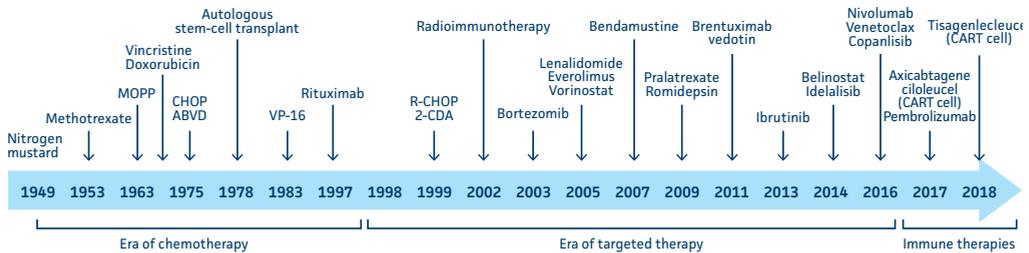
Figura A.6.1: trasferimento adottivo di linfociti T effettori geneticamente modificati per esprimere un recettore chimerico per l'antigene che lega CD19

## LINFOMI

Come per le leucemie, anche il trattamento dei linfomi, divisi in linfomi non-Hodgkin e linfomi di Hodgkin, ha mostrato enormi progressi nel corso degli anni, grazie alla sperimentazione e approvazione di farmaci mirati che hanno cambiato radicalmente l'approccio terapeutico a tali malattie.

La maggior parte delle diagnosi è rappresentata dal sottotipo del linfoma non-Hodgkin, che può essere di tipo aggressivo o indolente. Nel primo caso il tumore cresce e si diffonde rapidamente e richiede quindi un trattamento immediato. I progressi farmacologici hanno portato a raggiungere tassi di guarigione di circa il 70% nelle persone affette da questo tipo di tumore. Al contrario, il linfoma non-Hodgkin indolente cresce lentamente e spesso non richiede trattamento fino al peggioramento dei sintomi, o qualora si trasformi in un linfoma aggressivo.

I principali trattamenti per il linfoma non-Hodgkin sono stati la chemioterapia, la radioterapia e la terapia mirata. Per il linfoma recidivo si ricorre talvolta al trapianto di cellule staminali, ma questa procedura comporta gravi effetti collaterali che possono essere anche fatali.



Recentemente sono state approvate quattro terapie con cellule CAR-T per il trattamento di alcuni tipi di linfoma recidivo, rivoluzionando l'approccio terapeutico a questi tumori. In particolare, tali terapie (axicabtagene ciloleucel, tisagenlecleucel, lisocabtagene maraleucel e brexucabtagene autoleucel) hanno fornito remissioni a lungo termine a circa un terzo degli adulti con linfoma che le hanno ricevute. Grandi studi randomizzati hanno confrontato la terapia con cellule CAR-T con il trapianto di cellule staminali autologhe, mostrando come la percentuale di pazienti in terapia con cellule CAR-T due anni dopo il trattamento aumenti rispetto a quelli che hanno ricevuto la chemioterapia seguita dal trapianto di cellule staminali.

Inoltre, nel corso dell'ultimo decennio sono state approvate anche numerose terapie mirate, come polatuzumab-vedotin per il trattamento del linfoma diffuso a grandi cellule B; copanlisib per il linfoma follicolare ricorrente; venetoclax per la leucemia linfocitica cronica e il piccolo linfoma linfocitico; loncastuximab per il linfoma a grandi cellule B recidivante; selinexor per il linfoma a grandi cellule B che si è ripresentato o non si è ridotto dopo altri trattamenti.

In questo contesto, si segnalano alcune importanti iniziative internazionali che stanno favorendo la ricerca per il trattamento di tali patologie:

- i programmi specializzati di ricerca sui linfomi (Lymphoma Specialized Programs of Research Excellence – SPORE), progettati per trasferire rapidamente le scoperte scientifiche di base in ambito clinico; tali programmi sostengono inoltre lo sviluppo di nuove immunoterapie, di nuove terapie mirate e di nuovi metodi per determinare la prognosi dei singoli pazienti;
- il consorzio internazionale per l'epidemiologia dei linfomi (InterLymph), che cerca di favorire la collaborazione tra ricercatori fornendo un forum per lo scambio di idee, e al contempo di creare un quadro di riferimento per collaborare alle analisi che raccolgono i dati provenienti da più studi;
- lo studio di coorte Lymphoma Epidemiology of Outcomes (LEO), istituito per rispondere alle esigenze sanitarie attuali e a lungo termine dei pazienti affetti da linfoma non-Hodgkin.

## MIELOMI

Il mieloma multiplo (MM) è un tumore delle plasmacellule (le cellule che producono i nostri anticorpi) caratterizzato da una proliferazione incontrollata di linfociti B. Sebbene non tutti i pazienti necessitino di trattamento immediato, le terapie possono migliorare la qualità di vita e il controllo dei sintomi nei casi di importante progressione della malattia. In realtà, l'orientamento più attuale, grazie ai farmaci innovativi, tende al trattamento precoce di questa patologia. Il trattamento si basa su diversi farmaci in particolare, sono inibitori del proteasoma, anticorpi monoclonali, e inibitori di BCL-2.

Farmaci come bortezomib, carfilzomib e ixazomib bloccano l'azione dei proteasomi nelle cellule tumorali e sono pertanto utilizzati nel trattamento del MM e di altre neoplasie plasmacellulari. Tra gli anticorpi monoclonali, invece, daratumumab and elotuzumab hanno mostrato una buona efficacia nel trattamento dei pazienti affetti da MM, così come l'anticorpo monoclonale coniugato belantamab-mafodotin. In particolare, questo ultimo farmaco è usato nelle forme di malattia recidiva e refrattarie al trattamento. Tra gli inibitori di BCL-2, venetoclax è un farmaco attualmente in fase di studio nel trattamento del MM recidivato o refrattario. Infine, tra il 2021 e il 2022 sono stati approvati due anti-BCMA CAR-T per il trattamento del MM recidivante e resistente: idecabtagene-vicleucel e ciltacabtagene-autoleucel, il cui uso è destinato a modificare profondamente il trattamento e la prognosi dei pazienti affetti da questa patologia.

### A.7. Il concetto di farmaco agnostico

Lo sviluppo dell'immunoterapia e delle terapie mirate a bersaglio molecolare sta cambiando la filosofia complessiva della terapia dei tumori, sia dal punto di vista della probabilità di risposta clinica sia dal punto di vista regolatorio.

Per quanto sia vero che l'approccio "targeted" ha precedenti importanti, per esempio nel tumore della mammella, affrontare un tumore in base al suo specifico profilo genetico, piuttosto che alla sua localizzazione o al tessuto dove si è sviluppato è una rivoluzione appena cominciata. Questo tipo di trattamento, che prevede la presenza di un'alterazione molecolare molto specifica, permette anche di predire con ragionevole certezza che la terapia possa funzionare: un passo avanti importante nello sviluppo di una medicina personalizzata e di precisione per il trattamento del cancro.

I primi farmaci approvati che possiamo considerare "agnostici" sono senz'altro gli anticorpi monoclonali anti-PDL1, quelli che rilasciano i freni del sistema immunitario, che hanno mostrato di funzionare su diversi tumori, con diversa localizzazione. Più recentemente, è stata approvata un'altra serie di farmaci, questa volta "chimici" (ad esempio, entrectinib), che attaccano in modo mirato un'alterazione genica nota come NTRK gene fusions, fattori oncogeni di vari tipi di tumore, sia adulto sia pediatrico. Queste alterazioni genetiche possono essere rilevate utilizzando vari metodi, tra cui il sequenziamento del DNA e dell'RNA del tumore, o addirittura la profilazione del DNA senza cellule plasmatiche (la cosiddetta "biopsia liquida"). Il trattamento di pazienti con carcinomi NTRK positivi alla fusione con inibitori TRK di prima generazione, indipendentemente dall'istologia tumorale, ha per esempio mostrato un'alta percentuale di risposta, oltre ad essere ben tollerati dalla maggior parte dei pazienti grazie alla loro specificità di azione, con profili di tossicità caratterizzati da eventi avversi occasionali off-tumor e off-target (attribuibili all'inibizione della TRK nei tessuti non tumorali). Ma c'è molto altro in arrivo: oltre agli inibitori del TRK, sono in fase avanzata di studio i farmaci per i tumori RETtrans e FGFRtrans.

In passato, gli studi clinici che hanno portato all'approvazione di molti farmaci antitumorali includevano pazienti con lo stesso identico tipo di tumore, sia in termini istologici sia di localizzazione. Con l'avvento delle terapie agnostiche, alcuni trattamenti antitumorali saranno sempre più spesso studiati in studi clinici con un disegno diverso. Si tratta dei "basket trials" che valutano l'efficacia di un farmaco specifico (o di una combinazione di farmaci) in pazienti con tumori a localizzazione diversa, ma caratterizzati dalla stessa alterazione genomica, come la presenza di recettori PD-1 o di fenomeni di fusione genica NTRK. Gli studi "basket", dunque, da una parte permettono a persone con diversi tipi di cancro di partecipare tutti allo stesso studio clinico e ricevere il trattamento con il farmaco in studio, dall'altra di velocizzare la valutazione di farmaci anche su tumori rari o su tumori con mutazioni rare. Ma di questi nuovi disegni degli studi clinici si parlerà più avanti.

L'arrivo dei trattamenti "agnostici" rappresenta l'inizio di un nuovo modo di pianificare le terapie: i test genetici o la definizione di altre caratteristiche molecolari potrà aiutare a decidere quali trattamenti sono più indicati per un paziente con un tumore, indipendentemente dalla sua localizzazione o da come appare al microscopio, e i test molecolari diventeranno l'elemento essenziale per la pianificazione dei trattamenti. Questi aspetti, tuttavia, verranno trattati più diffusamente nel capitolo dedicato ai nuovi disegni degli studi clinici.

### A.8. Companion diagnostics

Negli ultimi anni la ricerca farmacologica, oltre che a sperimentare nuovi farmaci sempre più precisi per fornire delle opzioni terapeutiche in vari campi di applicazione (malattie oncologiche, genetiche, neurologiche ecc.) si è concentrata anche nello studio dei companion diagnostics, ovvero di test diagnostici in vitro, oppure strumenti di imaging che forniscono informazioni essenziali per l'uso sicuro, personalizzato ed efficace di un farmaco o di un prodotto biologico corrispondente.

In un'ottica di medicina di precisione e personalizzata, infatti, risulta fondamentale riuscire a valutare quale siano gli effettivi benefici (e rischi) associati a un farmaco, tenendo in considerazione che caratteristiche fisiologiche e genetiche individuali possono modulare e differenziare la risposta degli individui a uno stesso principio terapeutico.

Questi test supportano l'oncologo nel determinare se, attraverso l'identificazione dei pazienti che hanno maggiori probabilità di beneficiare di uno specifico farmaco, i benefici terapeutici superano qualsiasi potenziale effetto collaterale o rischio potenziale, e anche di monitorare la risposta al trattamento.

A partire dal 2014 l'FDA ha prodotto una serie di documenti (inizialmente di contesto e successivamente mirati a specifici gruppi di farmaci, come le terapie oncologiche) per supportare le aziende a identificare l'eventuale necessità di produrre dei companion diagnostics in una fase precedente al processo di sviluppo del farmaco, in modo da pianificare il co-sviluppo del farmaco e del test. Attualmente sono stati approvati decine di companion diagnostics, il cui aggiornamento e monitoraggio viene costantemente effettuato.

L'oncologia di precisione dipende dalla comprensione della fisiopatologia molecolare del cancro e dalla capacità dei companion diagnostics di rilevare e misurare in modo accurato e affidabile i biomarcatori molecolari. Attualmente, l'FDA ha approvato due companion diagnostics per un gruppo specifico di farmaci terapeutici oncologici. Il primo è il Cobas EGFR Mutation Test v2, che identifica i pazienti con NSCLC i cui tumori presentano delezioni dell'esone 19 dell'EGFR o mutazioni di sostituzione dell'esone 2 idonei al trattamento con un inibitore della tirosin-chinasi approvato

dalla FDA per tale indicazione. Il secondo, invece, è FoundationOne CDx, che identifica i pazienti affetti da melanoma i cui tumori presentano BRAF V600E e V600K idonei al trattamento con le combinazioni di inibitori BRAF/MEK approvate dalla FDA per tale indicazione, e i pazienti con NSCLC i cui tumori presentano delezioni dell'esone 19 dell'EGFR o mutazioni di sostituzione dell'esone 21 (L858R) idonei al trattamento con un inibitore della tirosin-chinasi (TKI) approvato dalla FDA per tale indicazione. In questo contesto, nel 2018 la FDA ha pubblicato la guida (poi aggiornata nel 2020) "Developing and Labeling In Vitro Companion Diagnostic Devices for a Specific Group or Class of Oncology Therapeutic Products", che fornisce un primo tentativo di classificazione dei companion diagnostics, rappresentando una base per lo sviluppo futuro di tali prodotti.

### **SEQUENZIAMENTO DI NUOVA GENERAZIONE (Next-Generation Sequencing – NGS)**

Il sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing – NGS) consente di sequenziare un elevato numero di sequenze genetiche in tempi brevi e a costi accessibili. Sebbene questa tecnologia sia stata ampiamente implementata, non esistono raccomandazioni da parte di società scientifiche sul suo utilizzo nella pratica oncologica. In questo contesto, la European Society for Medical Oncology (ESMO) ha elaborato delle raccomandazioni per l'uso del NGS, considerando tre livelli: dal punto di vista della salute pubblica, dei centri di ricerca clinica accademica e del singolo paziente. In particolare, si identificano le raccomandazioni per la pratica quotidiana, che hanno lo scopo di valutare l'impatto dell'uso dei multigeni tumorali sulla salute pubblica; le raccomandazioni per i centri di ricerca clinica, che mirano a determinare se l'esecuzione del sequenziamento multigenico potrebbe aumentare l'accesso all'innovazione e accelerare lo sviluppo dei farmaci; le raccomandazioni centrate sul paziente. Inoltre, dal punto di vista dei payers, l'evidenza del rapporto costo-efficacia dell'uso del sequenziamento multigenico nella pratica quotidiana è scarsa. Sulla base delle attuali evidenze, l'ESMO raccomanda l'uso di routine del NGS su campioni di tumore nel carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) avanzato, nel carcinoma della prostata, nel carcinoma ovarico e nel colangiocarcinoma. In questi tumori, si potrebbero utilizzare pannelli multigene di grandi dimensioni, se questi aggiungono un costo aggiuntivo accettabile rispetto ai pannelli di piccole dimensioni. Nei tumori del colon, il NGS potrebbe essere un'alternativa alla PCR. Inoltre, considerando che i pazienti con tumori dell'endometrio e del polmone a piccole cellule dovrebbero ricevere come terapia agli anticorpi monoclonali anti-PD1, la Società raccomanda di testare il tumour mutational burden (TMB) nei tumori della cervice uterina, nei tumori neuroendocrini bene o moderatamente differenziati, nei tumori salivari, nei tumori della tiroide e nei tumori vulvari, in quanto in queste neoplasie il TMB alto predice la risposta a pembrolizumab. Infine, l'ESMO raccomanda che i centri di ricerca clinica sviluppino il NGS come strumento per lo screening dei pazienti eleggibili per gli studi clinici e per accelerare lo sviluppo dei farmaci, e che acquisiscano prospetticamente i dati che potrebbero ulteriormente informare come ottimizzare l'uso di questa tecnologia. In conclusione, l'uso del NGS rappresenta un'opportunità per migliorare il processo terapeutico dei pazienti. Tuttavia, è necessario un uso di questa tecnologia basato sull'evidenza scientifica e regolato da Enti predisposti.

## B. Le Terapie Avanzate – Advanced Therapy Medicinal Products (ATMPs)

Negli ultimi anni sono state sviluppate, con finalità terapeutiche, tecnologie innovative non basate su molecole di sintesi chimica, bensì su DNA, RNA, cellule e tessuti. Questo ampio panel di soluzioni terapeutiche viene classificato come Advanced Therapeutic Medicinal Products (ATMPs).

Le ATMPs sono farmaci veri e propri, frutto degli enormi progressi fatti negli ultimi 50 anni nel campo delle biotecnologie e dell'ingegneria genetica, che mirano a colpire le malattie direttamente alla loro base genetica o cellulare, ridefinendo l'approccio terapeutico verso una personalizzazione personalizzata sul singolo paziente. Esse differiscono molto dai farmaci convenzionali, in quanto il materiale di partenza è di origine biologica, generalmente umana (cellule o tessuti di donatori sani o di pazienti); questo materiale biologico può derivare dal paziente stesso (per trattamenti autologhi) o da un donatore compatibile in termine di istocompatibilità maggiore (HLA).

Le ATMPs sono una categoria terapeutica in rapida crescita, che offre nuove opportunità per il trattamento, la prevenzione e la diagnosi di patologie considerate ad oggi incurabili (malattie genetiche, patologie degenerative o croniche, e tumori) e di gravi traumi (lesioni o ustioni). Allo stesso tempo, però, questi trattamenti complessi e innovativi, pongono sfide specifiche alla progettazione e alla conduzione di studi preclinici e clinici, nonché al loro accesso al mercato.

I farmaci biologici di questa nuova frontiera per la medicina personalizzata sono classificati in quattro categorie principali:

**1. Terapia genica.** I prodotti di terapia genica contengono una molecola di DNA o RNA che consente di regolare, riparare, sostituire, aggiungere o eliminare una sequenza genica. Si cerca di combattere la malattia mirando direttamente alle sue basi genetiche, o fornendo all'organismo una copia corretta del gene difettoso, o un altro gene che possa compensarne il malfunzionamento nelle cellule colpite dalla mutazione, oppure utilizzando l'editing genomico, procedura che permette di correggere un gene difettoso senza doverne fornire una copia sana dall'esterno.

La procedura può avvenire:

- **in vivo: il gene terapeutico viene somministrato direttamente nell'organismo, per via locale (sull'organo bersaglio) o per via sistemica (nel circolo sanguigno);**
- **ex vivo: la "correzione" del difetto genetico avviene all'esterno dell'organismo; le cellule bersaglio vengono prelevate dal paziente, modificate geneticamente e reintrodotte nel paziente stesso.**

**2. Terapia cellulare.** I prodotti di terapia cellulare contengono cellule vive utilizzate per trattare organi o tessuti danneggiati. In questo caso la terapia prevede l'impiego di cellule staminali adulte, che vengono manipolate in laboratorio e fatte proliferare con l'utilizzo di materiali biocompatibili e biorisorbibili, per ottenere diverse tipologie di cellule, che vengono poi riapplicate al paziente.

**3. Ingegneria tissutale.** I prodotti di ingegneria tissutale combinano la terapia genica e cellulare per creare protesi biologiche finalizzate a sostituire un organo danneggiato.

**4. Terapie avanzate combinate.** Sono soluzioni terapeutiche che contengono uno o più dispositivi medici come parte integrante del farmaco a base di cellule o tessuti.

In Europa il Regolamento CE 1394/2007 rappresenta il contesto normativo di riferimento per le ATMPs; un apposito Comitato, quello per le terapie avanzate

(CAT), ha il compito di valutare qualità, sicurezza ed efficacia delle ATMPs, per poi sottoporlo all'approvazione del Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP, Comitato per i medicinali ad uso umano).

La Direttiva Europea 2009/120/EC si propone di regolare/controllare l'intero ciclo di vita di questi prodotti. Questa Direttiva ha, di fatto, equiparato questi prodotti ai farmaci "tradizionali" e prevede, di conseguenza, che nella produzione degli ATMPs siano pienamente rispettate le Buone Pratiche di Fabbricazione o GMP (Good Manufacturing Practices) che erano state, sino ad allora, di dominio esclusivo dell'industria farmaceutica, mentre è molto probabile che le ATMP vengano progressivamente prodotte anche da Ospedali e Centri di ricerca pubblici e privati. Un punto cruciale per le Terapie Avanzate è rappresentato dalla sostenibilità per i Servizi Sanitari e, conseguentemente, dalla necessità di operare opportunescelte di politica sanitaria. In breve, le Terapie Avanzate, delle quali parleremo più diffusamente in questo capitolo, si caratterizzano per:

- essere one-shot, ovvero vengono somministrate con un unico trattamento, a differenza dei farmaci e dei protocolli tradizionali usati per altre patologie, che prevedono cure ripetute e regolari;
- produrre un evidente disallineamento temporale tra costi effettivi, concentrati nel breve periodo, e benefici futuri, diffusi su un più lungo orizzonte temporale;
- avere costi di investimento elevati, ma anche notevoli benefici in termini clinici, terapeutici, sociali ed economici per i sistemi sanitari e la salute dei pazienti;
- offrire nuove prospettive di guarigione ai pazienti affetti da patologie che, sino ad ora, sono prive di una soluzione terapeutica;
- intervenire in modo diretto sulle cause della malattia;
- richiedere un lungo e più complesso processo di preparazione, rispetto ai farmaci tradizionali;
- essere prodotti medicinali biologici composti dalle stesse cellule dei pazienti, che vengono prelevate in ospedale e successivamente ingegnerizzate nei siti produttivi aziendali;
- essere somministrate solo in centri qualificati e specializzati e provenire da piattaforme estremamente innovative e complesse;
- richiedere, nel corso della gestione del loro ciclo di vita, continua manutenzione e innovazione per essere aggiornati e per assicurare ai pazienti il miglior prodotto possibile;
- generare benefici ulteriori in termini di recupero della produttività sul lavoro, per lunghi periodi della vita, che risulta migliorata nei suoi aspetti psicologici, relazionali e sociali, permettendo così un recupero di redditività (gettito fiscale) ed evidenti risparmi diretti e indiretti per il sistema sanitario;
- generare impatti sugli altri livelli di assistenza del sistema sanitario, in quanto implicano il coinvolgimento di risorse ospedaliere nell'ambito del processo di cura;
- implicare una co-responsabilizzazione sugli esiti dei trattamenti tra l'industria farmaceutica e il sistema sanitario, che interviene con competenze e altre tecnologie a supporto del percorso di cura.

Fino ad oggi, in Europa, sono state approvate 22 Terapie Avanzate - 6 di queste sono state poi ritirate dal commercio - principalmente per malattie monogeniche, neoplasie ematologiche e lesioni tissutali. Si stima che saranno almeno 60 le terapie avanzate in arrivo entro il 2030, con quasi 500.000 pazienti potenzialmente trattabili con una terapia genica o cellulare.

Affinché l'Italia possa continuare ad essere, in futuro, un Paese che non solo sia attivo nella ricerca sulle terapie avanzate ma che, come oggi, riesca anche a renderle effettivamente fruibili ai pazienti, sarà necessario un cambio in termini organizzativi, inclusi quelli relativi alla ricerca e all'identificazione dei fondi necessari a coprire i costi di queste terapie. Inoltre, sarà fondamentale individuare nuovi modelli regolatori e di rimborso che possano rendere sostenibili le terapie avanzate nel nostro Paese, anche a fronte delle previsioni di aumento del numero di terapie che saranno disponibili nei prossimi anni. Ma di questo parleremo estesamente del secondo volume di questa trilogia sull'innovazione farmaceutica.

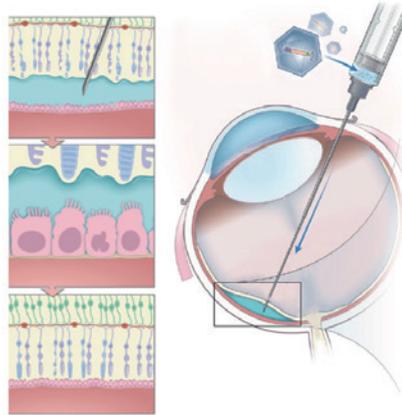
In questo volume ci soffermeremo soprattutto sulla terapia genica e sulle CAR-T.

### B.1. Terapia genica

Attualmente sono state identificate più di 7000 mutazioni responsabili di malattie genetiche. In questo gruppo rientrano anche le malattie rare, definite come malattie presenti con una prevalenza dello 0,05% della popolazione, pari dunque a 5 casi su 10.000 persone. Nonostante la definizione di "rare", tali patologie affliggono, in numero assoluto, un numero molto elevato di individui (3,5-5,9% della popolazione mondiale) pari a circa 263-446 milioni di persone. In Italia, ad esempio, si stimano 20 casi di malattie rare ogni 10.000 abitanti, e ogni anno sono circa 20.000 i nuovi casi segnalati, mentre negli Stati Uniti si stima che circa 25 milioni di persone siano affetti da una malattia rara (definita, in questo Paese come una condizione che affligge meno di 200.000 individui).

Le malattie genetiche sono dovute ad alterazioni dei geni e dei cromosomi, solitamente ereditate dai genitori. In particolare, oltre a considerare le patologie multifattoriali che hanno una base genetica ma che per manifestarsi necessitano di particolari fattori ambientali (come ad esempio il diabete, la malattia di Alzheimer, e la spina bifida), le malattie genetiche possono essere distinte in cromosomiche (dovute dunque ad anomalie dei cromosomi) oppure monogeniche (causate da mutazioni di un singolo gene, responsabili della manifestazione clinica della malattia).

Le malattie cromosomiche e monogeniche si ereditano dai genitori secondo quattro modalità: autosomica dominante; autosomica recessiva; legata al cromosoma X (X-linked), dominante e recessiva. Le malattie autosomiche dominanti (come l'accondroplasia o la corea di Huntington) sono caratterizzate dalla presenza di una copia del gene normale e di una copia alterata (dunque mutata). In questi casi un genitore portatore di copia mutata di uno dei geni è lui stesso malato, e ad ogni concepimento ha un rischio del 50% di avere un figlio malato, indipendentemente dal sesso del nascituro. Nelle malattie autosomiche recessive (come le talassemie, l'anemia falciforme e la fibrosi cistica), invece, affinché si manifesti clinicamente la malattia è necessario che entrambi i geni siano mutati. Dunque, affinché la malattia venga trasmessa al figlio, è necessario che entrambi i genitori presentino almeno una copia mutata del gene. In questo caso, dunque, due portatori sani hanno il 25% di probabilità di avere un figlio malato ad ogni gravidanza, indipendente dal sesso del nascituro. Le malattie X-linked (come la sindrome di Duchenne e l'emofilia) sono per lo più recessive e sono causate da alterazioni di geni localizzati nel cromosoma X. In questo caso le persone di genere femminile devono possedere tutte e due le copie del cromosoma X mutate, mentre nei maschi, avendo un unico cromosoma X, è sufficiente la mutazione del cromosoma, in quanto la funzione alterata del gene non può essere compensata da nessuna copia normale dello stesso gene.



*Figura B.1.1: funzionamento della prima terapia genica approvata per una malattia genetica ereditaria, voretigene neparvovec, indicata per i pazienti con perdita della vista causata da una mutazione genetica in entrambe le copie del gene RPE65. Il trattamento avviene attraverso un'unica somministrazione per singolo occhio di un vettore virale inattivato che fornisce una copia funzionante del gene RPE65. Il "nuovo" gene veicola l'informazione corretta nelle cellule retiniche malate, migliorando la capacità visiva di chi riceve la cura*

## **TERAPIE PER LE MALATTIE GENETICHE E RARE**

Negli ultimi anni è stato rivolto grande interesse allo studio di nuove terapie per curare le malattie genetiche e le malattie rare.

Tali malattie, presentando una mutazione a livello genico, sono state in passato ritenute incurabili e dunque trattate esclusivamente con terapie di supporto. Attualmente, tuttavia, i nuovi progressi in ambito scientifico hanno permesso di sviluppare nuove terapie che si basano su meccanismi di correzione del difetto genetico attraverso la sostituzione delle sequenze del gene mutate, responsabili della malattia, con sequenze sane. In particolare, si distinguono due differenti meccanismi di ingegneria genica alla base delle terapie genetiche: il trasferimento genico (terapia genica mediata da vettori in vivo oppure terapia genica con trasduzione cellulare ex vivo) e l'editing genomico. Tali terapie rientrano nelle nuove terapie avanzate (ATMPs) e sono attualmente molto studiate, tanto che negli ultimi anni sono stati condotti più di 2000 trial (terminati o in corso di sperimentazione).

Il trasferimento genico è una tecnica che permette di introdurre un gene aggiuntivo in cellule specifiche. Questo gene può rimanere come un pezzo extra di DNA nella cellula o essere inserito nei cromosomi della cellula stessa per diventare parte del suo DNA. In questa procedura, un vettore molecolare (spesso un virus modificato e che ingloba il gene sano da inserire) porta il gene al nucleo della cellula. In questo modo, la cellula codifica e traduce il gene con produzione della proteina critica necessaria per il corretto funzionamento, in modo da compensare le proteine mancanti o difettose.

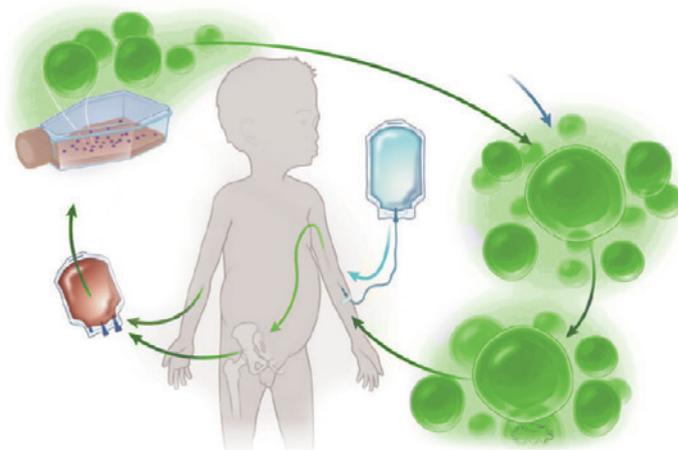
L'editing genomico, invece, è un approccio più recente che permette una correzione precisa e i cambiamenti mirati al DNA nelle cellule per ripristinarne la funzione. L'editing del genoma, infatti, permette di rimuovere un tratto di DNA che causa una malattia, spegnere un gene per evitare che produca una proteina dannosa, attivare un gene o istruire una cellula a produrre più di una proteina necessaria e, infine, correggere un gene mutato. Tali azioni sono possibili in quanto attraverso l'editing del genoma si introducono proteine che tagliano il DNA (forbici molecolari) e molecole guida che possono riconoscere e attaccarsi al DNA in siti specifici. Quando la molecola

guida si attacca a un'area di DNA difettoso, la forbice molecolare riconosce la molecola guida e taglia il DNA difettoso. Dopo che il DNA bersaglio viene tagliato, la cellula può lasciare un tratto di codice genetico vuoto, riportare il DNA al suo stato originale o riempire questo vuoto con il DNA sano.

Tra i meccanismi di editing genomico spicca il sistema CRISPR-Cas9, che si basa sul binomio rappresentato dalle sequenze geniche che si ripetono a intervalli regolari (CRISPR – Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) e dalla proteina Cas9. Tale tecnica, che ha portato al Nobel per la chimica nel 2020, è stata identificata per la prima volta nei batteri (nel 2012), come meccanismo di difesa contro le infezioni virali. In particolare, tale sistema si basa sull'impiego della proteina Cas9, che può essere programmata (attraverso una molecola di RNA guida) per effettuare specifici tagli al genoma di una cellula. A seguito del taglio introdotto da Cas9 è possibile eliminare sequenze di DNA dannose dal genoma bersaglio oppure è possibile sostituire sequenze geniche.

## ANEMIA FALCIFORME E TALASSEMIE

L'editing genomico è attualmente sperimentato e usato nel trattamento dell'anemia falciforme e della beta-talassemia, che rappresentano anche i primi esempi di efficacia terapeutica dell'approccio CRISPR. Oltre a questo approccio innovativo, sono in corso studi per valutare l'efficacia di altri trattamenti mirati di ingegneria medica. In particolare, le talassemie sono un gruppo di malattie ematologiche a trasmissione autosomica recessiva (divise principalmente in alfa e beta talassemia) caratterizzate dalla presenza di mutazioni carico delle proteine che costituiscono l'emoglobina (alfa e beta). Tali mutazioni sono responsabili della produzione di emoglobina anomale e scarsamente funzionale, che si manifesta clinicamente con forme di anemia e di ittero di gravità variabile. Dal punto di vista terapeutico, in base alla sintomatologia, è prevista l'esecuzione di trasfusioni di sangue o il trapianto di midollo osseo. Tale malattia, dunque, può risultare particolarmente invalidante (basti pensare alla elevata frequenza di trasfusioni richieste nelle forme più gravi). Dunque, risulta evidente come la possibilità di accedere a un trattamento curativo possa aumentare notevolmente la qualità di vita di questi pazienti.



*Figura B.1.2: i trattamenti tradizionali delle talassemie includono la trasfusione di sangue e/o il trapianto di midollo osseo. La figura illustra il nuovo intervento "genetico", cioè la sostituzione di un gene malfunzionante nelle cellule ematopoietiche che poi vengono re-infuse nel paziente.*

In questo contesto, è in corso di sperimentazione (fase I/II) un trattamento di editing genico CRISPR-Cas9, avviato nel 2018 (con termine previsto nel 2024) per pazienti affetti da beta-talassemia trasfusione-dipendenti, provenienti da Stati Uniti, Canada, Italia, Germania e Gran Bretagna. Tale procedura prevede il prelievo delle cellule staminali ematopoietiche del paziente e la successiva modifica attraverso il processo di editing genomico al fine di sopprimere l'espressione della proteina BCL11A, responsabile dell'inibizione dei geni che regolano la produzione di emoglobina fetale. In questo modo, dunque, è possibile favorire la produzione di elevati livelli di emoglobine fetali che suppliscono alla carenza di emoglobina adulta.

Un altro nuovo trattamento, approvato nel 2019, è rappresentato dalla terapia LentiGlobin, che permette di aggiungere copie funzionali di una forma modificata del gene della  $\beta$ -globina ( $\beta$  A-T87Q) nelle cellule staminali ematopoietiche del paziente, che diventa in grado di produrre emoglobina HbA T87Q (derivata dalla terapia genica) in quantità tali da ridurre notevolmente o eliminare completamente la necessità di trasfusioni di sangue.

Tale approccio è in corso di valutazione anche per il trattamento dell'anemia falciforme, malattia a trasmissione autosomica recessiva caratterizzata dalla presenza di una mutazione puntiforme del gene che codifica per la catena  $\beta$  dell'emoglobina. Ciò comporta la presenza di una struttura non funzionale dei globuli rossi (forma a falce) e di caratteristiche fisico-chimiche anomale dell'emoglobina (ridotta capacità di trasportare l'ossigeno). Come per le talassemie, anche in questo caso la malattia si manifesta con anemia e ittero, che possono rendere necessaria l'esecuzione di ripetute trasfusioni di sangue.

Anche nell'anemia falciforme, la terapia LentiGlobin ha mostrato dei risultati primari altamente incoraggianti sui 35 pazienti oggetto di studio: il livello mediano di emoglobina totale è aumentato da 8,5 g/dL a 11g/dL o più, in un periodo compreso da 6 mesi a 36 mesi dopo l'infusione. L'emoglobina HbAT87Q ha contribuito almeno al 40% dell'emoglobina totale ed era distribuita in una media ( $\pm$ SD) dell'85 $\pm$ 8% dei globuli rossi.

Risulta quindi evidente come i nuovi trattamenti di ingegneria genica stiano modificando profondamente l'approccio terapeutico alle malattie ematologiche, consentendo di migliorare la qualità di vita e aumentare l'aspettativa di vita dei pazienti.

## **ALTRE MALATTIE GENETICHE**

Il trasferimento genico e l'editing genomico sono tecniche attualmente sperimentate per il trattamento di numerose patologie genetiche e rare per le quali non è prevista una terapia curativa. Lo sviluppo di queste nuove terapie è evidente, ad esempio, nel campo della neurologia per il trattamento di malattie genetiche che interessano il sistema nervoso centrale. Solo in tale ambito, infatti, sono in corso più di 50 trial (per lo più in fase I e II) per lo sviluppo di nuove terapie per il trattamento di malattie neurodegenerative, del neurosviluppo e metaboliche. Allo stesso tempo, alcuni farmaci hanno recentemente ricevuto l'approvazione rivoluzionando il trattamento di alcune malattie genetiche. Ad esempio, onasemnogene abeparvovec è la prima terapia genica approvata per il trattamento della atrofia muscolare spinale (SMA – spinal muscular atrophy) (2019 dall'FDA e 2020 dall'EMA). Tale farmaco permette di inserire una copia normale del gene SMN, che codifica per la proteina la cui carenza è responsabile della malattia, determinando un miglioramento della sopravvivenza senza ventilazione permanente e un miglioramento significativo della funzione motoria, con possibilità per i giovani pazienti di parlare, alimentarsi e camminare. In Italia, tale farmaco è stato somministrato per la prima volta in una bambina di 23 giorni a Bari, nell'aprile 2022.

Inoltre, è in corso di sperimentazione una terapia genica sperimentale (AMT-130) per modificare il decorso della corea di Huntington. Studi preclinici hanno infatti dimostrato che l'AMT-130 riduce la proteina huntingtina ed è associato a una diminuzione della progressione dei segni della malattia di Huntington in modelli animali. La sperimentazione, la cui durata prevista è di 5 anni (fine nel dicembre 2026), coinvolge 26 pazienti.

Un altro gruppo di patologie al centro di alcuni trial clinici basati sulla terapia genica è rappresentato dai disordini neurometabolici. Più di 30 sperimentazioni, infatti, sono in corso per identificare una terapia efficace per le mucopolisaccaridosi, l'adrenoleucodistrofia x-linked, la gangliosidosi e la fenilchetonuria. In particolare, le mucopolisaccaridosi sono un gruppo di diversi disordini (MPS I-IX) che coinvolgono i lisosomi e che causati da una carenza di enzimi lisosomiali che catalizzano la degradazione dei glicosaminoglicani. Queste malattie colpiscono circa 4 individui su 100.000 e portano ad uno sviluppo aberrante, con anomalie patologiche neurocognitive e muscoloscheletriche. Le MPS sono principalmente dovute a mutazioni dei geni che codificano gli enzimi lisosomiali e, per tale ragione, rappresentano un potenziale bersaglio della terapia genetica. In particolare, l'editing del genoma (mediante CRISPR-Cas9) è stato esplorato come approccio terapeutico e i primi risultati su modelli animali hanno mostrato risultati incoraggianti. Per tale ragione sono in corso numerosi trial che sperimentano tale soluzione nel trattamento di diverse forme di MPS, in particolare la MPSI, MPSII e MPSIII.

Cinque trial sono in corso per il trattamento della adrenoleucodistrofia x-linked (ALD). Questa malattia è causata da mutazioni nel gene ABCD1, localizzato sul cromosoma X e responsabile della produzione di ALDP, proteina transmembrana dei perossisomi che consente l'eliminazione degli acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA) da tali corpuscoli cellulari. La terapia genica ha mostrato in studi preclinici risultati promettenti in un modello animale. Attualmente, tale approccio è in fase di studio (studio clinico fase I/II) in pazienti con ALD.

Allo stesso modo, sono in corso tre studi in fase di reclutamento per il trattamento della fenilchetonuria attraverso la sostituzione del gene difettoso (PAH) responsabile della malattia. Il primo è uno studio di fase I/II, randomizzato, a scalare, che prevede l'iniezione di un vettore AAVHSC15 contenente una copia funzionale del gene PAH umano. Un secondo studio clinico è uno studio di sicurezza ed efficacia di follow-up a 5 anni dal primo, mentre la terza ricerca è uno studio di fase I/II che testa un AAV5 che porta un gene funzionale PAH.

Le innovazioni terapeutiche e gli aspetti regolatori riguardanti le malattie rare e i farmaci orfani verranno trattati più estesamente nel secondo volume di questa trilogia.

### **B.2. Chimeric Antigen Receptor T cell therapies (CAR-T)**

Le terapie a base di cellule T esprimenti un Recettore Chimerico per un Antigene tumorale (CAR-T) sono terapie personalizzate che agiscono direttamente sul sistema immunitario del paziente per facilitare il riconoscimento e la distruzione delle cellule neoplastiche. Si tratta di nuovi trattamenti che rientrano nel gruppo delle terapie geniche, in quanto agiscono attraverso l'inserzione di materiale genetico all'interno delle cellule dell'organismo umano. La produzione e la somministrazione della terapia CAR-T si basa su diverse fasi, che prevedono il prelievo dei linfociti T dal sangue del paziente, l'ingegnerizzazione genetica (in cui i linfociti T del paziente vengono geneticamente modificati utilizzando un virus inattivato, che consente di aggiungere al DNA dei linfociti un gene ricombinante che permette di esprimere sulla superficie degli stessi linfociti il recettore chimerico CAR) e la somministrazione dei linfociti ingegnerizzati nel paziente. Grazie al recettore CAR, i linfociti T modificati (cellule CAR-T) sono in grado di riconoscere un antigene specifico presente sulla superficie delle cellule tumorali e legarsi ad esse per distruggerle.

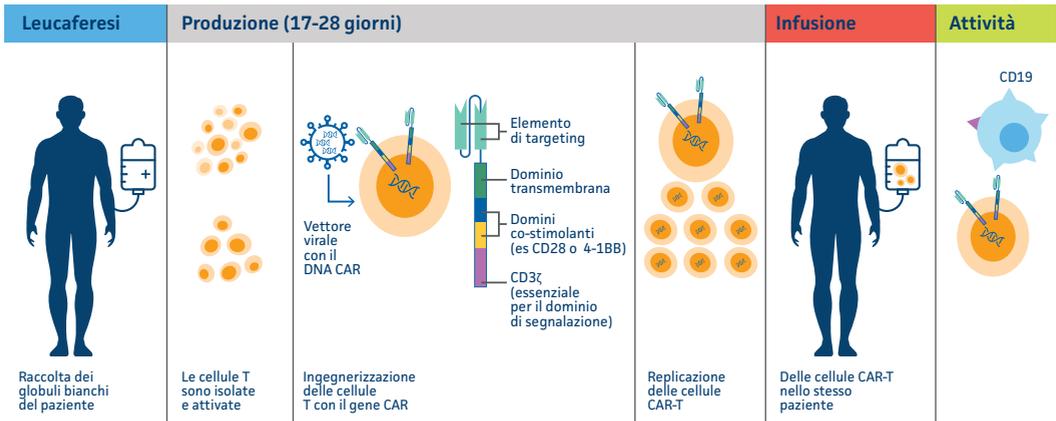


Figura B.2.1: le diverse fasi di una terapia CAR-T

Le terapie CAR-T rappresentano dunque una grande innovazione terapeutica e una prima forma di terapia genica approvata. Le prime due CAR-T sono state approvate nel 2017 (in Europa nel 2018) per il trattamento della leucemia linfoblastica a cellule B e di alcune forme aggressive di linfoma non-Hodgkin. In particolare, tisagenlecleucel è stato approvato per il trattamento della leucemia linfoblastica acuta a cellule B non rispondente alla chemioterapia e recidivante in pazienti di età inferiore a 25 anni. In tale terapia il bersaglio delle cellule T ingegnerizzate è il recettore CD19, espresso dalle cellule B tumorali. Axicabtagene ciloleucel, invece, è stato approvato per il trattamento del linfoma diffuso a grandi cellule B e del linfoma primitivo del mediastino a cellule B, già sottoposti ad almeno 2 linee di terapia sistemica. Anche in questo caso il bersaglio delle cellule T ingegnerizzate è il recettore CD19.

Tali terapie sono usate come ultima linea di trattamento, in pazienti che non hanno ottenuto remissione e guarigione dalla malattia attraverso altri approcci terapeutici (chemioterapia, radioterapia, anticorpi monoclonali, trapianto di cellule staminali) o in fase avanzata. Si tratta dunque di farmaci estremamente efficaci, che hanno un ruolo fondamentale nel trattamento di condizioni precedentemente considerate fatali. Gli studi clinici hanno infatti dimostrato che, nel caso della leucemia linfoblastica B, l'81% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa, l'80% era ancora libero da malattia 6 mesi dopo l'infusione della terapia CAR-T, il 76% era ancora in vita a distanza di un anno dal trattamento. Allo stesso modo, considerando il linfoma primitivo del mediastino a cellule B, il 40-47% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa del linfoma, il 65% era ancora libero da malattia a distanza di 12 mesi dall'infusione, il 50-60% dei pazienti era ancora in vita a un anno dal trattamento. Tali dati sono molto incoraggianti, soprattutto in considerazione dell'indicazione terapeutica. Si segnala, tuttavia, che tali farmaci possono comportare gravi reazioni avverse (sindrome da rilascio di citochine, riduzione dei linfociti B e degli anticorpi reazioni avverse del sistema nervoso), che rendono particolarmente importante la valutazione dell'eleggibilità del paziente.

Oltre a tisagenlecleucel e axicabtagene ciloleucel, sono stati successivamente approvati altre quattro terapie CAR-T: nel 2020 è stato approvato brexucabtagene autoleucel (con bersaglio il CD19) per il trattamento delle forme recidivanti e

resistenti del linfoma mantellare e della leucemia linfoblastica acuta. Lo stesso bersaglio è alla base della CAR-T lisocabtagene maraleucel, approvata nel 2021 per il trattamento del linfoma a cellule B recidivanti e resistente ad altre terapie. Infine, sono stati approvati due anti-BCMA CAR-T per il trattamento del mieloma multiplo recidivante e resistente: idecabtagene vicleucel nel 2021 e ciltacabtagene autoleucel nel febbraio 2022.

Anche in questi casi tali terapie sono usate come ultima linea di trattamento, in pazienti che non hanno ottenuto remissione e guarigione dalla malattia attraverso altre terapie.

Il futuro auspicabile delle CAR-T sarà il loro impiego contro i tumori solidi, nei quali la loro efficacia per ora appare limitata.

Le sfide da affrontare per raggiungere questo obiettivo sono:

- 1)** l'identificazione di antigeni bersaglio idonei, espressi selettivamente o preferenzialmente dalle cellule tumorali;
- 2)** la fuga dall'attività immunodepotenziante del microambiente tumorale;
- 3)** la penetrazione delle cellule CAR-T nella massa tumorale;
- 4)** la loro sopravvivenza nell'ambiente tumorale ipossico;
- 5)** la persistenza a lungo termine delle cellule CAR-T.

Molto probabilmente il futuro tecnologico e di processo delle CAR-T sarà il passaggio dalla produzione centralizzata a una produzione decentralizzata, effettuata da strutture ospedaliere con capacità biotecnologiche avanzate.

### **CONSIDERAZIONI SULLA SPERIMENTAZIONE CLINICA DELLE ATMP:**

- 1)** Il disegno dello studio clinico dovrebbe prendere in considerazione le caratteristiche specifiche delle diverse ATMP e dei rischi potenziali per i soggetti trattati. Il team clinico dovrà valutare i benefici auspicati rispetto ai rischi potenziali, un rapporto che deve essere favorevole almeno quanto quello degli approcci alternativi esistenti.
- 2)** Vanno considerati i potenziali trattamenti successivi: per le popolazioni che in ultima analisi potrebbero essere trattate tramite trapianto, gli sponsor devono considerare se l'esposizione all'ATMP possa causare sensibilizzazione, compromettendo potenzialmente il futuro successo del trapianto. Per i prodotti di terapia genica, occorre considerare l'impatto dell'immunità preesistente.
- 3)** Il fattore "controllo di qualità" delle ATMP è essenziale: la variabilità del materiale di partenza basato sul donatore o sul paziente deve essere presa in considerazione per il rilascio delle specifiche delle ATMP basate sulle cellule (ad esempio, numero/range di cellule, efficienza di trasduzione). Poiché le condizioni di conservazione, trasporto e manipolazione possono avere un impatto negativo sulla qualità delle ATMP, gli sponsor devono fornire allo sperimentatore istruzioni dettagliate per la manipolazione e la conservazione dei prodotti in sperimentazione nel sito della sperimentazione clinica. Il rispetto delle istruzioni deve essere monitorato dallo sponsor o dall'Organizzazione di Ricerca a Contratto (CRO).
- 4)** Manipolazione dell'ATMP: il livello di informazione deve essere commisurato ai rischi. Ad esempio, nel caso di ATMP che contengono materiale biologico infettivo, devono essere fornite istruzioni dettagliate per la manipolazione e lo smaltimento e devono essere considerati i rischi di manipolazione per il team del sito di sperimentazione clinica, per lo sponsor e/o per la CRO. Nel caso in cui

l'ATMP includa un vettore batterico o virale con un potenziale di diffusione, i rischi e le misure precauzionali devono essere chiaramente comunicati al paziente e/o a chi se ne prende cura, e supervisionati secondo i ruoli e le responsabilità di Good Clinical Practice (GCP) dallo sperimentatore del sito, dallo sponsor o dal delegato e dai fornitori coinvolti.

**5)** La fine della sperimentazione deve essere chiara e inequivocabile. A causa della modalità d'azione, della novità e delle incertezze scientifiche che possono esistere con gli ATMP, i pazienti possono essere soggetti a un follow-up della sicurezza a lungo termine dopo il trattamento. In questi casi, è particolarmente importante definire chiaramente la fine della sperimentazione e spiegare nel protocollo come verranno svolte le attività di follow-up dopo la fine della sperimentazione.

**6)** Limitazioni degli studi non clinici: i modelli animali possono non fornire informazioni affidabili sulla sicurezza e sulla farmacocinetica.

## C. Anticorpi Monoclonali: storia, meccanismo d'azione e indicazioni terapeutiche non oncologiche

Da quando è stato generato il primo anticorpo monoclonale murino nel 1975 e il primo anticorpo monoclonale per uso umano autorizzato nel 1986, queste terapie rappresentano un modo nuovo per colpire mutazioni specifiche e difetti nella struttura e nell'espressione delle proteine in un'ampia gamma di malattie e condizioni. Gli anticorpi monoclonali sono anticorpi monovalenti che si legano allo stesso epitopo e vengono prodotti da un singolo clone di linfociti B. Oggi, grazie ai rapidi progressi nel sequenziamento genetico e alla trasposizione della ricerca medica di base nella pratica clinica, gli anticorpi monoclonali umanizzati e completamente umani sono il gruppo di molecole di derivazione biotecnologica che sta crescendo più rapidamente negli studi clinici. Circa 30 anticorpi monoclonali sono attualmente approvati dalla FDA per l'uso nell'essere umano per il trattamento di varie malattie e condizioni, tra cui: cancro, malattie infiammatorie croniche, trapianti, malattie infettive e malattie cardiovascolari.

Inizialmente generati nei topi con la tecnica dell'ibridoma (da Kohler e Milstein, che hanno poi ricevuto il Nobel per la medicina), oggi sono prodotti principalmente tramite phage display: si tratta di isolare i linfociti B dal sangue degli esseri umani, isolare l'mRNA in essi presente e convertirlo in cDNA utilizzando la PCR per amplificare tutti i segmenti VH e VL. Questi segmenti possono quindi essere clonati in un vettore (di solito come scFv) accanto alla proteina PIII di un batteriofago, prima di essere utilizzati per infettare E. coli, che può quindi secernere il batteriofago contenente i segmenti VH e VL come parte del mantello di quest'ultimo. I segmenti VH e VL specifici contro l'antigene possono quindi essere selezionati e utilizzati per reinoculare E. coli con il batteriofago scelto, e produrne quindi in grande quantità.

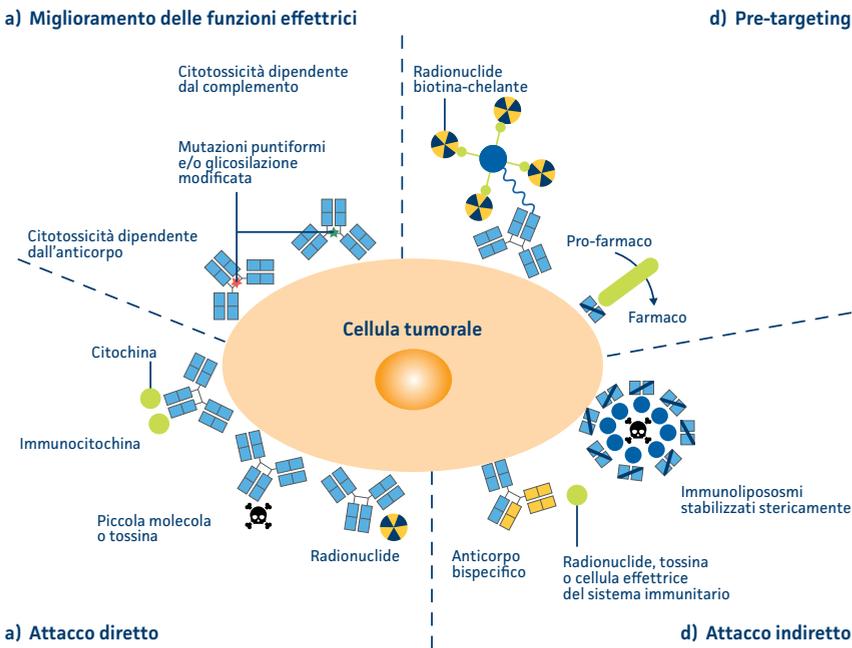


Figura C.1: meccanismi d'azione degli anticorpi monoclonali nella lotta ai tumori.

Gli interventi per migliorare l'efficacia degli anticorpi comprendono: riduzione dell'immunogenicità, potenziamento dell'affinità di legame con l'antigene e delle funzioni effettrici e farmacocinetica, in termini di aumento dell'emivita plasmatica. Il lavoro sull'immunogenicità consiste nel ridurre al minimo le sequenze non umane, creando versioni chimeriche, umanizzate o completamente umane degli anticorpi. Ad esempio, i frammenti di anticorpi sono solitamente meno immunogeni a causa della mancanza del dominio Fc. L'affinità di legame con l'antigene può essere migliorata utilizzando librerie di phage display per isolare anticorpi con forte affinità per l'antigene. Tuttavia, a volte possono essere necessari anticorpi con un'affinità inferiore per l'antigene, per consentire una migliore penetrazione nel tumore. Le funzioni effettrici possono essere migliorate ingegnerizzando geneticamente la regione Fc in modo che contenga mutazioni puntiformi o modifiche glicaniche. Gli anticorpi monoclonali possono anche essere modificati per avere effetti aggiuntivi: negli anticorpi coniugati, ad esempio, molecole effettrici (come tossine vegetali/batteriche, enzimi, radionuclidi, farmaci citotossici, ecc.) sono coniugate agli anticorpi monoclonali che le veicolano sul tumore a scopi diagnostici o terapeutici.

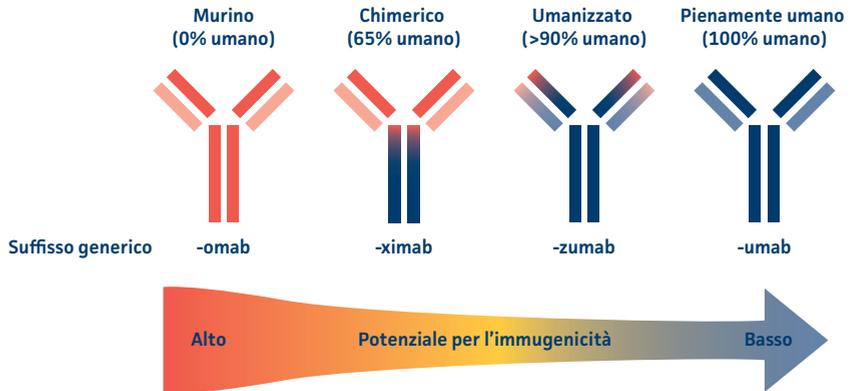


Figura C.2: un modo per migliorare l'efficacia degli anticorpi monoclonali è diminuire la loro immunogenicità, rendendoli più simili ad anticorpi umani.

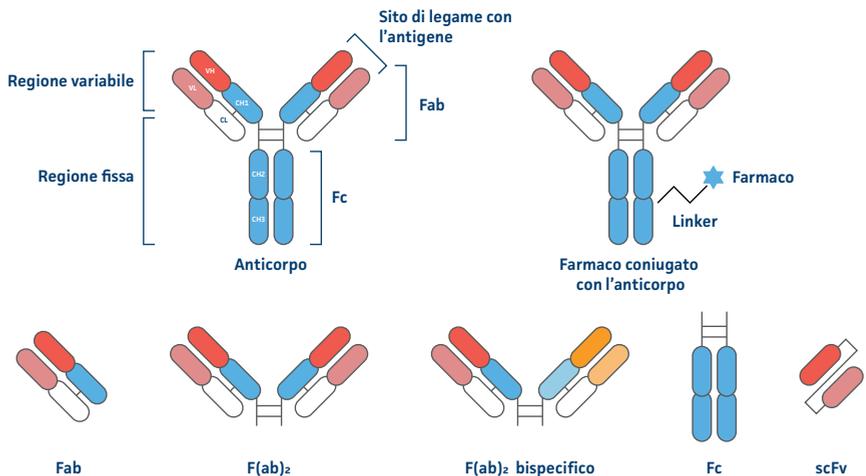


Figura C.3: strutture alternative degli anticorpi monoclonali, in funzione della loro indicazione

Di anticorpi monoclonali - per diverse aree terapeutiche, soprattutto in oncologia – si è già estesamente scritto nei paragrafi precedenti. Tuttavia, si ritiene utile presentare, nella Tabella seguente, alcuni anticorpi monoclonali approvati anche per terapie non oncologiche, dal 1986 ai giorni nostri, per illustrare le innumerevoli applicazioni cliniche di questi prodotti biotecnologici.

Nome non proprietario	Prima indicazione ricevuta	Approvazione EU	Approvazione US
Muromonab- CD3	Reversal of kidney transplant rejection	1986*	1986#
Efalizumab	Psoriasis	2004#	2003#
Nebacumab	Gram-negative sepsis	1991*#	NA
Catumaxomab	Malignant ascites	2009#	NA
Daclizumab	Multiple sclerosis#; prevention of kidney transplant rejection#	2016#; 1999#	2016#; 1997#
Abciximab	Prevention of blood clots in angioplasty	1995*	1994
Basiliximab	Prevention of kidney transplant rejection	1998	1998
Palivizumab	Prevention of respiratory syncytial virus infection	1999	1998
Adalimumab	Crohn disease	2003	2002
Omalizumab	Rheumatoid arthritis	2005	2003
Natalizumab	Asthma	2006	2004
Ranibizumab	Multiple sclerosis	2007	2006
Eculizumab	Macular degeneration	2007	2007
Certolizumab pegol	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	2009	2008
Ustekinumab	Psoriasis	2009	2009
Canakinumab	Muckle-Wells syndrome	2009	2009
Golimumab	Rheumatoid and psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis	2009	2009
Tocilizumab	Rheumatoid arthritis	2009	2010
Denosumab	Bone Loss	2010	2010
Belimumab	Systemic lupus erythematosus	2011	2011
Raxibacumab	Anthrax infection	NA	2012
Siltuximab	Castleman disease	2014	2014
Ramucirumab	Gastric cancer	2014	2014
Vedolizumab	Ulcerative colitis, Crohn disease	2014	2014

Nome non proprietario	Prima indicazione ricevuta	Approvazione EU	Approvazione US
Alemtuzumab	Multiple sclerosis; chronic myeloid leukemia#	2013; 2001	2014; 2001
Evolocumab	High cholesterol	2015	2015
Idarucizumab	Reversal of dabigatran-induced anticoagulation	2015	2015
Secukinumab	Psoriasis	2015	2015
Mepolizumab	Severe eosinophilic asthma	2015	2015
Ixekizumab	High cholesterol	2015	2015
Reslizumab	Psoriasis	2016	2016
Bezlotoxumab	Asthma	2016	2016
Obiltoxaximab	Prevention of Clostridium difficile infection recurrence	2017	2016
Brodalumab	Prevention of inhalational anthrax	2020	2016
Dupilumab	Plaque psoriasis	2017	2017
Guselkumab	Atopic dermatitis	2017	2017
Sarilumab	Plaque psoriasis	2017	2017
Emicizumab	Rheumatoid arthritis	2017	2017
Ocrelizumab	Hemophilia A	2018	2017
Benralizumab	Multiple sclerosis	2018	2017
Erenumab	Asthma	2018	2018
Galcanezumab,	Migraine prevention	2018	2018
Burosumab,	X-linked hypophosphatemia	2018	2018
Lanadelumab,	Hereditary angioedema attacks	2018	2018
Tildrakizumab	Plaque psoriasis	2018	2018
Fremanezumab,	Migraine prevention	2019	2018
Ravulizumab,	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	2019	2018
Ibalizumab,	HIV infection	2019	2018
Emapalumab,	Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis	NA	2018
Caplacizumab,	Acquired thrombotic thrombocytopenic purpura	2018	2019
Risankizumab,	Plaque psoriasis	2019	2019
Romosozumab	Osteoporosis in postmenopausal women at increased risk of fracture	2019	2019

Nome non proprietario	Prima indicazione ricevuta	Approvazione EU	Approvazione US
Brolucizumab,	Neovascular age-related macular degeneration	2020	2019
Crizanlizumab;	Sickle cell disease	2020	2019
Satralizumab,	Neuromyelitis optica spectrum disorder	2021	2020
Eptinezumab and Fremanezumab	Migraine prevention	2022	2020
Inebilizumab	Neuromyelitis optica spectrum disorders	EC decision pending	2020
Teprotumumab,	Thyroid eye disease	NA	2020
Evinacumab	Homozygous familial hypercholesterolemia	2021	2021
Tralokinumab,	Atopic dermatitis	2021	2021
Anifrolumab,	Systemic lupus erythematosus	2022	2021
Atoltivimab, maftivimab, and odesivimab-ebgn	Ebola virus infection	NA	2020
Ansuvimab-zykl	Ebola virus infection	NA	2020
Aducanumab, aducanumab-a	Alzheimer's disease	Neg. opinion	2021
Bimekizumab	Psoriasis	2021	In review
Tezepelumab, tezepelumab-ekko	Severe asthma	In review	2022
Faricimab	Neovascular, age-related macular degeneration, diabetic macular edema	Approved	2022
Sutimlimab	Cold agglutinin disease	In review	2022
Lecanemab	Alzheimer's disease	NA	In review
Inolimomb	Graft vs. host disease	NA	In review
Spesolimab	Generalized pustular psoriasis	In review	In review
Teplizumab	Type 1 diabetes	NA	In review
Donanemab	Alzheimer's disease	NA	In review
Nirsevimab	RSV infection		2022
Narsoplimab	Hematopoietic stem cell transplant-associated thrombotic microangiopathies	NA	In review

Referenza: <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/>

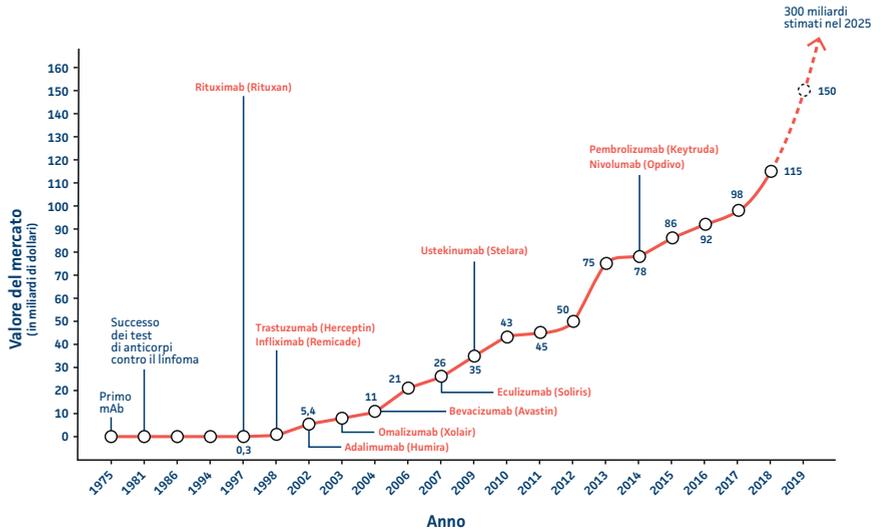


Figura C.4: sequenza temporale che mostra il grande incremento che ha subito lo sviluppo delle terapie a base di anticorpi monoclonali negli ultimi 15-20 anni

Uno degli aspetti più innovativi degli anticorpi monoclonali è il loro impiego come profilassi di malattie infettive. Solo a titolo di esempio, è recentissima l'approvazione FDA/EMA di un monoclonale per la profilassi dell'infezione da Virus Respiratorio Sinciziale nei neonati (nirsevimab, monodose a lunga durata d'azione, che si affianca al meno recente palivizumab), di una combinazione di monoclonali per la prevenzione e profilassi per COVID19 nei soggetti fragili (tixagevimab-cilgavimab; verranno trattati nel dettaglio nel capitolo dedicato a questa patologia) e di anticorpi monoclonali diretti contro diversi epitopi di HIV (broadly neutralizing antibodies) in studio sia come terapia sia come profilassi pre-esposizione.

Numerosi anticorpi monoclonali sono stati sviluppati e, soprattutto, sono in sviluppo clinico, per diverse malattie infettive.

## D. Malattie neurologiche

Le patologie neurologiche presentano un elevato burden di malattia in tutto il mondo. Come per le malattie oncologiche, infatti, fattori epidemiologici e demografici, positivamente associati al progresso terapeutico, hanno portato a un aumento della loro prevalenza.

I disturbi neurologici sono attualmente la prima causa di disabilità e la seconda causa di morte in tutto il mondo. Negli ultimi 30 anni, il numero assoluto di morti e di persone con disabilità a causa di malattie neurologiche è aumentato notevolmente, soprattutto nei Paesi a basso e medio reddito (a seguito dell'aumento dell'aspettativa di vita). In particolare, in questo lasso di tempo, il numero assoluto di morti è aumentato del 39% e i Disability-Adjusted Life Years (DALYs, la somma degli anni di vita persi e degli anni vissuti con disabilità) sono aumentati del 15%. Numerose patologie sono responsabili di questo elevato burden: la Malattia di Alzheimer, ad esempio, è responsabile del 10,4% di tutte le morti imputabili alle malattie neurologiche, secondo solo all'ictus cerebrale (64,4% del totale). La malattia di Alzheimer è la forma più comune di demenza, corrispondente a circa il 60-70% del totale. Al 2020 le demenze affliggono più di 55 milioni di persone in tutto il mondo e si stima che tale dato salirà a 78 milioni nel 2030 e a 139 milioni nel 2050. Gran parte dell'aumento avverrà nei Paesi a basso e medio reddito, dove attualmente è localizzato il 60% delle persone con demenza. Tale aumento è dovuto anche alla crescita più rapida della popolazione anziana che avviene in questi Paesi. Oltre l'impatto sanitario, tali malattie presentano un elevato burden economico: nel 2019, il costo sociale globale stimato della demenza era di 1,3 trilioni di dollari, e si prevede che questi costi supereranno i 2,8 trilioni di dollari entro il 2030.

L'emicrania, invece, presenta un elevato burden di disabilità (16,3% del totale, seconda solo all'ictus cerebrale), correlato anche alla sua elevata diffusione: soffrono di questa malattia, infatti, 1,9 miliardi di persone nel mondo, e si stima che nel 2016 essa abbia causato 45,1 milioni di anni di vita persi per disabilità (un aumento del 51-52% rispetto al 1990).

Infine, alcune patologie come la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA) e la sclerosi multipla risultano particolarmente invalidanti e con un esito progressivamente nefasto: considerando la SLA, l'incidenza è di circa 1-2,6 nuovi casi all'anno su 100.000 persone, mentre la prevalenza è di circa 6 casi su 100.000. L'età media di insorgenza è di 58-60 anni e la sopravvivenza media dall'insorgenza è di 3-4 anni. Un'incidenza simile si riscontra nella sclerosi multipla, con circa 2,1 casi per 100.000 persone ogni anno. Tuttavia, la prevalenza risulta nettamente maggiore e pari a 43,95 su 100.000, e in costante aumento: si stima, infatti, che al 2020 ci sia stato un incremento di circa il 50% rispetto al 2013. Considerando la distribuzione geografica, la sclerosi multipla presenta un'elevata prevalenza in Europa (142,81 casi su 100.000), mentre i valori minori si osservano nella regione OMS del Pacifico Occidentale (4,79 casi su 100.000). Risulta dunque evidente il burden delle malattie neurologiche e del progressivo aumento della loro prevalenza nel corso dei prossimi anni. La ricerca di nuovi approcci terapeutici, dunque, rappresenta uno strumento fondamentale per cercare di trovare nuove terapie che possano guarire i pazienti e migliorarne la qualità di vita.

Dato l'elevato burden di malattia, nel corso degli ultimi anni sono stati condotti numerosi studi, molti dei quali ancora in corso, al fine di identificare terapie mirate e personalizzate per il trattamento dei pazienti affetti da disordini neurologici. Dunque, come per l'oncologia, seppur in misura minore, sono in corso di sperimentazione

farmaci sempre più mirati che permettano di trattare le diverse condizioni in modo più efficace e sicuro, consentendo la guarigione o comunque aumentando la speranza di vita libera da progressione e migliorando la qualità di vita dei pazienti. Oltre alle terapie standard, dunque, sono disponibili (e in corso di sperimentazione) alcuni farmaci che prevedono un meccanismo d'azione differente, come ad esempio gli anticorpi monoclonali (mAbs).

## EMICRANIA

Erenumab è stato il primo mAb approvato (2018) dalla FDA e dall'EMA per il trattamento dell'emicrania cronica o episodica. Questo farmaco ha come bersaglio il recettore del peptide correlato al gene della calcitonina (CGRP), una piccola proteina che interviene nella trasmissione del dolore. L'iperattività di questo recettore, coinvolto nella vasodilatazione, è infatti un meccanismo noto alla base dell'insorgenza dell'emicrania: questa proteina è liberata dalle terminazioni del nervo trigemino, che innervano i vasi sanguigni delle meningi, causandone la dilatazione e determinando l'insorgenza del dolore. Gli anticorpi monoclonali hanno l'obiettivo di bloccare l'azione del CGRP, evitando sia l'infiammazione che la dilatazione dei vasi sanguigni. È una notizia, questa, estremamente positiva, perché il 30% – 40% di chi soffre di emicrania termina la cura con i precedenti farmaci, per via di effetti collaterali o eventi avversi. In particolare, erenumab è attualmente indicato in pazienti che presentano più di 4 giorni di emicrania al mese. Recentemente (gennaio 2022) è stato pubblicato un ulteriore lavoro che ha valutato l'efficacia e la sicurezza di erenumab in pazienti con emicrania con e senza aura. In particolare, l'analisi di 4 studi clinici randomizzati che hanno coinvolto 2682 pazienti ha mostrato come il trattamento con erenumab è associato a una ridotta frequenza di emicrania e a un minor numero di giorni di utilizzo di farmaci specifici per l'emicrania acuta in pazienti con emicrania con e senza aura. Inoltre, non sono state osservate differenze nei profili di sicurezza dei pazienti in entrambi i gruppi, confermando dunque la possibilità di usare tale farmaco nel trattamento di questo disturbo.

Successivamente galcanezumab, fremanezumab ed eptinezumab sono stati approvati (2018, 2018 e 2020) per il trattamento dell'emicrania. Tali farmaci agiscono con un meccanismo d'azione simile ad erenumab; tuttavia, in questo caso il bersaglio è direttamente CGRP. Anche per questi farmaci sono in corso ulteriori trial per verificarne in modo ancora più accurato efficacia e sicurezza.

Per quanto riguarda gli antagonisti del CGRP il precursore è l'olcegepant (approvato nel 2004 ma poi sempre meno usato per i numerosi effetti collaterali), agiscono impedendo il legame tra CGRP e il recettore. Fanno parte di questa classe anche telcagepant, MK-3207, BI44370 e BMS-927711, che, nonostante abbiano dimostrato una significativa efficacia, sono poco usati a causa dell'insorgenza di epatotossicità in seguito a terapia cronica. Sono in corso due sperimentazioni, di cui sono già disponibili i primi dati, su antagonisti del CGRP: atogepant e ubrogepant. L'efficacia di atogepant è stata valutata in uno studio pilota in 873 pazienti con emicrania. Dopo 12 settimane, i pazienti assegnati all'atogepant mostravano meno giorni di emicrania al mese rispetto a quelli assegnati al placebo, ed erano anche più propensi a raggiungere almeno il 50% di riduzione del numero medio di tre mesi di giorni di emicrania mensile. Simili risultati sono stati ottenuti nel trial Achive-1, che ha valutato l'efficacia di ubrogepant. In particolare, su 1327 pazienti adulti con una storia di emicrania, ubrogepant ha raggiunto gli obiettivi primari di efficacia,

con una percentuale significativamente maggiore di pazienti che hanno ottenuto libertà dal dolore 2 ore dopo la dose iniziale rispetto al placebo, e una percentuale significativamente maggiore di pazienti con assenza dei sintomi più fastidiosi associati all'emicrania, sempre 2 ore dopo la dose iniziale, rispetto al placebo. Tali dati sono dunque promettenti e rappresentano un importante traguardo nello sviluppo di nuovi farmaci per il trattamento dell'emicrania.

### **SCLEROSI MULTIPLA (SM)**

Le terapie con anticorpi monoclonali hanno progressivamente assunto un ruolo fondamentale nel trattamento delle forme recidivanti e progressive della sclerosi multipla, grazie alla loro provata efficacia e sicurezza. Attualmente sono stati approvati cinque mAbs per il trattamento di diverse forme di questa malattia.

Natalizumab è il primo anticorpo monoclonale, approvato (2004), che ha come bersaglio l'integrina  $\alpha 4\beta 1$ , espressa sui globuli bianchi coinvolti nel processo infiammatorio. Il legame con l'integrina riduce l'infiammazione e il conseguente danno nervoso. Dieci anni dopo (2014) è stato approvato alemtuzumab, che in studi randomizzati e controllati di fase 3 ha mostrato superiorità rispetto all'interferone beta-1a per il trattamento di prima e seconda linea. Infine, tre mAbs anti CD-20 sono oggi usati nel trattamento della SM: rituximab, ocrelizumab, and ofatumumab hanno infatti dimostrato un'elevata efficacia nella soppressione dell'attività infiammatoria della malattia nella SM remittente recidivante in studi clinici di fase II e III. Poiché non vi è alcun autoanticorpo patologico noto associato alla SM, probabilmente agiscono sulle cellule B con un'azione che interferisce con la secrezione di citochine, la presentazione dell'antigene, l'inibizione della struttura linfoide meningea e altri meccanismi immunomodulatori. In particolare, nonostante l'efficacia clinica (seppur dimostrata in uno studio svedese retrospettivo), rituximab è usato off label nel trattamento della SM, mentre ofatumumab è stato approvato dall'FDA (2020) e dall'EMA (2021) in seguito all'elevata efficacia dimostrata in due studi pilota di fase III (ASCLEPIOS I e ASCLEPIOS II) randomizzati, in doppio cieco, in pazienti con forme recidivanti di SM di età compresa tra 18 e 55 anni. Ocrelizumab, invece, è stato approvato nel 2017 per il trattamento delle forme recidivanti di SM. Infine, sono in corso alcuni studi per valutare l'efficacia e la sicurezza di nuovi farmaci per il trattamento della SM, come elezanumab e ublituximab. Elezanumab è un farmaco Anti-RGMA (Anti-Repulsive Guidance Molecule-a) la cui sperimentazione si trova attualmente in fase II. Si tratta di uno studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, a dosi multiple come terapia in aggiunta allo standard di cura nelle forme recidivanti di SM. Ublituximab, invece, ha come bersaglio il CD-20 e la sua sperimentazione si trova attualmente in fase III, avendo riportato dati incoraggianti nelle precedenti fasi. Infine, sono in sviluppo clinico avanzato anche farmaci chimici come il fenebrutinib.

### **MALATTIA DI ALZHEIMER**

La Malattia di Alzheimer rappresenta la forma più frequente di demenza al mondo. Si tratta di una condizione progressivamente invalidante che insorge in età adulta (più frequentemente oltre i 65 anni) e che spesso causa la morte del paziente. La prevalenza di persone affette da tale patologia è in costante aumento, presentando dunque un burden di malattia elevato, tanto in termini di mortalità, quanto di qualità della vita e disabilità. La malattia determina la progressiva morte delle cellule del sistema nervoso centrale, con accumulo extracellulare di placche formate da peptide  $\beta$ -amiloide e l'accumulo intracellulare di proteina tau iperfosforilata, che

forma ammassi neurofibrillari. Nonostante nel corso del tempo sia aumentata la conoscenza circa l'eziologia e il decorso (anche biologico e istologico) della malattia, attualmente non esiste una terapia farmacologica specifica. Prevalentemente, infatti, sono usati farmaci che consentono di alleviare i sintomi e di rallentare, ma non bloccare, la progressione della patologia. Sono dunque usati gli inibitori della acetilcolinesterasi (donepezil, rivastigmina, galantamina, prevalentemente nelle forme lievi), la memantina (antagonista dei recettori NMDA del glutammato, usata nelle forme avanzate) e altri farmaci per il trattamento delle manifestazioni cliniche (ad esempio gli antipsicotici). Dato l'elevato burden della malattia e l'assenza di una terapia specifica, negli ultimi anni sono stati fatti molti sforzi per identificare dei farmaci che possano avere un effetto curativo, utilizzando le nuove terapie, come gli anticorpi monoclonali. Tali farmaci, infatti, possono impedire che la  $\beta$ -amiloide si raggruppi in placche, oppure possono rimuovere le placche già formate.

In questo contesto, nel 2021 la FDA ha approvato aducanumab per il trattamento di alcuni casi di Malattia di Alzheimer. Si tratta del primo farmaco specifico per la patologia, che permette di attaccare e rimuovere le placche amiloidi nel cervello. Tuttavia, è importante sottolineare che tale approvazione è avvenuta a condizione che vengano condotti ulteriori studi per confermare il beneficio del farmaco e senza una specifica indicazione riguardo a quali pazienti possano beneficiare della terapia. Inoltre, pochi mesi dopo l'approvazione negli USA, l'EMA ha rigettato la richiesta di approvazione di aducanumab in Europa. Secondo l'EMA, infatti, il legame tra il farmaco e il miglioramento clinico non era stato stabilito in modo chiaro e supportato da evidenze scientifiche solide, con risultati contrastanti che non hanno infatti dimostrato una reale efficacia nel trattamento dei pazienti con Malattia di Alzheimer allo stadio iniziale.

Oltre a aducanumab, sono in corso di sperimentazione altri mAbs per il trattamento specifico della malattia, come il ganterenumab.

Infine, crenezumab riconosce con alta affinità le forme multiple di  $\beta$ -amiloide aggregato, comprese le specie oligomeriche e fibrillari e le placche amiloidi e, con bassa affinità, il peptide  $\beta$ -amiloide monomero. Dopo aver mostrato esiti positivi circa la sicurezza nei primi trial di fase I, la successiva sperimentazione (4 trial di fase II) è cominciata nel 2011, mentre tra il 2016 e il 2021 è stato condotto uno studio di fase III che ha coinvolto 750 pazienti. Tuttavia, in questo studio (CREAD) il gruppo di trattamento e il gruppo di controllo hanno riportato risultati identici sugli esiti primari e secondari, senza evidenziare dunque un reale beneficio ed efficacia del farmaco. Al momento in cui si scrive è ancora in corso un unico studio di fase II in cui si confronta crenezumab con il placebo per evitare il declino cognitivo e influenzare i biomarcatori dell'Alzheimer nei portatori presintomatici di mutazioni autosomiche dominanti della presenilina.

Un altro farmaco che agisce in modo simile è lecanemab, che riconosce le placche di  $\beta$ -amiloide favorendone la rimozione. Dopo aver ottenuto dati solo in parte favorevoli nei trial di fase II, è attualmente in corso (periodo di studio previsto 2020-2027) uno studio multicentrico di fase III su pazienti con Malattia di Alzheimer sintomatica in fase iniziale. Tale studio prevede il reclutamento di più di 1500 pazienti in oltre 250 diverse aree geografiche, al fine di valutare l'efficacia nel farmaco in termini di riduzione della  $\beta$ -amiloide a livello cerebrale. Contestualmente, nel 2021 l'FDA ha iniziato a valutare l'efficacia del farmaco e l'immissione in commercio accelerando la revisione normativa.

Anche donanemab è attualmente in fase di revisione presso l'FDA. Recentemente (2021) sono stati pubblicati i risultati di uno studio di fase 2 per valutare efficacia e sicurezza di donanemab in pazienti con Malattia di Alzheimer sintomatica precoce che avevano depositi di proteina tau e  $\beta$ -amiloide. La sperimentazione ha coinvolto in totale 257 pazienti, di cui 131 sono stati assegnati al gruppo di studio e 126 al gruppo di controllo con placebo. Dopo circa 17 mesi i risultati per la maggior parte degli esiti secondari non hanno mostrato alcuna differenza sostanziale. Tuttavia, il trattamento ha prodotto un migliore punteggio composito per la cognizione e per la capacità di svolgere le attività della vita quotidiana rispetto al placebo. È attualmente in corso un altro studio (fase III) che coinvolge circa 1500 pazienti per confrontare il trattamento con aducanumab e quello con donanemab nella capacità di rimozione completa della placca  $\beta$ -amiloide. La sperimentazione, che coinvolge 33 sedi negli Stati Uniti, dovrebbe proseguire fino alla metà del 2023.

Infine, solanezumab è un anticorpo diretto contro un dominio specifico della  $\beta$ -amiloide, riconoscendone la componente non fibrillare. Tale farmaco può esercitare un beneficio sequestrando la  $\beta$ -amiloide e rimuovendone le piccole specie solubili tossiche. Nel corso del tempo (a partire dal 2006) sono stati condotti 9 studi (fase II e fase III) per valutare l'efficacia di questo farmaco, mentre due studi di fase III sono ancora in corso. Tuttavia, nonostante i diversi endpoint primari e i diversi dosaggi e schemi terapeutici, in nessun trial solanezumab ha dimostrato di favorire la regressione delle placche di  $\beta$ -amiloide.

Nonostante gli enormi sforzi compiuti negli ultimi anni, l'obiettivo di trovare una terapia specifica e mirata per la Malattia di Alzheimer è dunque ancora lontano. L'uso di diversi anticorpi monoclonali non ha infatti portato all'identificazione di una terapia efficace, mentre sono necessarie numerose verifiche e conferme per l'unico mAb attualmente approvato dall'FDA, aducanumab. Attualmente, dunque, dati i risultati non entusiasmanti ottenuti con mAbs diretti contro la  $\beta$ -amiloide, sono in corso anche sperimentazioni di fase II con mAbs diretti contro la proteina tau (semorinemab e tilavanemab). È indubbio che i progressi terapeutici saranno condizionati dal riconoscimento della reale patogenesi della malattia, della quale restano ancora troppe questioni aperte (tra cui il ruolo della beta-amiloide).

### **ALTRE MALATTIE NEUROLOGICHE**

La ricerca di terapie specifiche e mirate per il trattamento di numerose malattie neurologiche è attualmente in corso. Sono di seguito riportati i trattamenti più innovativi recentemente approvati oppure in corso di sperimentazione per alcune delle più frequenti e/o invalidanti malattie neurologiche.

Nel gennaio 2022 sono stati pubblicati i dati preliminari di uno studio che ha sperimentato su modelli animali un possibile agente terapeutico per il trattamento della Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), patologia neurodegenerativa che porta alla progressiva morte dei motoneuroni. Tale malattia è attualmente incurabile e gli unici trattamenti disponibili sono rappresentati da terapie di supporto. In particolare, lo studio ha mostrato come la somministrazione di ION363, un oligonucleotide antisense FUS, silenzi efficacemente la proteina FUS, geneticamente e patologicamente associata a forme rare e aggressive di SLA e demenza frontotemporale. Tale oligonucleotide ha ridotto la concentrazione della proteina FUS nel cervello e nel midollo spinale, ritardando la degenerazione dei motoneuroni.

Questi dati incoraggianti hanno portato alla sperimentazione su un paziente con SLA con una mutazione, evidenziando anche in questo caso la marcata riduzione degli aggregati di FUS. Sulla base di tali evidenze preliminari, è stata avviata una sperimentazione di fase III (FUSION), per trattare 64 pazienti in tutto il mondo, che dovrebbe durare fino a marzo 2024.

Altre sperimentazioni sono in corso per il trattamento della Miastenia Gravis (MG), malattia neuromuscolare caratterizzata da affaticamento muscolare e faticabilità dovuti alla compromissione della normale trasmissione dei segnali contrattili tra nervi e muscoli. Come per molte altre malattie neurologiche, attualmente per la MG non esistono terapie specifiche, ma esclusivamente trattamenti di supporto che permettono di controllare e ridurre la sintomatologia (come gli inibitori della colinesterasi e i cortisonici). Sono dunque in corso delle sperimentazioni per identificare mAbs in grado di guarire i pazienti affetti da MG. In particolare, ravulizumab (un inibitore della proteina C5 del complemento usato nel trattamento dell'emoglobinuria parossistica notturna e della sindrome emolitico-uremica) è attualmente sperimentato, in fase III, per trattamento di 175 pazienti in Nord America, Europa, Asia-Pacifico e Giappone.

Recentemente sono stati approvati tre mAbs per il trattamento del disturbo dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD). Si tratta di una patologia demielinizante autoimmune (presenza di autoanticorpi diretti contro la proteina acquaporina 4, espressa principalmente dagli astrociti) che colpisce prevalentemente il nervo ottico e il midollo spinale, con una sintomatologia simile alla sclerosi multipla. La NMOSD è una malattia progressiva e invalidante per la quale, fino a poco tempo fa, non esisteva una terapia specifica, ma solo sintomatologica e degli attacchi acuti. L'approvazione di eculizumab, inebilizumab e satralizumab ha cambiato l'approccio terapeutico alla NMOSD. In particolare, eculizumab (approvato dall'FDA per tale malattia nel 2019) è un inibitore della proteina C5 del complemento che ha mostrato un'efficacia del 94% nel ridurre le riacutizzazioni della NMOSD rispetto al placebo. Inebilizumab, approvato nel 2020, ha mostrato una riduzione delle riacutizzazioni del 77% rispetto al gruppo di trattamento con placebo. Tale farmaco agisce in modo differente, avendo infatti come bersaglio il CD-19 espresso dalle cellule B. Infine, satralizumab è stato approvato nel 2020, quando i dati provenienti da due trial clinici di fase III hanno mostrato una riduzione del 75% del rischio di riacutizzazione. Tale farmaco ha come bersaglio molecolare il recettore della interleuchina 6 (IL-6). IL-6, infatti, è un agente proinfiammatorio la cui concentrazione è particolarmente elevata nel liquido spinale dei pazienti durante attacchi acuti di NMOSD. In questo modo, dunque, viene bloccato il processo infiammatorio alla base della patologia, con riduzione della sintomatologia e del rischio di riacutizzazione.

## E. Vaccini

### LO STRAORDINARIO IMPATTO DEI VACCINI

I vaccini hanno trasformato la Sanità Pubblica, in particolare da quando, negli anni '60, sono stati istituiti e coordinati programmi nazionali di immunizzazione. Nei Paesi con un'elevata copertura dei programmi vaccinali, cioè quelli più ricchi, molte delle malattie che prima erano responsabili della maggior parte dei decessi infantili sono infatti sostanzialmente scomparse.

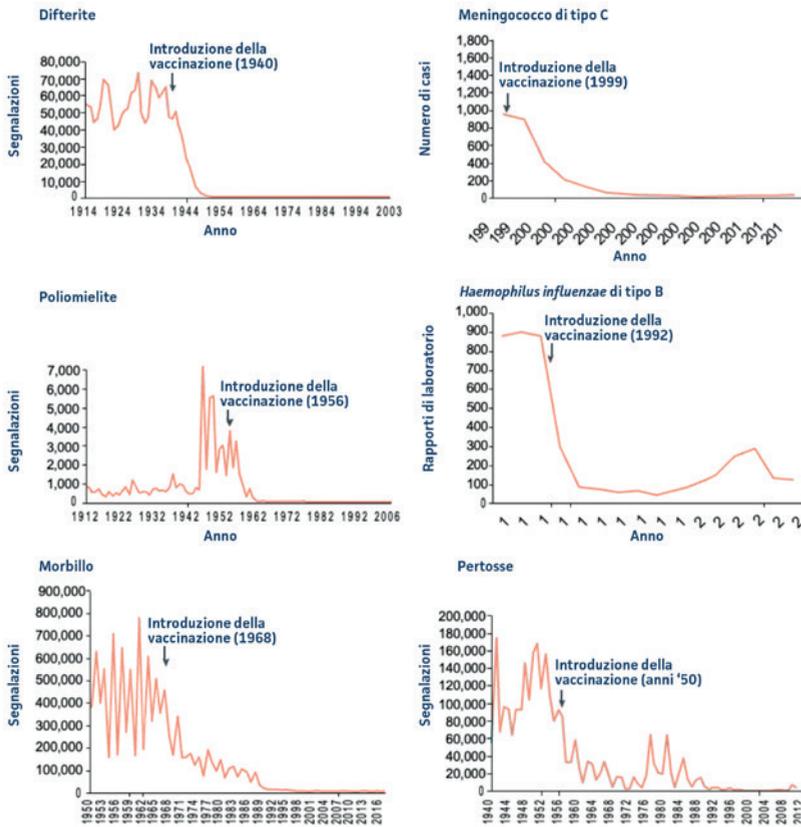


Figura E.1: straordinario effetto dell'introduzione dei vaccini, rispetto ai casi per anno, per alcune malattie infettive

L'OMS stima che 2-3 milioni di vite siano salvate ogni anno dagli attuali programmi di immunizzazione, contribuendo alla marcata riduzione della mortalità dei bambini di età inferiore ai 5 anni a livello globale, passata da 93 decessi per 1.000 nati vivi nel 1990 a 39 decessi per 1.000 nati vivi nel 2018. I vaccini sfruttano la straordinaria capacità del sistema immunitario umano, altamente evoluto, di rispondere e ricordare gli incontri con agenti patogeni. Tuttavia, per gran parte della storia, i vaccini sono stati sviluppati attraverso una ricerca empirica, senza migliorare appieno la comprensione delle basi immunologiche della vaccinazione; un elemento che però sarà fondamentale per sviluppare i vaccini del futuro, per esempio i vaccini contro agenti patogeni emergenti/riemergenti o difficili da colpire (come il *Mycobacterium tuberculosis*), e quelli contro virus patogeni antigenicamente variabili e difficilmente eradicabili (come l'HIV).

## I VACCINI DISPONIBILI E LA PIPELINE

Il numero di vaccini già disponibili per prevenire malattie infettive è sostanziale e l'impatto di Sanità Pubblica per molti di questi, elencati di seguito, è stato impressionante.

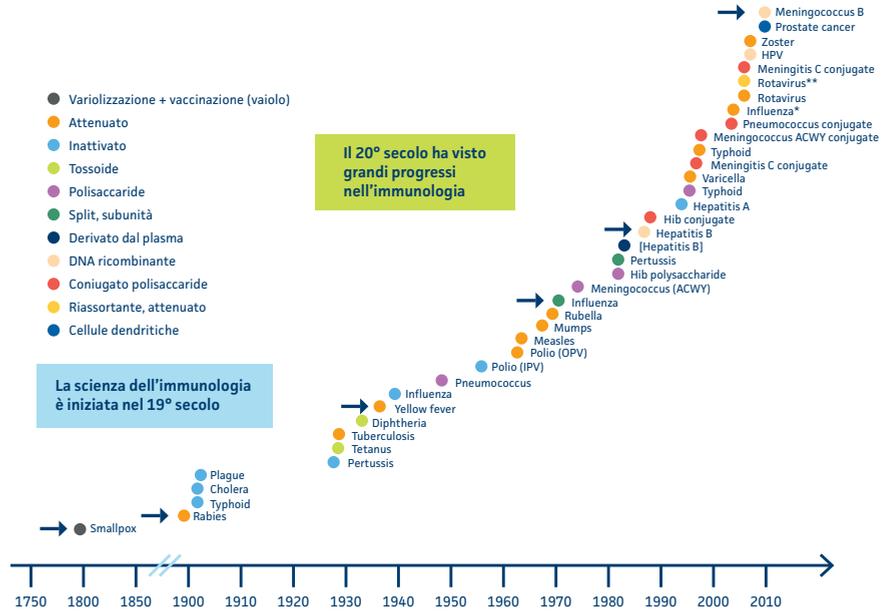


Figura E.2: sequenza temporale che indica lo sviluppo della vaccinologia, a partire dalla fine del 1700 e fino ad oggi, con indicata la data di produzione di alcuni dei principali vaccini

Senza tornare alla eradicazione del vaiolo nel 1980, occorre ricordare i 3 vaccini per ebola, il vaccino per la dengue, il vaccino per la meningite B, i vaccini contro HPV, i vaccini anti-pneumococco, il vaccino per la varicella e l'herpes zoster e, in prospettiva, i vaccini contro il Virus Respiratorio Sinciziale.

Quello che è importante sottolineare è il continuo miglioramento di alcuni di questi. In particolare, il perfezionamento dei due vaccini anti-pneumococco, con l'aggiunta di sottotipi, o dei vaccini per l'influenza, che sono continuamente aggiornati non solo sotto il profilo del ceppo virale circolante, ma che hanno anche subito importanti miglioramenti di forma farmaceutica in termini di adiuvante o quantità di antigene, in modo da adattarli alle diverse popolazioni candidate a riceverlo.

Miglioramenti sostanziali sono anche attesi per vaccini la cui attuale efficacia è relativa: parliamo ad esempio del vaccino per il colera, quello per la febbre tifoide, del vaccino antitubercolare, e di quello per la malaria. Oltre alla messa a punto di nuove formulazioni e di nuove combinazioni (ad esempio il nuovo esavalente pediatrico, che copre difterite, tetano, pertosse acellulare, polio inattivato, Haemophilus B, epatite B ricombinante), tra le "entrate" imminenti va senz'altro segnalato il vaccino per il Virus Respiratorio Sinciziale. La pipeline si sta anche spostando verso un vaccino per l'E. Coli enterotossico, lo streptococco di gruppo B (GBS) e A (GAS), l'herpes simplex, la Neisseria, i Norovirus.

Quello che è straordinario è il numero impressionante di vaccini in sviluppo preclinico e clinico. Da un rapporto dell'America's Biopharmaceutical Companies, si evince che oltre 260 vaccini sono in sviluppo, tra i quali anche alcuni vaccini terapeutici per il cancro e per malattie immunologiche e allergiche.

**A)** Inoltre, parlando dei vaccini che mancano del tutto, è necessario citare quello per HIV, sul quale si sta lavorando con studi che sono già in fase I. Con l'attenzione dell'OMS e di organizzazioni internazionali quali il CEPI e il GAVI, che si stanno concentrando anche verso patologie emergenti e riemergenti, come Nipah, Zika, Chikungunya, influenza aviaria e diverse febbri emorragiche (West Nile, Rift Valley, Marburg). Da ultimo, va segnalato il ruolo positivo che hanno le vaccinazioni nella prevenzione di fenomeni di resistenza antimicrobica, che sta purtroppo crescendo di anno in anno. Un ruolo fondamentale riconosciuto da Commissione Europea, Parlamento Europeo e Consiglio dell'Unione e su cui anche l'OMS ha recentemente assunto una posizione più decisa. I vaccini possono, infatti, ridurre l'antimicrobico-resistenza (della quale si parlerà estesamente nel secondo volume di questa trilogia - qui sotto la lista OMS dei patogeni resistenti più pericolosi) attraverso diversi meccanismi:

**B)** proteggendo direttamente l'individuo vaccinato, che non contrarrà l'infezione batterica e quindi quindi non dovrà usare l'antibiotico;

**C)** riducendo le infezioni virali, si limitano le eventuali infezioni batteriche secondarie associate, e anche l'uso non appropriato degli antimicrobici;

**D)** diminuendo la possibilità che la malattia si trasmetta nella popolazione non vaccinata, si riduce la probabilità di trasmissione del patogeno. È dato che nei pazienti in età pediatrica e/o geriatrica in particolare, l'infezione spesso porta all'ospedalizzazione, controllando l'infezione (sia virale sia batterica) si riduce la circolazione batterica in ambiente ospedaliero, prevenendo la diffusione di batteri resistenti;

**E)** proteggendo anche il microbioma dall'alterazione indotta dagli antibiotici ad ampio spettro e quindi dallo sviluppo di specie batteriche resistenti determinato dall'acquisizione di geni di resistenza da altri organismi presenti nel microbioma stesso.

Infine, quello che è emerso dai periodici rapporti dell'OMS è che non basta avere vaccini disponibili: occorre farli arrivare in ogni angolo del mondo, superando le intollerabili disegualianze di copertura vaccinale, soprattutto nei Paesi a basso e medio reddito. Ma questo aspetto verrà trattato più estesamente nel terzo volume di questa trilogia.

## I VACCINI PER COVID-19

La malattia causata dal coronavirus SARS-CoV-2 (denominata COVID-19) ha avuto un effetto catastrofico sulla demografia mondiale, causando più di 6 milioni di morti in tutto il mondo a partire da marzo 2020, emergendo come la crisi sanitaria globale più importante dall'epoca della pandemia influenzale del 1918. Dopo che i primi casi di questa malattia virale prevalentemente respiratoria sono stati segnalati a Wuhan, nella provincia cinese di Hubei, alla fine di dicembre 2019, la SARS-CoV-2 si è rapidamente diffusa in tutto il mondo in un breve lasso di tempo, costringendo l'OMS a dichiararla pandemia globale l'11 marzo 2020. Da quando è stata dichiarata pandemia globale, il COVID-19 ha devastato molti Paesi in tutto il mondo e ha travolto i loro sistemi sanitari.



Figura E.3: evoluzione dei casi giornalieri di COVID-19 da febbraio 2020 a settembre 2022 nel mondo.

La pandemia ha anche causato gravi perdite economiche a causa di prolungate interruzioni delle attività produttive e commerciali, che hanno avuto un effetto a catena sull'economia globale. Anche se i progressi sostanziali nella ricerca clinica hanno portato a una migliore comprensione della SARS-CoV-2 e alla gestione della COVID-19, limitare la continua diffusione di questo virus e delle sue varianti è diventato un problema sempre più preoccupante.

Infatti, come altri virus a RNA, il SARS-CoV-2 sviluppa nel tempo mutazioni, che danno origine a varianti con caratteristiche diverse dai ceppi ancestrali. Nel corso di questa pandemia sono state descritte diverse varianti del SARS-CoV-2, tra le quali solo alcune sono considerate dall'OMS varianti preoccupanti (VOC), dato il loro impatto sulla salute pubblica globale. In base al recente aggiornamento epidemiologico dell'OMS, all'11 dicembre 2021 sono state identificate cinque SARS-CoV-2 VOC dall'inizio della pandemia. Purtroppo, nuove varianti stanno già emergendo, capaci potenzialmente di eludere le difese immunitarie indotte dai vaccini attualmente disponibili.

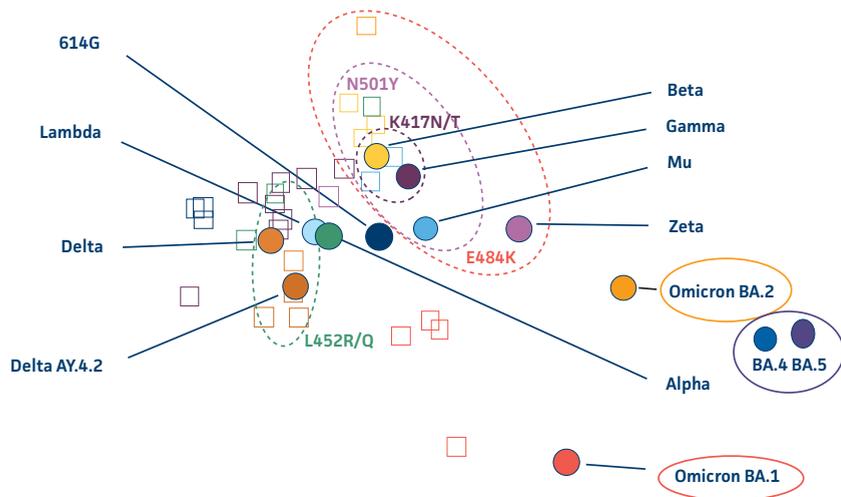


Figura E.4: albero genealogico delle varianti del virus SARS-CoV-2 descritte finora.

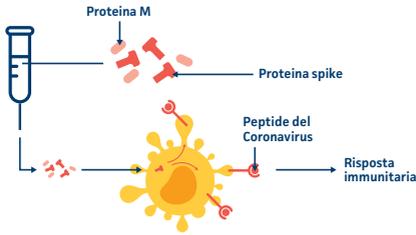
Fortunatamente, la comunità scientifica mondiale si è attivata ed è riuscita, in tempi mai visti prima, a sviluppare un numero impressionante di vaccini, molti dei quali sono stati approvati per uso emergenziale o addirittura approvati in via definitiva.

I vaccini COVID-19 sviluppati o in corso di sviluppo appartengono a diverse classi:

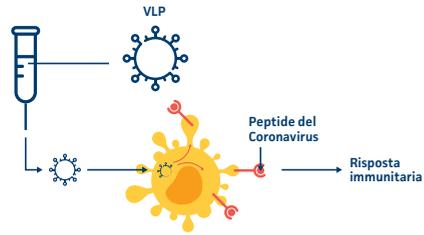
- **Vaccini virali inattivati:** prodotti coltivando il virus SARS-CoV-2 in colture cellulari e inattivandolo chimicamente.
- **Vaccini vivi attenuati:** prodotti generando una versione geneticamente indebolita del virus che si replica in misura limitata, non causando la malattia ma inducendo risposte immunitarie simili a quelle indotte dall'infezione naturale.
- **Vaccini proteici ricombinanti:** basati sulla proteina spike, o sul receptor binding domain (RBD) o su particelle simili a virus (VLP).
- **Vaccini a vettore virale:** tipicamente basati su un virus esistente (generalmente un adenovirus incompetente per la replicazione) che trasporta la sequenza del codice genetico che codifica per la proteina spike.
- **Vaccini a DNA:** basati su plasmidi, modificati in modo da trasportare geni che codificano in genere per la proteina spike che viene poi prodotta nell'individuo vaccinato.
- **Vaccini a RNA:** basati su RNA messaggero (mRNA) o su un RNA autoreplicante che fornisce l'informazione genetica per la proteina spike.

VACCINI BASATI SULLE PROTEINE

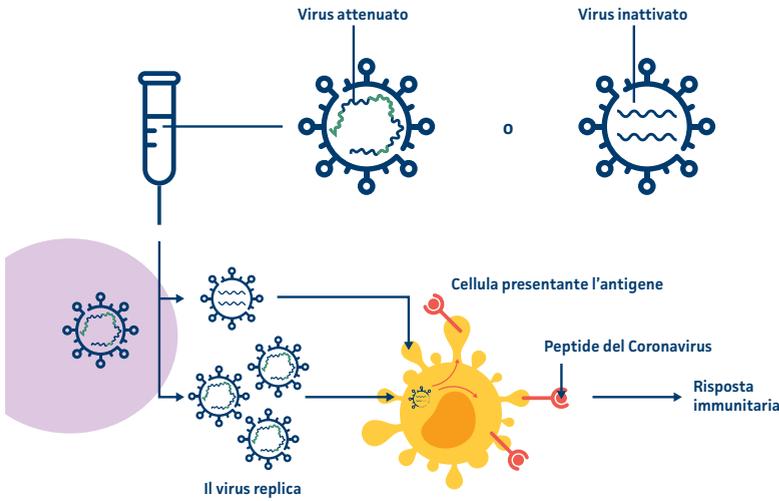
Subunità proteiche



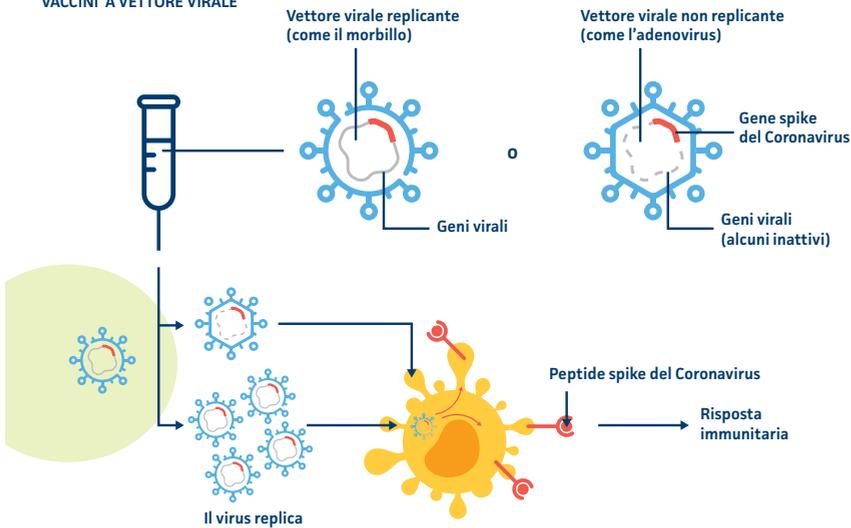
Particelle simil-virus (Virus-like Particles, VLP)



VACCINI BASATI SUL VIRUS



VACCINI A VETTORE VIRALE



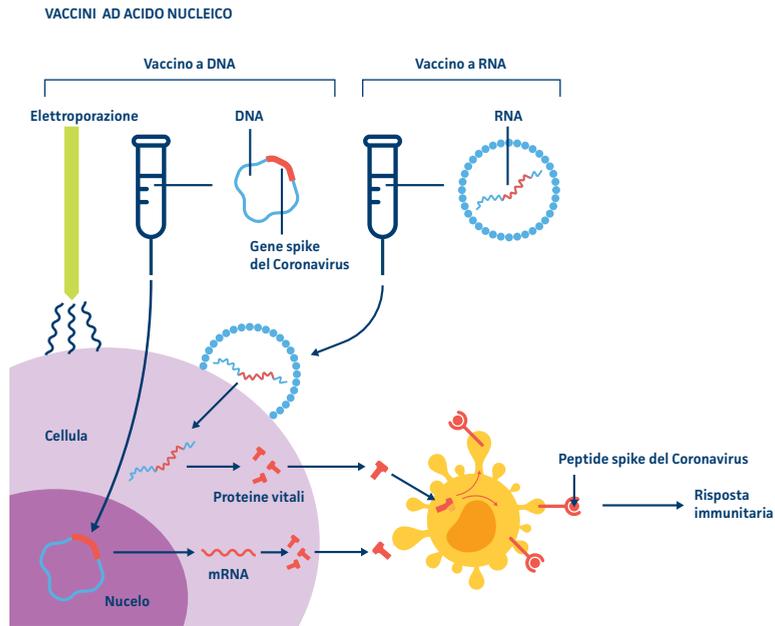


Figura E.6: meccanismi d'azione delle principali categorie di vaccini contro il SARS-CoV-2 attualmente a disposizione

Nel 2021, primo anno di distribuzione, i vaccini COVID-19 hanno salvato circa 20 milioni di vite: è quanto emerge dal documento di aggiornamento della strategia vaccinale globale dell'OMS. Grazie ad uno sforzo globale di dimensioni mai viste prima, a metà 2022 erano state somministrate oltre 12 miliardi di dosi a livello globale, in quasi tutti i Paesi del mondo, raggiungendo in media il 60% della popolazione globale.

Per quanto riguarda gli aspetti di sicurezza, dall'ultimo rapporto di sorveglianza disponibile (luglio 2022) dell'AIFA sulle reazioni avverse e sugli effetti indesiderati dei vaccini COVID-19 dal 27 dicembre 2020 al 26 giugno 2022, emerge un totale di 137.899 sospette reazioni avverse su 138.199.076 somministrazioni, pari allo 0,1% o a 100 casi su 100.000 somministrazioni. Di queste, 24.992, pari a 18,1 casi su 100.000, sono state classificate come gravi, ma solo il 32,6% sono sicuramente correlabili alla vaccinazione. I decessi complessivi sono stati 916 (0,66 per 100.000), di cui soltanto 29 decessi, pari a 0,2 casi per milione di somministrazioni o allo 0,00002%, sono sicuramente correlabili al vaccino sulla base della valutazione del nesso di causalità definito dall'algoritmo dell'OMS.

I vaccini che abbiamo a disposizione, pur non riuscendo ad abbattere la trasmissione di SARS-CoV-2 in modo significativo (nessuna immunità di gregge è possibile in questo caso) sono sicuramente efficaci per ridurre la progressione clinica. Anche i "vecchi vaccini" disegnati sulla "spike" del ceppo Wuhan, non sembrano ancora aver perso di efficacia. Tuttavia, non c'è dubbio che l'arrivo dei vaccini bivalenti, contenenti anche la codifica per la spike variante (oppure la stessa proteina variante) è assolutamente necessario, vista la relativa ma sostanziale diminuzione dei titoli neutralizzanti nelle persone vaccinate. Ci attende, indubbiamente, un'altra campagna vaccinale, diretta in primis ai soggetti più esposti e più fragili.

Questo veloce aggiornamento dei vaccini fa parte della straordinaria innovatività dei vaccini a RNA. Perché siamo passati dai vaccini "analogici" per i quali l'agente immunizzante doveva essere coltivato, raccolto, purificato, inattivato o attenuato,

ai vaccini analogici, per i quali basterà inviare attraverso il web la sequenza del gene che ci interessa per permettere la produzione di un vaccino. Siamo alle porte di un aggiornamento continuo dei vaccini a RNA che già abbiamo. E la loro approvazione, come già dichiarato da FDA ed EMA, intanto per un uso emergenziale, non necessiterà più di ripetere i lunghissimi studi clinici di efficacia. Un po' come succede con il vaccino influenzale, che viene aggiornato ogni anno con il ceppo circolante.

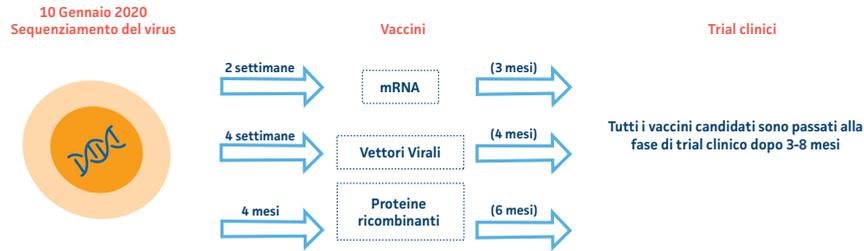


Figura E.7: le nuove tempistiche "accelerate" di produzione di vaccini anti COVID-19

In effetti, una grande innovazione, iniziata con i vaccini COVID-19, riguarda anche le procedure per l'approvazione da parte delle agenzie regolatorie.

Soprattutto per le approvazioni "condizionali" e "per l'uso in emergenza" (quindi in attesa dell'approvazione definitiva) le aziende produttrici e gli enti pubblici di ricerca hanno rivisto i piani di sviluppo clinico, mentre le agenzie hanno velocizzato i processi di revisione: i modelli di sviluppo "classici" di un vaccino, infatti, potevano prendere fino a 10-12 anni prima che il farmaco arrivasse ai cittadini, mentre i modelli "accelerati" hanno permesso di ottenere questi mezzi preventivi per COVID19 in tempi molto più brevi (mostrato nella figura seguente).

È evidente che questo cambio di passo servirà in futuro a velocizzare lo sviluppo di altri vaccini, soprattutto di quelli che ancora mancano.

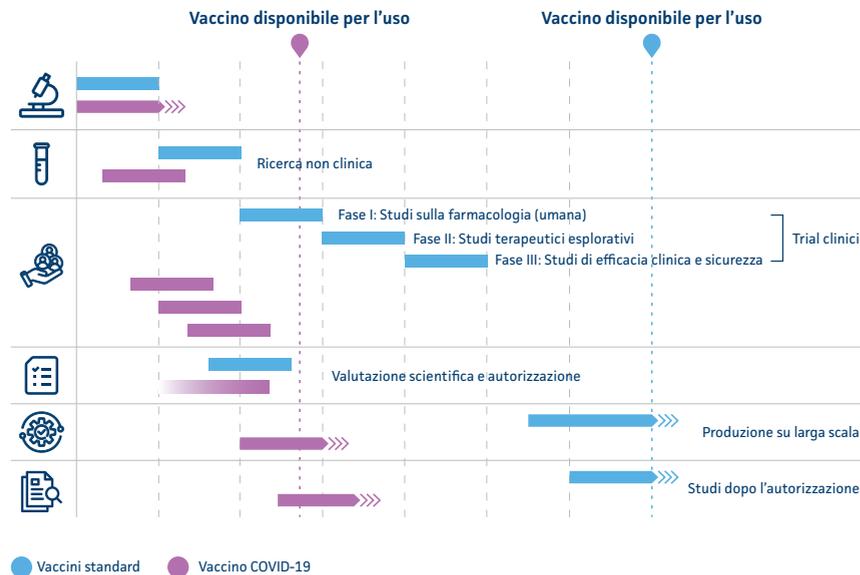


Figura E.8: il percorso finora usato (e i tempi) per lo sviluppo di un vaccino, confrontati con quelli dei vaccini anti COVID-19.

## F. Altre aree ad alta innovatività

### F.1 Small interfering RNA

La via dell'interferenza dell'RNA (RNAi) regola la stabilità e la traduzione dell'mRNA in quasi tutte le cellule umane. Si tratta quindi di un meccanismo "naturale" di regolazione dell'espressione genica. È stato scoperto, molti anni fa, che piccole molecole di RNA a doppio filamento possono innescare in modo efficiente il silenziamento di geni specifici, ma il loro uso terapeutico ha dovuto affrontare numerose sfide in termini di sicurezza e potenza. Tuttavia, l'agosto 2018 ha segnato una nuova era per il settore, con l'approvazione da parte della FDA di patisiran, il primo farmaco basato sulla tecnologia dell'interferenza della traduzione di uno specifico RNA messaggero.

#### COME FUNZIONA L'RNA INTERFERENZA

Gli short interfering RNA (siRNA), terapeuticamente traducibili come RNA interference, sono una classe di molecole di RNA a doppio filamento, lunghe tra i 19 e i 21, nucleotidi in grado di svolgere numerosi ruoli biologici. Più precisamente, gli siRNA riescono a interferire con l'espressione di specifici geni, grazie a sequenze nucleotidiche complementari. Queste degradano l'mRNA dopo la trascrizione, in modo tale da bloccare la traduzione dell'mRNA in proteine a livello dei ribosomi. Hanno un ruolo importante anche in altri processi legati alla RNAi, come alcuni meccanismi antivirali, o nel modellamento della struttura della cromatina. Il meccanismo esatto con cui agiscono questi processi sta avendo solo in questi ultimi anni una caratterizzazione completa ed esaustiva. Gli siRNA furono inizialmente individuati dal gruppo di ricerca di David Baulcombe a Norwich, come attori principali nel cosiddetto silenziamento genico post-trascrizionale nelle piante. Successivamente, nel 2001, siRNA sintetici sono stati utilizzati per indurre RNAi in cellule di mammifero da parte del gruppo di ricerca di Thomas Tuschl. I due ricercatori Andrew Fire e Craig Mello, hanno poi ricevuto il Nobel per la Fisiologia e la medicina nel 2006, per il loro lavoro sul silenziamento genico. Tutte queste scoperte hanno portato ad un interesse crescente per la RNAi e le sue possibili applicazioni in clinica.

Gli siRNA hanno una struttura ben definita, che consiste in un breve RNA a doppio filamento (RNAds), con due nucleotidi sporgenti ad ognuna delle due estremità 3'. Questa struttura è il risultato del processamento dell'enzima Dicer, che converte lunghe molecole di RNAds o shRNA (molecole di RNA che formano una forcina) in siRNA. Gli siRNA possono essere introdotti artificialmente dall'esterno attraverso specifici metodi di trasfezione, per indurre il silenziamento di geni specifici. In linea teorica, qualsiasi gene la cui sequenza sia nota può essere scelto come bersaglio di un siRNA. Questo ha reso gli siRNA uno strumento importante per studi sulla funzione genica e sullo sviluppo di nuovi farmaci.

La trasfezione di un siRNA esogeno può essere problematica, dal momento che il silenziamento genico è solo transiente, soprattutto in cellule a rapida crescita. Una modalità per superare questo problema consiste nell'introduzione nella cellula bersaglio di un vettore (come un plasmide) in grado di esprimere la molecola di siRNA desiderata. Ciò è possibile attraverso il design di vettori in grado di produrre molecole di RNAds contenenti una forcina (chiamati shRNA, small hairpin RNA): tali molecole hanno il vantaggio di essere trascritte esattamente come ogni altro RNA. Questi vettori sono infatti in grado di trascrivere gli shRNA attraverso promotori eucariotici specifici per la RNA polimerasi III che solitamente inducono la trascrizione dei piccoli RNA nucleari (o snRNA, dall'inglese small nuclear RNA) coinvolti nello splicing. Gli shRNA risultanti dalla trascrizione vengono processati a siRNA dalla RNAsi Dicer.

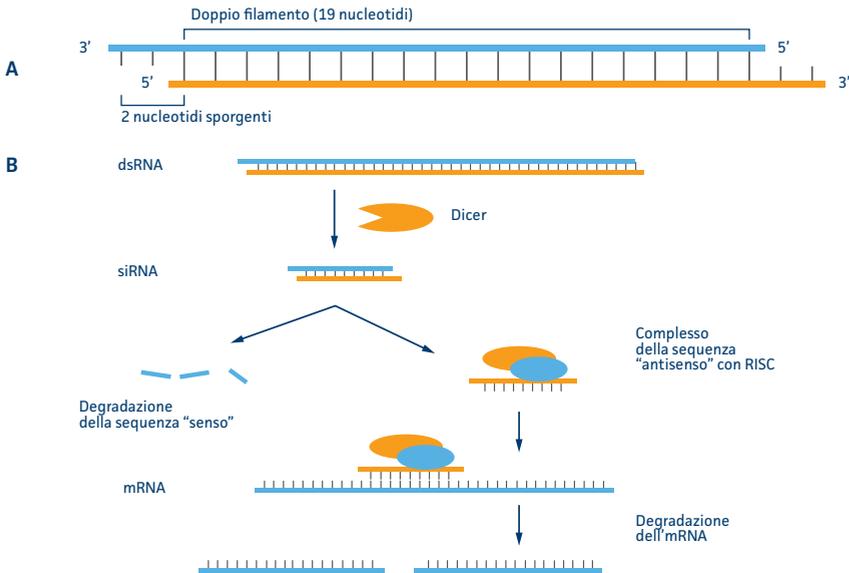


Figura F.1: la struttura di una molecola di short interfering RNA e il meccanismo di silenziamento genico

Gli RNAi si intersecano con diversi altri processi cellulari. Non è dunque sorprendente che l'introduzione di siRNA nella cellula possa indurre alcuni effetti non specifici. Una cellula di mammifero, ad esempio, può interpretare una molecola di RNAd come un composto di origine virale, avviando una risposta immunitaria. Inoltre, dal momento che i microRNA (molecole prodotte dalla cellula per regolare l'espressione genica) sono estremamente simili come struttura ai siRNA, sono possibili indesiderate interferenze anche con questo processo.

## CARATTERISTICHE CHIAVE DI UN APPROCCIO TERAPEUTICO RNAi

**1)** La capacità di sfruttare un percorso naturale.

L'RNAi è una via naturale coinvolta nella regolazione dell'espressione genica in tutte le cellule dei mammiferi ed è mediata da piccole molecole di RNA interferenti (siRNA). Sfruttando questa via biologica naturale, i farmaci RNAi possono essere facilmente progettati per essere altamente selettivi.

**2)** Il fatto di sfruttare un meccanismo catalitico.

Il complesso di silenziamento indotto dall'RNA (RISC) è un complesso enzimatico che media il silenziamento dell'mRNA mediante RNAi e che richiede un solo siRNA per tagliare un gran numero di mRNA bersaglio. In altre parole, le azioni di un siRNA sono catalitiche.

**3)** La capacità di colpire virtualmente qualsiasi proteina.

A differenza delle piccole molecole e degli anticorpi, è possibile progettare siRNA per il trascritto mRNA di qualsiasi gene. Questa capacità suggerisce la possibilità di sviluppare terapie RNAi per proteine che non rientrano nelle cosiddette "classi di bersagli farmacologici". Inoltre, alcune malattie possono essere causate dalla mutazione di una copia del materiale genetico (un singolo allele), nel qual caso un siRNA specifico può colpire la mutazione che causa la malattia e lasciare intatto l'allele normale. Si ritiene quindi che le terapie RNAi possano essere progettate per colpire qualsiasi gene del genoma coinvolto nella causa o nel percorso della malattia.

**4)** La possibilità di agire "a monte" dei farmaci attuali.

Le terapie RNAi in corso di sviluppo hanno il potenziale di bloccare la produzione delle proteine che causano le malattie, prevenendone l'insorgenza o agendo sulle loro cause, e non a livello di sintomi.

Con l'RNAi, si può ottenere un livello costante e regolabile di eliminazione delle proteine responsabili di molte malattie, indipendentemente dai livelli ematici circolanti, con un potenziale di controllo e intervento sulla patologia. Per analogia, l'approccio RNAi è simile a fermare un'alluvione "chiudendo il rubinetto" rispetto ai farmaci odierni che si limitano a "pulire il pavimento".

**5)** Semplificare la scoperta di candidati farmaci.

Si ritiene che l'identificazione di candidati farmaci appropriati possa essere più semplice utilizzando l'RNAi. I candidati terapeutici RNAi possono infatti essere identificati utilizzando strumenti bioinformatici per selezionare sequenze complementari all'mRNA bersaglio. Il processo di scelta di un candidato farmaco basato sull'RNAi prevede poi la sintesi e la sperimentazione di siRNA. Inoltre, i candidati siRNA possono essere progettati per essere attivi in un'ampia gamma di specie, semplificando potenzialmente la traduzione dei dati provenienti da studi effettuati su modelli animali alle applicazioni per le malattie umane. Inoltre, alcune modifiche chimiche possono essere applicate per conferire "proprietà simili a quelle di un farmaco" ai siRNA, rendendoli stabili quando vengono somministrati nel flusso sanguigno. Infine, gli approcci per la somministrazione dei farmaci RNAi sperimentali sono stati progettati per consentire un livello costante di silenziamento del gene bersaglio in organi specifici, come i geni espressi nel fegato. La relativa ottima sicurezza dei farmaci RNA attualmente approvati (vedi tabella seguente) fa quindi davvero ben sperare in questa nuova frontiera biotecnologica, che si sta cercando di applicare anche a diverse patologie tumorali.

Classe RNA	Molecola	Indicazione	Target (gene)	Target (organo)	Somministrazione
ASO	Mipomersen	Hypercholesterolemia,	Apolipoprotein B (ApoB) mRNA	Fegato	Sottocutanea
	Inotersen	Amiloidosi ereditaria (hATTR)	Hepatic transthyretin (TTR) mRNA	Fegato	Sottocutanea
	Nusinersen FDA 2916	Atrofia Muscolare Spinale (SMA)	Survival of motor neuron 2(SMN2) pre-mRNA splicing (exon 7 inclusion)	SNC	Intratecale
	Eteplirsen	Distrofia Muscolare di Duchenne	DMD pre-mRNA splicing (exon 51 skipping)	SNC	Intratecale
	Golodirsen	Distrofia Muscolare di Duchenne	DMD pre-mRNA splicing (exon 51 skipping)	Muscolo	Intravenosa
	Viltolarsen	Distrofia Muscolare di Duchenne	DMD pre-mRNA splicing (exon 53 skipping)	Muscolo	Intravenosa
	Casimerse	Distrofia Muscolare	DMD pre-mRNA	Muscolo	Intravenosa

Classe RNA	Molecola	Indicazione	Target (gene)	Target (organo)	Somministrazione
RNAi	Patisiran FDA 2018	Amiloidosi ereditaria	TTR mRNA	Fegato	Intravenosa
	Givosiran FDA 2019	Porfiria epatica acuta	Aminolevulinate synthase 1(ALAS1) mRNA	Fegato	Sottocutanea
	Lumasiran FDA 2020	Iperossaluria primitiva (PH1)	Hydroxyacid oxidase 1 (HAO1) mRNA	Fegato	Sottocutanea
	Inclisiran	Ipercolesterolemia	Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) mRNA	Fegato	Sottocutanea

## F.2. I farmaci antiretrovirali (la terapia per l'infezione da HIV)

### GLI INIZI DELLA PANDEMIA E IL RUOLO DELLA FARMACEUTICA

Sono passati più di quattro decenni dalla prima descrizione della Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS) nel 1981 e dalla scoperta, nel 1983, del virus responsabile, il virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Dieci milioni di persone si sono infettate nel corso del solo primo decennio e nel corso della seconda decade l'epidemia diventò esplosiva in certe aree del mondo, in particolare nell'Africa subsahariana. Oggi siamo a cento milioni di infezioni e 50 milioni di morti. Nel mondo occidentale, l'AIDS diventò rapidamente la prima causa di morte dei giovani. Nel frattempo, nei Paesi a basso e medio reddito, le infezioni, la mortalità e la trasmissione madre-bambino continuavano a crescere.

Nell'anno 2000, qualcosa cominciò a muoversi: l'International AIDS Society (IAS) riuscì a portare la Conferenza Mondiale sull'AIDS nel cuore dell'epidemia a Durban, in Sud-Africa. Nel 2001 l'Assemblea Generale delle Nazioni Unite approvò una storica Dichiarazione di Impegni nella quale i Capi di Stato e i rappresentanti dei Governi presenti all'Assemblea, assieme alla comunità internazionale, si impegnarono a dare una risposta globale ad una crisi che era diventata globale, e, soprattutto a trovare il modo di far arrivare i trattamenti anche nei Paesi in via di sviluppo. Vennero quindi creati importanti meccanismi finanziari di lotta all'AIDS quali il Global Fund to fight AIDS, Tuberculosis and Malaria (GFATM) e l'US President Emergency Plan for AIDS Response (PEPFAR), che sono tuttora una formidabile leva per mobilitare importanti finanziamenti per la lotta all'AIDS, anche grazie al movimento globale degli attivisti e delle persone affette da HIV che nacque in questi anni.

L'AIDS ha anche stimolato il fondamentale dibattito sui prezzi dei farmaci essenziali e ne ha cambiato le regole. A Doha, nel 2001, la World Trade Organization ha accettato il principio che i diritti di proprietà intellettuale potevano essere rinegoziati, di fronte a imponenti problemi di sanità pubblica nei Paesi più poveri. È stato l'inizio dell'introduzione dei farmaci generici per il trattamento dell'AIDS, cosa che ha permesso di far accedere a trattamenti salvavita milioni di pazienti dei Paesi a basso reddito, anche grazie a meccanismi di "voluntary licensing" dei brevetti da parte dell'industria farmaceutica.

In pratica, questa pandemia ha infranto i confini tradizionali tra la sanità pubblica e la medicina clinica, in particolare il divario tra prevenzione e cura delle malattie. Con l'AIDS quindi, le tradizionali dicotomie della medicina - medico/paziente, prevenzione/cura, Paesi sviluppati/Paesi in via di sviluppo, personale sanitario/comunità, ricerca/

attivismo – sono cadute. L'AIDS ha rimodellato le convenzionali conoscenze in materia di salute pubblica, pratiche di ricerca, atteggiamenti culturali e comportamenti sociali e ha dato origine ad un nuovo e rivoluzionario approccio alla salute e alla malattia. Fin dagli inizi, la risposta all'AIDS ha messo l'accento sui pazienti e ha posto le esigenze delle persone prima di tutto, rappresentando un punto di svolta per il riconoscimento della salute come un diritto umano: in pratica, grazie all'AIDS è stato inventato il concetto di "Salute Globale".

### LO STATO DELL'ARTE DELLA TERAPIA ANTIRETROVIRALE

Fino ai primi anni '90, i pazienti con HIV furono trattati con farmaci in monoterapia, in pratica con la famosa AZT (azidotimidina) una strategia che si rivelò rapidamente inutile perché non solo inefficace, bensì anche dannosa, a causa della capacità di HIV di mutare e diventare resistente.

Successivamente, a metà degli anni '90, successe una cosa raramente vista nella storia della medicina: la trasformazione di una malattia con decorso inevitabilmente fatale in una condizione cronica e trattabile: si capì, infatti, che il virus si replicava in miliardi di copie anche durante la fase clinicamente asintomatica dell'infezione, per cui occorreva una terapia combinata e potente. In effetti, nessuna malattia è curabile o trattabile senza la comprensione profonda dei suoi meccanismi patogenetici.

Una rivoluzione metodologica della sperimentazione dei farmaci antiretrovirali è stata la validazione della carica virale plasmatica come end-point surrogato della sopravvivenza: l'obiettivo della terapia diventò presto il raggiungimento di una carica virale plasmatica non più rilevabile.

Questo ha permesso di velocizzare la ricerca clinica e di mettere a punto combinazioni di nuovi farmaci antiretrovirali: la mortalità nei Paesi economicamente più avanzati cominciò a declinare e l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da HIV in terapia antiretrovirale diventò simile a quella delle persone non infette.

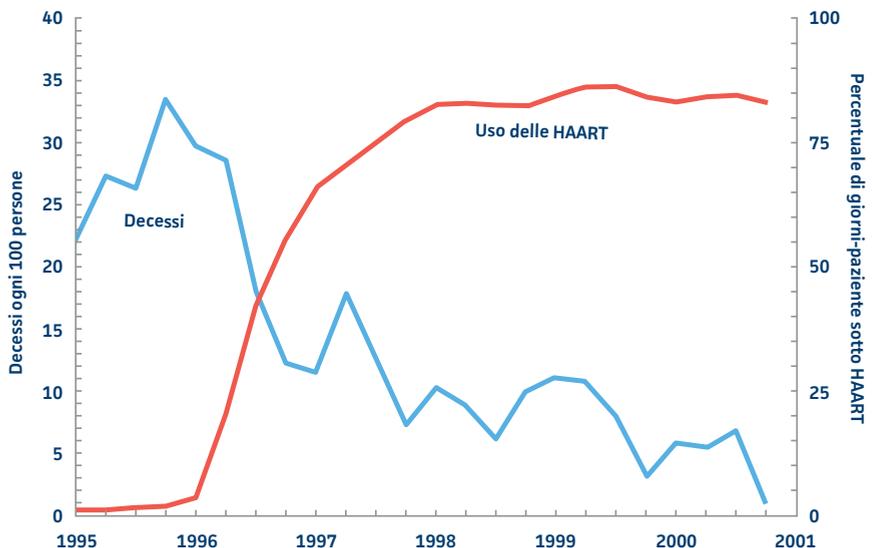


Figura F2.1: Straordinaria riduzione della mortalità per AIDS collegata all'introduzione delle terapie antiretrovirali combinate (HAART)

Oggi, tutte le linee guida internazionali raccomandano l'inizio immediato del trattamento antivirale, indipendentemente dal livello di compromissione del sistema immunitario, declinato in termini di numero di linfociti CD4+ (il bersaglio replicativo di HIV). E questo anche grazie alla scoperta che il trattamento antiretrovirale delle persone portatrici del virus impedisce la trasmissione del virus ai partner sessuali (si diffuse così il concetto del "trattamento come prevenzione").

Le linee-guida terapeutiche pubblicate su JAMA a luglio 1996, hanno avuto un impatto straordinario in termini di mortalità grazie all'introduzione della cosiddetta HAART, Highly Active Antiretroviral Therapy. In pratica, nelle nostre longitudini diventò sempre più difficile morire di AIDS.

Progressivamente, l'aspettativa di vita dei pazienti HIV in terapia antiretrovirale diventò paragonabile a quella delle persone non infette, mentre le linee guida internazionali raccomandarono l'inizio immediato del trattamento antivirale, anche grazie alla scoperta che il trattamento antiretrovirale delle persone portatrici del virus impedisce la trasmissione di HIV ai partner sessuali (il concetto straordinario del trattamento come prevenzione).

L'industria farmaceutica, dal 1990 ad oggi, è riuscita a produrre oltre 30 farmaci antiretrovirali, utilizzando i tanti "punti" della replicazione di HIV aggredibili farmacologicamente.

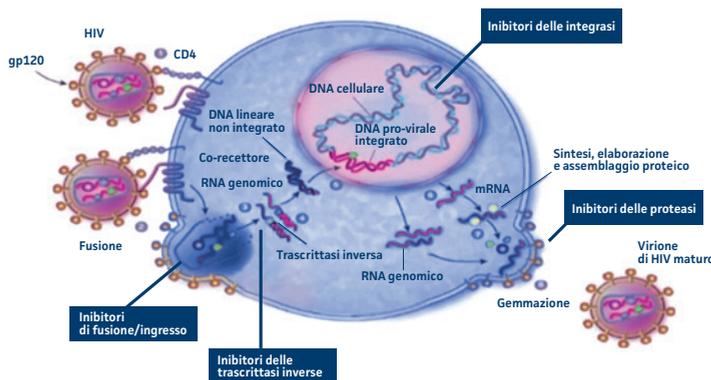


Figura F.2.2: alcuni dei punti della replicazione del virus HIV che possono essere bersaglio di una terapia farmacologica antiretrovirale

Ecco l'impressionante lista di farmaci antiretrovirali messi a punto dal 1990 in poi (in ordine alfabetico):

- abacavir, ABC
- abacavir/lamivudine, ABC/3TC
- abacavir/lamivudine/zidovudine, ABC/3TC/ZDV
- atazanavir ATV
- atazanavir/cobicistat, ATV/c
- bictegravir/tenofovir afenamida, BIC/FTC/TAF
- cabotegravir extended-release injectable suspension
- cabotegravir/rilpivirina (long acting combo)

- darunavir, DRV
- darunavir/cobicistat, DRV/c
- darunavir/cobicistat/tenofovir alafenamide/emtricitabine, DRV/c/TAF/FTC
- delavirdine, DLV
- didanosine, ddi
- dolutegravir, DTG
- dolutegravir/abacavir/lamivudine, DTG/ABC/3TC
- dolutegravir/lamivudine, DTG/3TC
- dolutegravir/rilpivirine, DTG/RPV
- doravirine, DOR
- doravirine/tenofovir disoproxil fumarate/lamivudine, DOR/TDF/3TC
- efavirenz, EFV
- efavirenz/tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine, EFV/TDF/FTC
- elvitegravir, EVG
- elvitegravir/cobicistat/tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine, EVG/c/TDF/FTC
- elvitegravir/tenofovir alafenamide/emtricitabine, EVG/c/TAF/FTC
- emtricitabine/tenofovir alafenamide FTC/TAF
- enfuvirtide, ENF, T-20
- emtricitabine, FTC
- etravirine, ETR
- fosamprenavir, FPV
- fostemsavir
- ibalizumab-uiyk, IBA
- indinavir, IDV
- lamivudine, 3TC
- lopinavir ritonavir, LPV/r
- maraviroc, MVC
- nelfinavir, NFV
- nevirapine, NVP
- raltegravir, RAL
- rilpivirine, RPV
- rilpivirine/ tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine, RPV/TDF/FTC
- rilpivirine/tenofovir alafenamide/emtricitabine, RPV/TAF/FTC
- ritonavir, RTV
- saquinavir, SQV
- stavudine, d4T
- tenofovir alafenamide, TAF
- tenofovir alafenamide/emtricitabine, TAF/FTC
- tenofovir disoproxil fumarate, TDF
- tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine, TDF/FTC
- tenofovir disoproxil fumarate/lamivudine, TDF/3TC
- tipranavir, TPV
- zidovudine, ZDV
- zidovudine/lamivudine, oZDV/3TC

Questi farmaci, utilizzati in combinazione tra loro hanno abbattuto mortalità e morbilità dell'AIDS, condizione associata all'infezione da HIV. Dopo gli inibitori nucleosidici, arrivò la svolta degli inibitori della proteasi (capostipite per efficacia: indinavir) e degli inibitori non nucleosidici. E soprattutto dalle nuove formulazioni: se, all'inizio, era necessario assumere 28 compresse al giorno, la terapia fu progressivamente semplificata, fino a una singola compressa contenente tre farmaci in una unica compressa (capostipite: efavirenz/tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine).

Tutti questi farmaci e combinazioni hanno alle spalle una lunghissima storia di trial clinici, molti condotti dalle industrie produttrici, ma tantissimi condotti da istituzioni pubbliche, la più nota delle quali è l'AIDS Clinical Trials Group (ACTG) dell'NIAID/NIH guidato dal grande Anthony Fauci.

Nel tempo, molti di questi farmaci sono stati sostituiti da nuove molecole, in particolare dagli inibitori dell'integrasi (capostipite: dolutegravir), che oggi costituiscono il "perno" delle combinazioni antiretrovirali.

Ecco le combinazioni antiretrovirali oggi raccomandate dalle linee-guida internazionali per l'inizio della terapia:

- **Bictegravir/tenofovir alafenamide/emtricitabina**
- **Dolutegravir più:**
  - Tenofovir alafenamide/emtricitabina
  - Tenofovir disoproxil fumarato/emtricitabina
  - Tenofovir disoproxil fumarato/lamivudina
- **Dolutegravir/lamivudina, con l'avvertenza che si tratta di una combinazione di soli due farmaci**
- **Pazienti con resistenza multifarmaco nota o sospetta prima della terapia potrebbero iniziare con:**
  - darunavir/cobicistat/tenofovir alafenamide/emtricitabina.
- **Pazienti intolleranti agli inibitori dell'integrasi, possono iniziare con un regime comprendente:**
  - doravirina/tenofovir disoproxil fumarato/lamivudina
  - doravirina più tenofovir alafenamide/emtricitabina.

**Con l'arrivo di combinazioni "long acting" (cabotegravir-rilpivirina e, più in là, lenacavir+X) sta iniziando una nuova era: i farmaci antiretrovirali a lunga durata d'azione, infatti, sono emersi come interessanti opzioni di trattamento e profilassi pre-esposizione (PrEP) per le persone non HIV positive, ma ad alto rischio di contrarre l'infezione da HIV. Tra l'altro, altri farmaci long acting potranno avere una via di somministrazione estremamente conveniente (come i dispositivi impiantabili sottocute, che rilasciano i farmaci per più mesi).**

I regimi con farmaci a lunga durata d'azione possono migliorare la praticità di dosaggio, la tollerabilità e il costo rispetto all'attuale terapia orale giornaliera. Possono anche aggirare lo stigma associato alla terapia orale sia per il trattamento che per la PrEP, migliorando così l'aderenza e i risultati. Tuttavia, rimangono diverse sfide, molte delle quali specifiche dei Paesi a basso e medio reddito, dove l'epidemia è più concentrata e le opzioni di prevenzione e trattamento dell'HIV sono limitate. Per ottimizzare l'uso delle formulazioni a lunga durata d'azione, è necessario affrontare alcune questioni chiave ancora aperte. L'incertezza dei costi, la produzione su scala, i complessi sistemi di somministrazione e le sfide di implementazione sono infatti potenziali ostacoli quando si considera la scalabilità degli antiretrovirali a lunga durata d'azione per l'uso globale.

### F.3. I farmaci per l'epatite C

Tra le importanti innovazioni che l'industria e l'accademia hanno realizzato, non si può non citare la terapia eradicante per l'epatite C (HCV).

I primi tentativi terapeutici dei pazienti con infezione cronica da HCV sono stati effettuati con IFN- $\alpha$ 2b. Tuttavia i frequenti effetti collaterali, l'alto tasso di ricadute e i frequenti rebound della carica virale (SVR – Sustained Virological Response, il marcatore surrogato utilizzato come end point in tutti gli studi clinici) hanno suggerito la necessità di trovare un altro agente antivirale da associare all'interferone. I primi tentativi di trattare l'epatite C cronica con la monoterapia a base di ribavirina sono stati avviati all'inizio degli anni Novanta. I risultati sono stati immediati: i livelli di alanina transaminasi (ALT) si sono ridotti rapidamente ma, dopo l'interruzione del trattamento, sono risaliti ai livelli precedenti al trattamento in quasi tutti i pazienti. Questi risultati hanno portato all'avvio di studi clinici in cui l'IFN- $\alpha$  è stato combinato con la ribavirina. I risultati hanno dimostrato che la terapia combinata era significativamente associata a una SVR elevata o addirittura alla completa eliminazione dell'HCV RNA: la combinazione di IFN- $\alpha$  e ribavirina è stata quindi approvata come trattamento standard dell'epatite C cronica nel 1999. Per mantenere un livello costante di farmaco attivo e ridurre la frequenza di somministrazione, è stato inoltre sviluppato l'IFN- $\alpha$ 2b pegilato (PegIFN- $\alpha$ 2b).

La nuova combinazione di PegIFN- $\alpha$ 2b e ribavirina è quindi diventata la scelta standard del trattamento dell'epatite C per i successivi 10 anni. La risposta e la durata del trattamento sono state determinate misurando i livelli di HCV RNA al basale, alle settimane 4, 12 e 24, alla fine del trattamento e 24 settimane dopo il trattamento. Tuttavia, malgrado un certo grado di successo, si trattava di una terapia gravata da importanti effetti collaterali, con un impatto a volte devastante sulla qualità di vita dei pazienti.

Questa sopra descritta è per fortuna, ormai, storia datata: una migliore comprensione della struttura, e del ciclo di vita di HCV ha portato all'introduzione di nuovi bersagli farmacologici e alla scoperta dei Direct Acting Antivirals (DAA).

Nel 2011 sono stati approvati ufficialmente i primi DAA (telaprevir e boceprevir), utilizzati in combinazione con PegIFN- $\alpha$  e ribavirina, per il trattamento dell'HCV Genotipo 1. Entrambi i farmaci sono inibitori della proteasi NS3-4A. Nonostante i risultati degli studi clinici fossero promettenti, gli eventi avversi e le complicanze gravi hanno dimostrato la necessità di un ulteriore passo avanti.

Nel 2013 è stato approvato il simeprevir in combinazione con PegIFN- $\alpha$  e ribavirina per l'HCV GT1, che ha mostrato meno effetti collaterali e gli stessi tassi di SVR. Nello stesso anno è stato sviluppato sofosbuvir, un inibitore della polimerasi NS5B, che ha dimostrato di essere efficace contro tutti i genotipi di HCV. È stato approvato come parte della terapia per HCV GT1 e GT4 con PegIFN- $\alpha$  e per GT2 e GT3 con ribavirina.

Dopo che 3 studi clinici hanno dimostrato che i DAA possono essere utilizzati da soli per il trattamento dell'HCV GT1 con tassi di SVR del 94-99% e con effetti collaterali significativamente inferiori, nel 2014 la FDA ha approvato il primo regime interamente a base di DAA con sofosbuvir/ ledipasvir e sofosbuvir/simeprevir.

Ad oggi sono disponibili molti DAA approvati dall'EMA e dalla FDA per il trattamento dell'HCV, classificati in base alla loro struttura chimica: inibitori della proteasi NS3 (glecaprevir, grazoprevir, paritaprevir, simeprevir, voxilaprevir), inibitori della serina proteasi NS5A (daclatasvir, elbasvir, ledipasvir, ombitasvir, pibrentasvir, velpatasvir), inibitori della polimerasi nucleosidica RNA-dipendente NS5B (sofosbuvir) e inibitori della polimerasi non nucleosidica (dasabuvir). Questi farmaci differiscono per il loro meccanismo d'azione contro i diversi GT dell'HCV e le loro combinazioni consentono una maggiore barriera alla resistenza.

Grazie all'efficacia virologica, alla facilità d'uso, alla sicurezza e alla tollerabilità, i regimi basati sui DAA vengono utilizzati nei pazienti con infezione da HCV senza cirrosi e con cirrosi compensata. Attualmente le combinazioni farmacologiche pangenotipiche in uso sono fondamentalmente: glecaprevir-pibrentasvir, sofosbuvir-velpatasvir e velpatasvir-voxilaprevir, in caso di fallimento di sofosbuvir-velpatasvir. La combinazione grazoprevir-elbasvir, non pangenotipica, è utile soprattutto per il genotipo 1, e in caso di insufficienza renale. Queste combinazioni sono in grado di portare all'eradicazione di HCV con una efficienza che supera il 90%.

Le infezioni da HCV rimangono una delle principali cause di morte legate alle patologie del fegato. Il successo delle terapie DAA ha creato una rara possibilità di eliminazione locale della malattia o addirittura di eradicazione globale. Nel 2016, l'Assemblea Mondiale della Sanità ha adottato la Strategia globale del settore sanitario per eliminare l'epatite virale entro il 2030. L'obiettivo dell'OMS per l'infezione da HCV è di diminuire l'incidenza di circa il 90% e di ridurre il numero di decessi correlati all'HCV di circa il 65% entro il 2030. Ma questo potrà essere raggiunto soltanto a condizione che i Paesi si impegnino a scoprire il sommerso mondo delle infezioni asintomatiche, con appropriate campagne di screening selettivo, e soprattutto che avvenga, come per l'HIV, un processo globale di accesso alle cure per HCV.

Per quanto riguarda il nostro Paese, l'accesso universale ai farmaci antivirali a partire dal 2017, nell'ambito del Piano di eliminazione dell'infezione da HCV, ha permesso di individuare e trattare a oggi oltre 250.000 pazienti con infezione cronica da epatite C, il più alto numero di pazienti trattati in Europa.

Grazie alle politiche sanitarie di accesso alla cura dei pazienti con infezione da HCV varate sino a oggi e all'approccio universalistico e solidale unico al mondo, l'Italia nel 2018 faceva parte dei 12 Paesi incamminati verso il raggiungimento dei target fissati dall'OMS per l'eliminazione dell'HCV, a patto di mantenere alto il numero dei trattamenti antivirali nel tempo.

Poiché un numero non definito di persone che ha contratto l'infezione non sviluppa sintomi evidenti, è difficile identificarli e curarli. Le persone con un'infezione non diagnosticata rischiano la progressione del danno HCV-correlato sia nel fegato sia extraepatico. Questo non è accettabile, considerando l'efficacia senza precedenti dei farmaci di cui oggi la medicina dispone contro l'infezione da HCV.

Seguendo l'andamento progressivo dei trattamenti e considerando la prevalenza dell'infezione da HCV nella popolazione generale, si prevede che senza uno screening programmato per identificare e curare le persone a oggi ancora ignare della propria infezione, il pool di pazienti italiani diagnosticati diminuirà nel corso degli anni e si esaurirà intorno all'anno 2025, lasciando un cospicuo "sommerso". Lo scenario di screening graduato, che identifica prima le popolazioni giovani (coorti di nascita 1968-1987) a rischio di trasmissione dell'HCV, per poi espandersi per identificare le popolazioni più anziane (coorti di nascita 1948-1967) prima che la malattia progredisca, ha il profilo di costo-efficacia più favorevole in Italia. Questa strategia di screening graduato ha benefici, per la popolazione, sia clinici sia economici, e potrebbe sostenere il cammino dell'Italia verso il raggiungimento degli obiettivi dell'eliminazione dell'HCV.

Per quanto riguarda i fattori di rischio degli individui potenzialmente non diagnosticati, l'utilizzo di sostanze per via endovenosa aumenta il rischio di acquisizione dell'infezione attraverso lo scambio di siringhe infette. Questo ha rappresentato la più recente ondata di nuove infezioni nel Paese, con individui distribuiti principalmente nelle coorti di nascita 1968-1987, potenzialmente non diagnosticati a causa di una malattia non sintomatica (stadio di fibrosi F0-F3). Si stimano oggi circa 280.000 persone ancora non diagnosticate, delle quali circa 146.000 sono persone che usano sostanze endovena e circa 80.000 che hanno avuto trattamenti estetici, soprattutto tatuaggi, in condizioni igieniche non adeguate.

## F.4. I farmaci contro l'infezione da SARS-CoV-2 (COVID-19)

La terapia farmacologica per l'infezione da SARS-CoV-2 è dettata dalla fase dell'infezione e della malattia. La figura mostra le opzioni disponibili suddivise in base alla progressione clinica.

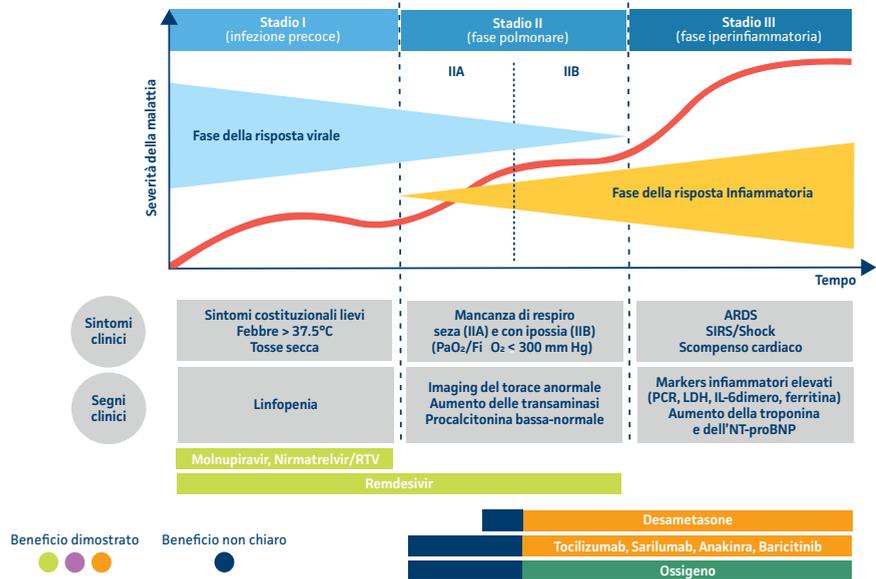


Figura F4.1: fasi cliniche di COVID-19 e terapie farmacologiche associate

Di seguito descriveremo le "armi" che abbiamo a disposizione per curare le persone con infezione da SARS-CoV-2: dagli anticorpi monoclonali, ai farmaci antivirali fino ai farmaci antinfiammatori. Senza dimenticare tuttavia che il farmaco che ha salvato tantissime vite è l'ossigeno, che purtroppo è mancato in tanti Paesi a risorse limitate e che è oggetto di un grande progetto internazionale (guidato da OMS/UNITAID) per il suo approvvigionamento e per costruire strutture in grado di produrlo (e non soltanto per il COVID-19).

## ANTICORPI MONOCLONALI

INN, code or brand name	Molecular format	Status for COVID-19	COVID-19 indication(s)
Etesevimab + bamlanivimab	SARS-CoV-2; Human mAbs	EUA granted	Treatment and prevention of COVID-19
Sotrovimab (Xevudy®)	SARS-CoV-2; Human IgG1	Approved in Australia; EUA granted; EMA rolling review <sup>b</sup>	Mild-to-moderate COVID-19
Regdanvimab (Regkirona)	SARS-CoV-2; Human IgG1	Approved in ROK and EU	Mild-to-moderate COVID-19 in adults

Tab F4.1: i primi monoclonali sviluppati per contrastare l'evoluzione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2.

**Tuttavia, a causa dell'evoluzione di SARS-CoV-2 in varianti sempre più "lontane" geneticamente dal virus originale, questi monoclonali non sono più efficaci e dovranno essere progressivamente sostituiti da nuove molecole.**

Il genoma del SARS-CoV-2 codifica 4 principali proteine strutturali: spike (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocapside (N), oltre a proteine non strutturali e accessorie. La proteina spike è ulteriormente suddivisa in 2 sub-unità, S1 e S2, che mediano l'attacco e l'invasione della cellula ospite. Attraverso il suo dominio di legame al recettore (RBD), S1 si attacca all'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) sulla cellula ospite; questo avvia un cambiamento conformazionale in S2 che porta alla fusione della membrana del virus con la cellula ospite e all'ingresso del virus. Gli anticorpi monoclonali (mAbs) anti-SARS-CoV-2 che hanno come bersaglio la proteina spike hanno dimostrato di avere un beneficio clinico nel trattamento dell'infezione. L'attività e l'efficacia delle diverse terapie con mAb anti-SARS-CoV-2 varia notevolmente a seconda della variante circolante. La variante Omicron (VOC), ad esempio, è diventata la variante dominante del SARS-CoV-2 negli Stati Uniti e in Europa: questa variante e le sue sottovarianti hanno una sensibilità in vitro notevolmente ridotta a diversi mAb anti-SARS-CoV-2.

## ANTIVIRALI

In mancanza di farmaci specifici, soprattutto all'inizio della pandemia, quando non c'erano vaccini, è stato tentato l'impiego di numerosi farmaci "antichi", sulla base tuttavia di pochissime evidenze scientifiche, precliniche e cliniche. Ci son voluti studi importanti, che hanno coinvolto decine di migliaia di pazienti, per sgombrare il campo da questi farmaci "repurposed", come la cloroquina, e il ritonavir. Finalmente, ma c'è voluto tempo, sono arrivati farmaci specifici che hanno dimostrato di possedere una discreta efficacia, soprattutto se utilizzati molto presto dopo l'inizio dell'infezione, riservandoli a quei pazienti che hanno un rischio elevato di subire conseguenze serie (anziani, pazienti con co-morbidità, pazienti con fragilità immunologica).

Il Guideline Development Group (GDG) suggerisce di somministrare gli antivirali a pazienti con malattie non gravi, ma a più alto rischio di ricovero. Nello specifico, in assenza di strumenti per prevedere il rischio di ricovero nelle persone infette da SARS-CoV-2, i soggetti a maggior rischio sono considerati coloro che non hanno effettuato la vaccinazione anti-SARS-CoV-2, con età avanzata, immunosoppressione e/o malattie croniche (ad esempio il diabete). Poiché questa raccomandazione sottolinea la necessità di somministrare il trattamento entro 5 giorni dall'esordio dei sintomi, viene rimarcata la necessità di garantire un uso appropriato e tempestivo dei test diagnostici.

**» NIRMATREXIR/RITONAVIR**

È fortemente raccomandato sia dal National Institute of Health sia dall'OMS per le persone con COVID-19 da lieve a moderato che sono ad alto rischio di ospedalizzazione. Autorizzato per la prima volta dalla FDA nel dicembre 2021, è ora in uso in tutto il mondo. Prima di prescrivere Paxlovid, i medici devono verificare se i loro pazienti assumono altri farmaci che potrebbero interferire con esso.

Le origini di nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid), inibitore della proteasi di SARS-CoV-2, risalgono ai primi anni 2000, quando molti scienziati erano alla ricerca di una cura per la SARS, un'altra malattia causata da un coronavirus. Alla fine hanno accantonato questi sforzi, ma all'inizio della pandemia di COVID-19, sono state riesaminate le molecole che i ricercatori avevano sviluppato anni prima. Hanno pensato che, poiché anche la COVID-19 era causata da un coronavirus, quelle molecole potessero essere promettenti come antivirali contro la nuova malattia.

Il nirmatrelvir deve essere assunto con un farmaco che ne migliora la farmacocinetica, il ritonavir, già utilizzato per aumentare i livelli plasmatici degli inibitori delle proteasi per HIV. In una piccola percentuale di casi, le persone che assumono il Paxlovid subiscono un rimbalzo del coronavirus. Sono in corso studi per verificare se il trattamento debba essere prolungato oltre i cinque giorni in caso di segni di rimbalzo. L'FDA ha però dichiarato che i rimbalzi non influiscono negativamente sulla capacità di Paxlovid di ridurre l'ospedalizzazione e la mortalità.

**» REMDESIVIR**

Il Remdesivir è il primo farmaco ad aver ottenuto l'approvazione completa da parte della FDA per il trattamento della malattia da COVID-19. Originariamente approvato solo per i pazienti ricoverati, ora può essere somministrato anche ai pazienti affetti da COVID-19 lieve o moderata ma non ancora ricoverati, se sono ad alto rischio di malattia grave. Il National Institute of Health lo raccomanda alle persone che non possono assumere Paxlovid. Mentre il Paxlovid viene assunto come compresse, il remdesivir deve essere somministrato sotto forma di infusione. Il remdesivir è stato originariamente testato come antivirale contro l'ebola e l'epatite C, ma ha dato risultati insoddisfacenti. La FDA, nel maggio 2020, ha rilasciato un'autorizzazione d'emergenza per l'uso del remdesivir in pazienti gravemente malati che necessitano di ossigeno supplementare. In agosto, ha ampliato l'approvazione dopo che un altro studio ha rilevato che i pazienti con forme meno gravi di COVID-19 sembravano trarre un beneficio da un ciclo di trattamento di cinque giorni.

**» MOLNUPINAVIR**

Molnupiravir è un antivirale che appartiene alla classe degli analoghi nucleosidici (simile ad altri antivirali utilizzati per l'HIV o l'HCV) disponibile per via orale, originariamente concepito come trattamento dell'influenza (sebbene non approvato), che interferisce con la capacità del virus di replicarsi. Molnupiravir viene somministrato per via orale due volte al giorno e mantiene la sua efficacia anche contro le varianti Alpha e Beta sulla base degli studi condotti in vivo (nei modelli animali) e contro le varianti Delta e Omicron negli studi condotti in vitro, mentre non sono attualmente disponibili dati che dimostrino l'attività contro le varianti Delta o Omicron in vivo. La dose raccomandata di molnupiravir è di 1 compressa da 800 mg ogni 12 ore per 5 giorni, secondo il regime valutato negli studi registrativi. La somministrazione deve avvenire il più presto possibile, entro 5 giorni dall'esordio della malattia.

## ANTINFIAMMATORI

In realtà, soprattutto in epoca pre-monoclonali, pre-farmaci e pre-vaccini COVID-19, quello che ha salvato molte vite dagli effetti devastanti dell'infezione da SARS-CoV-2 avanzata è stato l'impiego di farmaci antinfiammatori. D'altra parte, la malattia infiammatoria che si verifica in una bassa ma significativa percentuale di casi, altro non è che una sepsi, cioè una sindrome infiammatoria multisistemica.

Il primo antinfiammatorio utilizzato è stato il desametasone, che vanta un potente studio randomizzato (RECOVERY) che ne dimostra l'efficacia soprattutto nelle fasi avanzate della tempesta infiammatoria. Altri farmaci antinfiammatori, già largamente utilizzati per altre condizioni patologiche a genesi infiammatoria o immunomediata, sono utilizzati per pazienti che arrivano alla cosiddetta "tempesta citochinica" scatenata da SARS-CoV-2. Ecco i principali:

- **Tocilizumab e sarilumab:** monoclonali che bloccano il legame di interleuchina-6 (IL-6) al suo recettore. IL-6 è coinvolta nella genesi dell'infiammazione ed è presente a livelli elevati nei pazienti con artrite reumatoide, artrite idiopatica giovanile sistemica, poliartrite idiopatica giovanile, arterite a cellule giganti, CRS e, appunto, COVID-19 ingravescente.
- **Anakinra:** farmaco chimico, antagonista umano del recettore dell'interleuchina-1, anch'esso già utilizzato per la terapia di malattie infiammatorie e autoimmuni, è indicato per pazienti ospedalizzati con condizioni cliniche rapidamente ingravescenti.
- **Baricitinib:** farmaco chimico, inibitore delle Janus chinasi (JAK), appartenente al gruppo degli immunosoppressori, che trova impiego nel trattamento di patologie quali l'artrite reumatoide e la dermatite atopica, e che è indicato per pazienti COVID-19 recentemente ospedalizzati con fabbisogno di ossigeno in rapido aumento che richiedono ventilazione meccanica non invasiva o ossigeno ad alti flussi in presenza di elevati livelli di indici di flogosi.



# **1.2. Disegni innovativi e nuovi endpoint degli studi clinici**

Gli innumerevoli farmaci e tecnologie innovative che si affacceranno sul Sistema Sanitario Europeo nell'immediato futuro pongono un serio problema di governance dell'innovazione. Ogni Servizio Sanitario Nazionale dovrebbe infatti essere in grado di introdurre le nuove e complesse tecnologie avvalendosi di valutazioni che ne permettano l'utilizzo appropriato e la verifica del beneficio atteso. L'innovazione farmaceutica necessita dunque di essere supportata da studi e sperimentazioni cliniche con disegni innovativi, che rispondano in maniera efficace ed efficiente al nuovo paradigma farmaceutico.

Gli studi clinici costituiscono una parte essenziale del programma di sviluppo di un nuovo farmaco. Dato l'onere per i pazienti arruolati nei trial, il tempo e il numero di pazienti necessari per completare tutte le fasi di sviluppo, gli alti rischi e i costi legati al possibile fallimento in ogni fase, negli ultimi anni è emersa un'attenzione sempre maggiore nel disegnare studi clinici innovativi, in tutte le fasi: il fine ultimo è di accelerare l'accesso ai nuovi farmaci per i pazienti e di migliorare l'efficienza e il tasso di successo degli studi clinici.

Per migliorare l'efficienza degli studi clinici, negli ultimi anni è aumentato lo spettro di possibili modalità di sperimentazione clinica "accelerata" di sviluppo del farmaco. Sono stati introdotti nuovi tipi di studi clinici, come ad esempio i Basket trials, gli Umbrella trials, gli Adaptive Clinical Trials, che rappresentano l'evoluzione e la modernizzazione degli stessi studi clinici, chiamati a rispondere ad una nuova concezione dell'utilizzo dei farmaci innovativi, per una terapia che possiamo definire "market-driven".

L'innovazione è un pilastro della strategia di crescita della politica farmaceutica nell'UE, e deve essere coerente con la visione globale delle politiche comunitarie. Pertanto, è essenziale che la legislazione che riguarda i settori innovativi, come l'industria farmaceutica, si adegui a tale contesto. La revisione della direttiva sulle sperimentazioni cliniche rappresenta, dunque, un'opportunità per migliorare i regolamenti che indirizzano la ricerca farmaceutica e, quindi, l'accesso ai farmaci innovativi per i pazienti. Nel maggio del 2014 è stato pubblicato il Regolamento (EU) n. 536/2014 sulla sperimentazione clinica, entrato in vigore in Europa dal 31 gennaio 2022. Con questo Regolamento, la Commissione ha risposto alla richiesta di tutte le parti interessate di una maggiore armonizzazione e razionalizzazione delle disposizioni per la conduzione degli studi clinici nell'UE. Approcci discordanti tra gli Stati Membri, infatti, insieme al mancato rispetto delle scadenze legali e alla assenza di meccanismi formali di coordinamento all'interno e tra gli stessi Stati membri, hanno comportato un aumento del carico di lavoro per l'industria farmaceutica e hanno ridotto l'attrattiva dell'Europa come luogo in cui effettuare ricerca e sviluppo.

Secondo il Nuovo Regolamento lo sponsor di uno studio clinico potrà invece presentare un unico dossier di domanda di sperimentazione clinica su un portale comune a livello europeo, che sarà poi sottoposto ad una valutazione unica, basata sulla cooperazione tra gli Stati Membri. La possibilità per lo sponsor di scegliere uno "Stato Membro relatore", che prenderà l'iniziativa su aspetti chiave della valutazione, dovrebbe poi supportare la condivisione del lavoro di valutazione delle autorità competenti nell'UE. Tale proposta rispetta il criterio secondo cui alcuni aspetti debbano essere analizzati a livello nazionale. Il nuovo processo consentirà di arrivare ad una singola decisione per ogni sperimentazione clinica, per ogni Stato membro interessato. Le regole prevedono anche il rigoroso rispetto delle scadenze per ottenere l'autorizzazione: le scadenze richieste sono sfidanti ma volutamente competitive, dal momento che il processo prevede meccanismi che ne rafforzano la conformità. Questo Regolamento stabilisce gli obiettivi di valutazione sulla base delle buone pratiche cliniche stabilite dalla Conferenza internazionale sull'armonizzazione (ICH) e dalla Dichiarazione di Helsinki dell'Associazione medica mondiale. Come tale, la nuova legislazione avrà

importanti ricadute sull'organizzazione interna degli Stati Membri. In tal senso, saranno avvantaggiati quegli Stati che si sono "preparati" in anticipo al recepimento di tale Regolamento per avviare le nuove sperimentazioni cliniche.

**L'introduzione del regolamento 536/2014 sugli studi clinici e la nuova procedura europea centralizzata verrà trattato estesamente nel secondo volume di questa trilogia.**

Per ora, limitiamoci a capire quali innovazioni nella metodologia degli studi clinici sono state introdotte recentemente per valutare contemporaneamente e in parallelo più trattamenti in diverse tipologie di paziente o di malattia.

### QUALCHE DEFINIZIONE DEI NUOVI MODELLI DI STUDIO CLINICO:

#### » PROTOCOLLO MASTER

I protocolli master sono definibili come un protocollo globale progettato per rispondere a più domande. I protocolli master possono riguardare uno o più interventi in più malattie o una singola malattia, come definita dall'attuale classificazione della patologia, con interventi multipli, ciascuno rivolto a una particolare popolazione o sottotipo di malattia definita da un biomarcatore. Nell'ambito di questa ampia definizione di protocollo master sono comprese tre entità distinte: gli studi "ombrello", "basket" e "a piattaforma" (vedere oltre). Queste tipologie costituiscono quindi un insieme di studi o sottostudi che condividono componenti chiave del disegno e aspetti operativi per ottenere un coordinamento migliore di quello che si può ottenere con studi singoli progettati e condotti in modo indipendente.

#### » UMBRELLA TRIAL

Una sperimentazione "a ombrello" studia più farmaci in fase di sperimentazione somministrati come combinazioni di farmaci singoli in una singola malattia. Lo studio può includere un sottogruppo di pazienti e trattamenti specifici per il sottogruppo, ma questo non è un aspetto essenziale di uno studio ombrello.

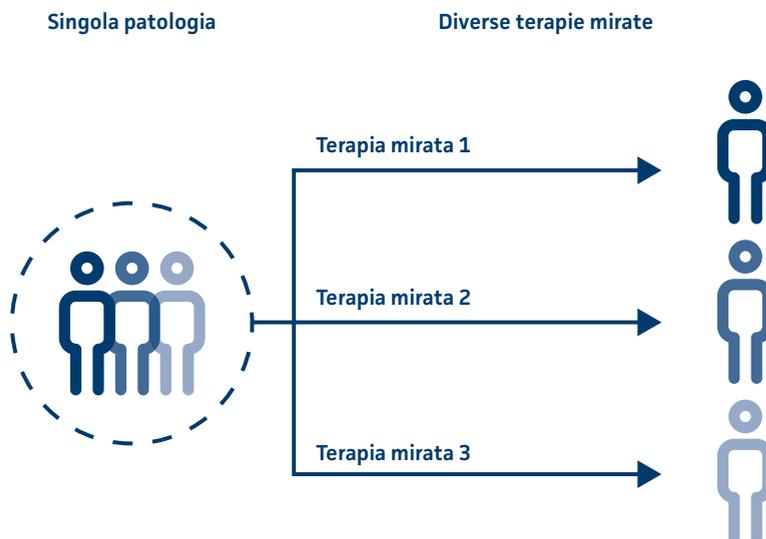


Figura 1.2.1: struttura di un ombrella trial

» **BASKET TRIAL**

Un basket trial (o studio a paniere) studia una singola terapia in più malattie o sottotipi di malattia (come età della malattia, istologia, biomarcatori genetici o di altro tipo). Si tratta di uno studio clinico randomizzato o non randomizzato, generalmente basato su biomarcatori, che comprende più istologie e che studia un intervento terapeutico, come un farmaco o una combinazione di farmaci, mirato a una specifica aberrazione molecolare in diversi tipi di cancro, indipendentemente dalla loro localizzazione anatomica o istologica. Un esempio è la sperimentazione clinica dell'inibitore di BRAF vemurafenib in più tipi di tumore non melanoma, tutti portatori di mutazioni BRAF V600. Nel contesto di uno studio a paniere, i sottopanieri possono essere stratificati in base all'istologia.

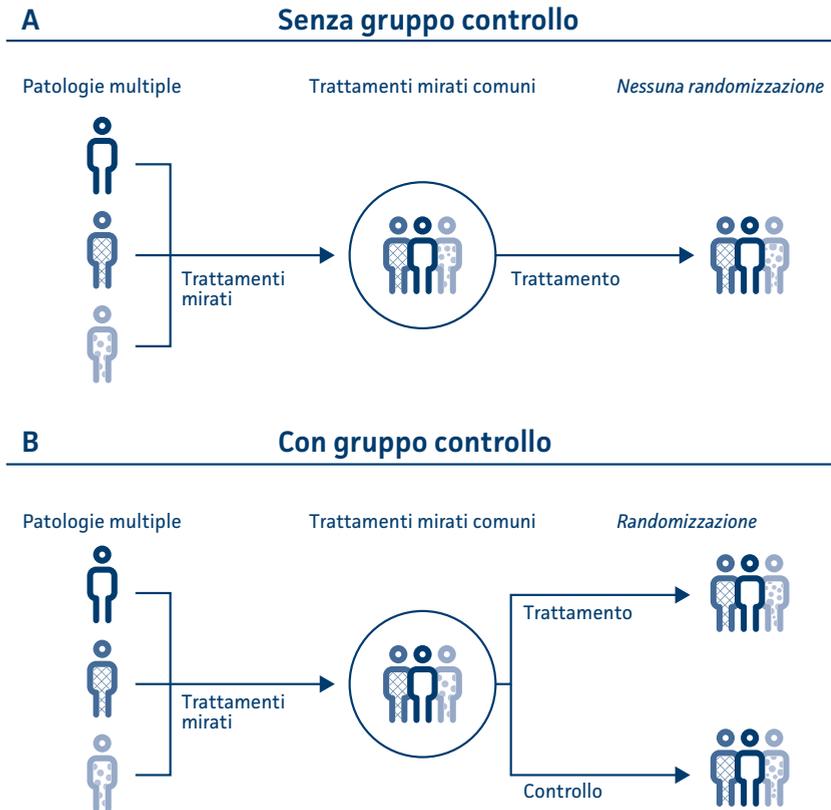


Figura 1.2.2: struttura di un basket trial non-randomizzato (senza gruppo controllo, A), e randomizzato (con gruppo controllo, B).

» **PLATFORM TRIAL**

Una sperimentazione su piattaforma studia più terapie in una singola malattia in modo perpetuo e aperto, con trattamenti che escono dallo studio una volta completati e nuovi che entrano nello studio quando diventano disponibili e c'è spazio nello studio per accoglierli.

### ALTRI DISEGNI

#### » DISEGNI DI ARRICCHIMENTO

I disegni di arricchimento hanno lo scopo di aumentare l'efficienza dello sviluppo dei farmaci e di supportare la medicina di precisione, adattando i trattamenti ai pazienti che ne trarranno beneficio in base a fattori clinici, di laboratorio, genomici e proteomici.

#### » STUDIO ADATTATIVO

Sperimentazione clinica che prevede la possibilità di modificare in modo prospettico uno o più aspetti specifici del disegno dello studio e delle ipotesi sulla base dell'analisi dei dati (di solito ad interim) dei soggetti in studio. Le analisi dei dati accumulati vengono effettuate in punti temporali pianificati prospetticamente all'interno dello studio, possono essere effettuate in modo completamente in cieco o in modo non in cieco e possono avvenire con o senza test statistici formali di ipotesi. Un disegno adattativo consente di modificare anche le procedure statistiche dello studio dopo il suo inizio, senza comprometterne la validità e l'integrità. Lo scopo è quello di rendere gli studi clinici più flessibili, efficienti e veloci.

#### » CONTROLLI STORICI

Dati di studi precedenti o "real world" vengono utilizzati per confrontarli con i dati provenienti dalle nuove sperimentazioni. Le informazioni vengono essenzialmente "prese in prestito" dai dati storici. L'uso di dati di controllo precedenti per supportare la strategia pre e/o post-licenziamento deve essere identificato all'inizio del piano di sviluppo clinico e rivisto regolarmente. Se in uno studio clinico vengono utilizzati dati storici, il loro uso deve essere giustificato, in particolare per spiegare come sono stati selezionati, tenendo conto della malattia, della popolazione, delle considerazioni normative e scientifiche.

#### » STUDI DECENTRALIZZATI

A parte vanno considerati gli studi decentralizzati, che probabilmente avranno una importanza sempre più marcata nei prossimi anni. Questo termine non riguarda direttamente il disegno degli studi, bensì la loro conduzione: gli "studi clinici con metodologie decentralizzate", ovvero i DCT, prevedono, con un appropriato uso di tecnologie digitali e di telecomunicazione, la modulazione delle procedure in modo tale da privilegiarne la decentralizzazione dal centro di ricerca clinica e concentrandole il più possibile dove si trova il paziente. I DCT permettono di facilitare l'adesione al trial da parte del paziente, riducendo i disagi che spesso derivano dal doversi recare presso il centro clinico di riferimento per effettuare tutte le procedure previste, aumentando al contempo la sicurezza clinica. Il tutto utilizzando reti collaborative digitali, che permettono di aumentare grandemente il numero dei pazienti arruolabili contemporaneamente in un singolo studio e di raccogliere dai pazienti una quantità molto maggiore di dati utili in un tempo molto inferiore.

Un altro capitolo a parte meriterebbe la **Real World Evidence (RWE)** e l'uso dei **Real World Data (RWD)** per la valutazione dell'efficacia e sicurezza di farmaci o interventi terapeutici nel mondo reale e con follow-up molto lunghi, quindi ben oltre i trial randomizzati. Si tratta di un'area in espansione, oggi utilizzata anche dalle agenzie regolatorie, che verrà trattata estesamente nel terzo volume di questa trilogia, quando parleremo della necessità di nuovi modelli di valutazione dell'innovazione.

## ENDPOINT DEGLI STUDI CLINICI

Nonostante una migliore comprensione della fisiopatologia e lo sviluppo di nuove opzioni terapeutiche, il cancro rimane un'area con diverse esigenze insoddisfatte. Sebbene la sopravvivenza globale (OS) rimanga il gold standard per tutte le terapie antitumorali, essa pone delle sfide, come la necessità di un follow-up a lungo termine, un numero maggiore di pazienti e un onere finanziario più elevato. Pertanto, negli studi oncologici vengono studiati e utilizzati endpoint surrogati come la sopravvivenza libera da progressione, il tempo alla progressione, la durata della risposta e il tasso di risposta obiettiva. Gli endpoint surrogati abbreviano gli studi clinici oncologici e accelerano la valutazione e l'implementazione di nuove terapie. Gli endpoint surrogati emergenti, come i biomarcatori, i criteri di risposta immuno-correlati, la malattia minima residua e la risposta patologica completa, sono sempre più considerati negli studi oncologici. La convalida degli endpoint surrogati consente di sostituirli alla OS e di ottenere l'approvazione regolatoria in tempi più brevi. La selezione di endpoint surrogati per uno studio oncologico dipende dal tipo e dallo stadio del tumore, dallo scopo del trattamento e dalla durata prevista della sopravvivenza per la malattia in questione. Con l'avvento di un approccio individualizzato e di disegni di studio complessi, il campo dell'oncologia sta attualmente subendo un cambiamento di paradigma. L'uso di nuovi endpoint surrogati contribuirà ad accelerare il processo di sviluppo dei farmaci, rendendo più accessibile la cura dei pazienti oncologici.

ENDPOINT	Definizione
Sopravvivenza complessiva (overall survival - OS)	Tempo dalla randomizzazione al decesso
Sopravvivenza libera da progressione (progression-free survival)	Tempo dalla randomizzazione alla progressione della malattia o al decesso
Sopravvivenza senza eventi (event-free survival)	Tempo dalla randomizzazione alla progressione della malattia, all'interruzione del trattamento (per qualsiasi causa) o al decesso
Tempo fino alla progressione della malattia (progression-free survival)	Tempo dalla randomizzazione alla progressione della malattia
Sopravvivenza libera da malattia (disease-free survival)	Tempo dalla randomizzazione alla eventuale recidiva
Tempo fino al fallimento terapeutico	Tempo dalla randomizzazione alla sospensione del trattamento (ogni causa)
Tempo fino a un trattamento successivo	Tempo dalla randomizzazione fino all'aggiunta o al cambiamento del trattamento (ogni causa)
Risposta completa (%)	Assenza di tracce rilevabili del tumore

Tabella 1.2.1: i principali end-point utilizzati negli studi clinici, con particolare riguardo a quelli oncologici.

Gli endpoint di efficacia sono misure volte a riflettere gli effetti di un farmaco. Poiché la maggior parte delle malattie ha più di una conseguenza, molti studi sono progettati per esaminare l'effetto di un farmaco su più di un endpoint. In alcuni casi, l'efficacia non può essere adeguatamente stabilita sulla base di un singolo endpoint. In altri casi, un effetto su uno qualsiasi degli endpoint potrebbe essere sufficiente a sostenere l'approvazione di una domanda di immissione in commercio. Quando si prevede che il tasso di occorrenza di un singolo evento sia basso, è comune combinare diversi eventi (ad esempio, morte cardiovascolare, infarto e ictus) in un "endpoint composito" in cui il verificarsi di uno qualsiasi degli eventi costituisce un "evento endpoint". Quando ci sono molti endpoint pre-specificati in uno studio clinico, essi sono solitamente classificati in tre famiglie: primari, secondari ed esplorativi.

La serie di endpoint primari consiste nell'esito o negli esiti (basati sugli effetti attesi del farmaco) che stabiliscono l'efficacia e/o le caratteristiche di sicurezza del farmaco al fine di supportare l'azione regolatoria. Quando c'è più di un endpoint primario e il successo su uno qualsiasi di essi potrebbe essere considerato sufficiente per dimostrare l'efficacia del farmaco, la probabilità di concludere erroneamente che il farmaco sia efficace aumenta a causa di confronti multipli.

Gli endpoint secondari possono essere selezionati per dimostrare ulteriori effetti dopo il successo dell'endpoint primario. Per esempio, un farmaco può dimostrare l'efficacia sull'endpoint primario della sopravvivenza, dopodiché si verificheranno i dati relativi all'effetto su un endpoint secondario. Gli endpoint secondari possono anche fornire la prova che un particolare meccanismo è alla base di un effetto clinico dimostrato.

Gli endpoint sono spesso ordinati in base all'importanza clinica e i più importanti sono indicati come primari (ad esempio, mortalità o morbidità irreversibile). Tuttavia, ciò non avviene sempre, per una serie di ragioni. Una ragione per non ordinare gli endpoint in base all'importanza clinica è che il numero di eventi dell'endpoint più importante dal punto di vista clinico sia troppo basso per fornire una potenza adeguata allo studio, oppure se si prevede che l'effetto su un endpoint meno importante dal punto di vista clinico sia maggiore. Per questo, gli endpoint possono essere ordinati anche in base alla probabilità di dimostrare un effetto. Ad esempio, il tempo di progressione della malattia viene spesso scelto endpoint primario negli studi oncologici, anche se la sopravvivenza resta quasi sempre l'endpoint più importante. Il motivo è che un effetto sulla progressione della malattia può essere più facilmente dimostrabile, oppure può essere rilevato prima. E spesso ha una dimensione dell'effetto maggiore perché l'effetto osservato sulla sopravvivenza può essere influenzato da un successivo trattamento effettuato dopo la progressione.

### **ENDPOINT SURROGATI**

Un endpoint surrogato (o marcatore surrogato) è una misura dell'effetto di un trattamento specifico che può correlarsi, anche se non necessariamente, a un endpoint clinico. In genere si tratta di un biomcatore (come la carica virale nel caso dell'HIV o dell'HCV) ma anche una bio-immagine, destinato a sostituire un endpoint clinico. Gli endpoint surrogati vengono utilizzati quando l'endpoint primario è indesiderato (ad esempio, la morte) o quando il numero di eventi è molto ridotto, rendendo così impraticabile la conduzione di uno studio clinico per raccogliere un numero statisticamente significativo di endpoint. L'FDA e le altre agenzie regolatorie accettano spesso prove provenienti da studi clinici che dimostrano un beneficio clinico diretto per i marcatori surrogati. Ciò anche tenendo presente il ruolo crescente della diagnostica

per immagini (TAC, RMN, PET, ecc), che sempre più frequentemente viene utilizzata per lo "screening pre-arruolamento", ai fini della stadiazione di un tumore, per valutare la risposta al trattamento e l'evenienza di eventuali recidive.

### **PATIENT REPORTED OUTCOMES (PROMS)**

Di crescente rilevanza, anche dal punto di vista regolatorio, sono gli esiti correlati alla percezione del paziente, endpoint surrogati che misurano la salute generale, la qualità della vita e la soddisfazione del paziente a breve o lungo termine. Ci soffermeremo quindi sulle misure di esito, riportate direttamente dai pazienti durante tutto il un percorso terapeutico o in una delle sue fasi: i patient reported outcomes (PROMs).

I PROMs sono strumenti utili a comprendere, direttamente dal punto di vista del paziente, l'impatto sulla qualità di vita dell'intervento terapeutico che stanno effettuando, svolgendo un ruolo centrale nel processo di cura, in un'ottica patient-centred rivolta a garantire un'assistenza che consideri sempre l'individuo nel suo insieme, con un'attenzione particolare alla qualità di vita.

I PROMs si basano su questionari validati (solitamente costituiti da domande organizzate in domini e trasformate su una scala lineare) che vengono somministrati ai pazienti e indagano diversi aspetti relativi al percorso di cura: dalla tipologia di intervento, alla comparsa di effetti indesiderati, dall'esperienza di ricovero, ai tempi di attesa, fino ad aspetti più emotivi come il comfort, il coinvolgimento, il supporto emotivo ricevuto. Risulta evidente, dunque, come questo nuovo approccio si inserisca pienamente nei nuovi trattamenti farmacologici. Come discusso, le nuove terapie, oltre ad avere spesso migliori esiti di salute, puntano infatti anche a ridurre le complicanze e le reazioni avverse, determinando dunque un beneficio complessivo sulla qualità di vita dei pazienti.

Negli ultimi 20 anni, l'impiego dei PROMs è aumentato considerevolmente e, attualmente, questi strumenti hanno assunto un ruolo multidimensionale, e sono utilizzati per valutare gli effetti del trattamento, la qualità dell'assistenza, le politiche sanitarie e gli aspetti economici correlati. È importante sottolineare che i PROMs sono stati riconosciuti da parte della FDA e dell'EMA come misura dell'efficacia del trattamento, definiti come qualsiasi esito relativo alla salute o al trattamento che viene valutato direttamente dal paziente, senza alcuna interpretazione da parte di un medico o del personale sanitario. Tuttavia, sebbene le differenze medie a livello di popolazione nelle variazioni dei punteggi dei questionari tra il gruppo di intervento e quello di controllo siano il modo più potente per confrontare i gruppi, i ricercatori devono anche fornire una lente clinica per interpretare questi valori.

I PROMs sono raccolti in un numero crescente di studi clinici attraverso questionari standardizzati, tanto che un numero sempre maggiore di trial clinici ha incluso tali strumenti all'interno dei protocolli di ricerca.

---

---

## BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

### 1. Aree terapeutiche ad alta innovatività

#### Malattie oncologiche

- American Cancer Society. How Targeted Therapies Are Used to Treat Cancer. Disponibile al sito: <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/targeted-therapy/what-is.html#:~:text=Targeted%20drugs%20often%20work%20by,that%20have%20already%20been%20made.>
- Antibody Society. Antibody therapeutics approved or in regulatory review in the EU or US. Disponibile al sito: <https://www.antibodysociety.org/resources/approved-antibodies/>
- Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., et al. (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68: 394-424.
- Commissione Europea. Proposed Mission Conquering cancer: mission possible. Report of the Mission Board for Cancer. Disponibile al sito: [https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/research\\_and\\_innovation/funding/documents/ec\\_rtd\\_mission-board-report-cancer.pdf](https://ec.europa.eu/info/sites/default/files/research_and_innovation/funding/documents/ec_rtd_mission-board-report-cancer.pdf)
- Di Martino, S., Rainone, A., Troise, A., Di Paolo, M., Pugliese, S., Zappavigna, S., Valente, D. (2015). Overview of FDA-approved anti cancer drugs used for targeted therapy. *WCRJ* 2(3), e553WCRJ
- Fricker, L. D. (2020). Proteasome inhibitor drugs. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 60: 457-476.
- Esfahani, K., Roudaia, L., Buhlaiga, N. A., Del Rincon, S. V., Papneja, N., & Miller, W. H. (2020). A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Current Oncology*, 27(s2): 87-97.
- Gabaldo, M. (2021). Come spianare la strada alle terapie avanzate. *Nature*. Disponibile al sito: <https://www.nature.com/articles/d43978-021-00065-y>
- Giannatempo, P. (2016). L'immunoterapia in oncologia. *Cancer therapy*, 4: 261.
- Goydel, R. S., Rader, C. (2021). Antibody-based cancer therapy. *Oncogene*, 40 (21): 3655-3664.
- Labrijn, A. F., Janmaat, M. L., Reichert, J. M., Parren, P. W. (2019). Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline. *Nature reviews Drug discovery*, 18(8): 585-608.
- Jin, S., Sun, Y., Liang, X., Gu, X., Ning, J., Xu, Y., et al (2022). Emerging new therapeutic antibody derivatives for cancer treatment. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 7 (1): 1-28
- Kaplon, H., Chenoweth, A., Crescioli, S., Reichert, J. M. (2022, December). Antibodies to watch in 2022. *Mabs*, 14 (1): 2014296. Taylor & Francis
- Keung, E. Z., Ukponmwan, E. U., Cogdill, A. P., & Wargo, J. A. (2018). The rationale and emerging use of neoadjuvant immune checkpoint blockade for solid malignancies. *Annals of surgical oncology*, 25(7): 1814-1827.
- Lee, Y. T., Tan, Y. J., Oon, C. E. (2018). Molecular targeted therapy: treating cancer with specificity. *European journal of pharmacology*, 834: 188-196.
- Multhoff, G., Radons, J., Vaupel, P. (2014). Critical role of aberrant angiogenesis in the development of tumor hypoxia and associated radioresistance. *Cancers*, 6(2): 813-828.
- National Cancer Institute. CAR T Cells: Engineering Patients' Immune Cells to Treat Their Cancers. Disponibile al sito: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells>
- National Cancer Institute. Targeted Therapy to Treat Cancer. Disponibile al sito: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/targeted-therapies>
- O'Donnell, J. S., Teng, M. W., Smyth, M. J. (2019). Cancer immunoeediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nature reviews Clinical oncology*, 16(3): 151-167.
- Ourworldindata. Burden of disease. Disponibile al sito: <https://ourworldindata.org/burden-of-disease>
- Rader, C. (2020). Bispecific antibodies in cancer immunotherapy. *Current opinion in biotechnology*, 65: 9-16.
- Spiegel, J. Y., Patel, S., Muffly, L., Hossain, N. M., Oak, J., Baird, J. H., et al. (2021). CAR T cells with dual targeting of CD19 and CD22 in adult patients with recurrent or refractory B cell malignancies: a phase 1 trial. *Nature medicine*, 27(8): 1419-1431.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3): 209-249.

- The cancer atlas. The burden of cancer. Disponibile al sito: <https://canceratlas.cancer.org/the-burden/the-burden-of-cancer/>
- Zhao, P., Zhang, Y., Li, W., Jeanty, C., Xiang, G., & Dong, Y. (2020). Recent advances of antibody drug conjugates for clinical applications. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 10(9): 1589-1600.
- Zhong, L., Li, Y., Xiong, L., Wang, W., Wu, M., Yuan, T., et al. (2021). Small molecules in targeted cancer therapy: Advances, challenges, and future perspectives. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1): 1-48.
- Zirlik, K., & Duyster, J. (2018). Anti-angiogenics: current situation and future perspectives. *Oncology research and treatment*, 41(4): 166-171.
- National Cancer Institute. Advances in Leukemia Research. Disponibile al sito: <https://www.cancer.gov/types/leukemia/research>
- National Cancer Institute. Advances in Lymphoma Research. Disponibile al sito: <https://www.cancer.gov/types/lymphoma/research>
- National Cancer Institute. Plasma Cell Neoplasms (Including Multiple Myeloma) Treatment. Disponibile al sito: [https://www.cancer.gov/types/myeloma/patient/myeloma-treatment-pdq#\\_162](https://www.cancer.gov/types/myeloma/patient/myeloma-treatment-pdq#_162)
- National Cancer Institute. Drugs Approved for Multiple Myeloma and Other Plasma Cell Neoplasms. Disponibile sul sito: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/drugs/multiple-myeloma>
- FDA. Companion Diagnostics. Disponibile al sito: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/companion-diagnostics>
- FDA. Developing and Labeling In vitro Companion Diagnostic Devices for a Specific Group of Oncology Therapeutic Products. Disponibile al sito: <https://www.fda.gov/media/120340/download>
- FDA, List of Cleared or Approved Companion Diagnostic Devices (In Vitro and Imaging Tools). Disponibile al sito: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools>
- Mosele F, Remon J.M., Westphalen C. et al (2020). Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*, 31(11): 1491-1505.
- Fridlyand J., Simon R.M., Walrath J.C., et al. (2013) Considerations for the successful co-development of targeted cancer therapies and companion diagnostics. *Nat Rev Drug Discov* 12:743-755.

## Terapie Avanzate (ATMP), Terapia genica, Terapia cellulare (CAR-T)

- Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Terapie avanzate. Disponibile al sito: <https://www.aifa.gov.it/terapie-avanzate>
- Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Le terapie geniche CAR-T. Disponibile al sito: [https://www.aifa.gov.it/documents/20142/0/Terapie\\_CAR-T.pdf/](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/0/Terapie_CAR-T.pdf/)
- Ospedale Pediatrico Bambino Gesù. Malattie genetiche. Disponibile al sito: <https://www.ospedalebambinogesu.it/malattie-genetiche-80216/>
- Osservatorio Malattie Rare. Malattierare. Disponibile al sito: <https://www.osservatoriomalattierare.it/malattie-rare>
- National Institute of Health. What Are Genetic Therapies? Disponibile al sito: <https://www.nhlbi.nih.gov/health/genetic-therapies/types>
- Clinical trials. A Phase 1/2/3 Study of the Safety and Efficacy of a Single Dose of Autologous CRISPR-Cas9 Modified CD34+ Human Hematopoietic Stem and Progenitor Cells (hSPCs) in Subjects With Transfusion-Dependent  $\beta$ -Thalassemia. Disponibile al sito: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03655678>
- Kanter, J., Walters, M. C., Krishnamurti, L., Mapara, M. Y., Kwiatkowski, J. L., Rifkin-Zenenberg, S., et al. (2022). Biologic and clinical efficacy of LentiGlobin for sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, 386(7): 617-628.
- Bulaklak, K., Gersbach, C. A. (2020). The once and future gene therapy. *Nature Communications*, 11(1): 1-4.
- Jensen, T. L., Gøtzsche, C. R., Woldbye, D. P. (2021). Current and Future Prospects for Gene Therapy for Rare Genetic Diseases Affecting the Brain and Spinal Cord. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14: 695937.

---

---

## Anticorpi monoclonali: storia, meccanismo d'azione e indicazioni terapeutiche non oncologiche

- Kohler, G., Milstein, C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 256: 495–497.
- Kaplon, H., Reichert, J.M. (2019). Antibodies to watch in 2019. *MAbs*, 11: 219–238.
- Labrijn, A.F., Janmaat, M.L., Reichert, J.M., Parren, P.W.H.I. (2019). Bispecific antibodies: a mechanistic review of the pipeline. *Nat Rev Drug Discov*, 18: 585–608.
- Pardoll, D.M. (2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 12: 252–264.
- Velcheti, V., Chandwani, S., Chen, X., Pietanza, M.C., Burke, T. (2019). First-line pembrolizumab monotherapy for metastatic PD-L1-positive NSCLC: real- world analysis of time on treatment. *Immunotherapy*, 11: 889–901.

## Malattie Neurologiche

- Feigin, V. L., Vos, T., Nichols, E., Owolabi, M. O., Carroll, W. M., Dichgans, M., et al. (2020). The global burden of neurological disorders: translating evidence into policy. *The Lancet Neurology*, 19(3): 255-265.
- Talbott, E.O., Malek, A.M., Lacomis, D. (2016). The epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis. *Handb Clin Neurol*: 138:225-38. doi: 10.1016/B978-0-12-802973-2.00013-6. PMID: 27637961.
- GBD 2019 Dementia Forecasting Collaborators. (2022). Estimation of the global prevalence of dementia in 2019 and forecasted prevalence in 2050: an analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet. Public Health*, 7(2): e105.
- Dashe, J.F., Wilterdink, J.L., Eichler, A.F., Goddeau R.P., Do, F. What's new in neurology. Disponibile al sito: <https://www.uptodate.com/contents/whats-new-in-neurology>
- Ashina, M., Goadsby, P. J., Dodick, D. W., Tepper, S. J., Xue, F., Zhang, F, et al. (2022). Assessment of Erenumab Safety and Efficacy in Patients With Migraine With and Without Aura: A Secondary Analysis of Randomized Clinical Trials. *JAMA neurology*, 79(2): 159-168.
- Sirbu, C. A., Ghinescu, M. C., Axelerad, A. D., Sirbu, A. M., Ionita-Radu, F. (2021). A new era for monoclonal antibodies with applications in neurology. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(1): 1.
- Ruck, T., Nimmerjahn, F., Wiendl, H., Lünemann, J.D. (2022) Next-generation antibody-based therapies in neurology. *Brain*, 145(4): 1229-1241. doi: 10.1093/brain/awab465. PMID: 34928330.
- Dodick, D. W., Lipton, R. B., Ailani, J., Lu, K., Finnegan, M., Trugman, J. M., Szegedi, A. (2019). Ubrogepant for the treatment of migraine. *New England Journal of Medicine*, 381(23): 2230-2241.
- Gklinos, P., Papadopoulou, M., Stanulovic, V., Mitsikostas, D. D., Papadopoulos, D. (2021). Monoclonal antibodies as neurological therapeutics. *Pharmaceuticals*, 14(2): 9.
- Elsbernd, P. M., & Carter, J. L. (2021). Using Monoclonal Antibody Therapies for Multiple Sclerosis: A Review. *Biologics: Targets & Therapy*, 15: 255.
- Voge, N. V., & Alvarez, E. (2019). Monoclonal antibodies in multiple sclerosis: present and future. *Biomedicines*, 7(1): 20.
- Mintun, M. A., Lo, A. C., Duggan Evans, C., Wessels, A. M., Ardayfio, P. A., Andersen, S. W., et al. (2021). Donanemab in early Alzheimer's disease. *New England Journal of Medicine*, 384(18): 1691-1704

## Vaccini

- WHO. [https://www.who.int/immunization/research/vaccine\\_pipeline\\_tracker\\_spreadsheet](https://www.who.int/immunization/research/vaccine_pipeline_tracker_spreadsheet)
- Mahmoud, A. et al. (2017) Achieving a “Grand Convergence” in global health by 2035. *Vaccine* 35: A2–A5.
- Lal, H. et al. (2018) Immunogenicity, reactogenicity and safety of 2 doses of an adjuvanted herpes zoster subunit vaccine administered 2, 6 or 12 months apart in older adults: results of a phase III, randomized, open-label, multicenter. *Vaccine* 34: 148–154.
- Dodd, L.E., Proschan, M.A., Neuhaus, J, et al. (2016) Design of a randomized controlled trial for Ebola virus disease medical countermeasures: PREVAIL II, the Ebola MCM Study. *J Infect Dis*, 213: 1906-1913.
- The PREVAIL II Writing Group (2016) A randomized, controlled trial of ZMapp for Ebola virus infection. *N Engl J Med*, 375: 1448-1456.
- Ozawa, S., Mirelman, A., Stack, M.L., Walker, D.G., Levine, O.S. (2012) Cost-effectiveness and economic benefits of vaccines in low- and middle-income countries: a systematic review. *Vaccine*, 31: 96–108.

- 
- 
- Ozawa, S., Clark, S., Portnoy, A., et al. (2017) Estimated economic impact of vaccinations in 73 low- and middle-income countries, 2001–2020. *Bull World Health Organ*, 95: 629–638.
  - Wang, H., Abajobir, A.A., Abate, K.H., et al. (2017) Global, regional, and national under-5 mortality, adult mortality, age-specific mortality, and life expectancy, 1970–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390: 1084–1150.
  - Naghavi, M., Abajobir, A.A., Abbafati, C., et al. (2017) Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390: 1151–1210.
  - Gavi (2016). 2016–2020 strategy indicator definitions. Disponibile al sito: <https://www.gavi.org/library/gavi-documents/strategy/gavi-2016-2020-strategyindicator-definitions/> (accessed March 18, 2019).
  - UN (2018). Global indicator framework for the Sustainable Development Goals and targets of the 2030 Agenda for Sustainable Development. Disponibile al sito: <https://unstats.un.org/sdgs/indicators/indicators-list/> (accessed Feb 3, 2018).
  - WHO (2018). The RED strategy. Disponibile al sito: [http://www.who.int/immunization/programmes\\_systems/service\\_delivery/red/en/](http://www.who.int/immunization/programmes_systems/service_delivery/red/en/) (accessed March 18, 2019).
  - Gavi (2018). Health system and immunisation strengthening: data. Disponibile al sito: <https://www.gavi.org/support/hss/data/> (accessed Oct 17, 2018).
  - Golding, N., Burstein, R., Longbottom, J., et al. (2017). Mapping under-5 and neonatal mortality in Africa, 2000–15: a baseline analysis for the Sustainable Development Goals. *Lancet*, 390: 2171–2182.
  - Fullman, N., Barber, R.M., Abajobir, A.A., et al. (2017). Measuring progress and projecting attainment on the basis of past trends of the health-related Sustainable Development Goals in 188 countries: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 390: 1423–1459.
  - Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X., Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, 395 (10223): 507–513.
  - Ksiazek, T.G., Erdman, D., Goldsmith, C.S., Zaki, S.R., Peret, T., Emery, S., et al., (2020). A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome N. *Engl. J. Med.* 348: 1953–1966.
  - Liu, M., Wang, T., Zhou, Y., Zhao, Y., Zhang, Y., Li, J. (2020). Potential role of ACE2 in coronavirus disease 2019 (COVID-19) prevention and management. *J. Transl. Intern. Med.* 8: 9–19. <https://doi.org/10.2478/jtim-2020-0003>.
  - Wang, C., Horby, P.W., Hayden, F.G., Gao, G.F. (2020). A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet* 395: 470–473. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9).
  - Fei, Z., Ting, Y., Ronghui, D. et al. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 395: 1054–1062. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3).

## Vaccini per COVID19

- Knoll, M.D., Wonodi, C. (2021). Oxford-AstraZeneca COVID-19 vaccine efficacy. *Lancet* 397 (10269): 72–74. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
- World Health Organization. Draft landscape and tracker of COVID-19 candidate vaccines. Disponibile al sito: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-cand...>
- Coutinho, R.M., Marquitti, F.M.D., Ferreira, L.S., Borges, M.E., Silva, R.L.P. da, Canton, O., et al. (2021). Model-based estimation of transmissibility and reinfection of SARS-CoV-2 P.1 variant. *medRxiv*.
- Challen, R., Brooks-Pollock, E., Read, J.M., Dyson, L., Tsaneva-Atanasova, K., Danon, L. (2021). Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ*. 372(579).
- Planas, D., Bruel, T., Grzelak, L., Guivel-Benhassine, F., Staropoli, I., Porrot, F., et al. (2021). Sensitivity of infectious SARS-CoV-2 B.1.1.7 and B.1.351 variants to neutralizing antibodies. *Nat Med.* 27: 917–924.
- Edara, W.V., Hudson, W.H., Xie, X., Ahmed, R., Suthar, M.S. (2021). Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 variants after infection and vaccination. *JAMA* 325:1896–1898.
- Wang, P., Nair, M.S., Liu, L., Iketani, S., Luo, Y., Guo, Y., et al. (2021). Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature* 593:130–135. doi: 10.1038/s41586-021-03398-2.
- Polack, F.P., Thomas, S.J., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., et al. (2020). Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med.* 383: 2603–2615.
- Thomas, S.J., Moreira, E.D., Kitchin, N., Absalon, J., Gurtman, A., Lockhart, S., et al. (2021). Safety and

---

---

efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine through 6 months. *N Engl J Med*. doi: 10.1056/NEJMoa2110345.

- Frenck, R.W., Klein, N.P., Kitchin, N., Gurtman, A., Absalon, J., Lockhart, S., et al. (2021). Safety, immunogenicity, and efficacy of the BNT162b2 Covid-19 vaccine in adolescents. *N Engl J Med*. 385: 239–250.

- Baden, L.R., Sahly, H.M.E., Essink, B., Kotloff, K., Frey, S., Novak, R., et al. (2021). Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine. *N Engl J Med*. 384: 403–416.

- El Sahly, H.M., Baden, L.R., Essink, B., Doblecki-Lewis, S., Martin, J.M., Anderson, E.J., et al. (2021). Efficacy of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine at completion of blinded phase. *N Engl J Med* doi: 10.1056/NEJMoa2113017.

- Emary, K.R.W., Golubchik, T., Aley, P.K., Ariani, C.V., Angus, B., Bibi, S., et al. (2021). Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B.1.1.7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial. *Lancet* 397: 1351–1362.

- Voysey, M., Clemens, S.A.C., Madhi, S.A., Weckx, L.Y., Folegatti, P.M., Aley, P.K., et al. (2021). Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *Lancet* 397: 99–111.

- Madhi, S.A., Baillie, V., Cutland, C.L., Voysey, M., Koen, A.L., Fairlie, L., et al. (2021). Efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 Covid-19 vaccine against the B.1.351 variant. *N Engl J Med* 384: 1885–1898.

- US FDA (2020). Janssen Ad26.COV2.S (COVID-19. Vaccine VRBPAC briefing document. Disponibile sul sito : <https://www.fda.gov/media/146217/download>

- Shinde, V., Bhikha, S., Hoosain, Z., Archary, M., Bhorat, Q., Fairlie, L., et al. (2021). Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 vaccine against the B.1.351 variant. *N Engl J Med* 384: 1899–1909.

- Heath, P.T., Galiza, E.P., Baxter, D.N., Boffito, M., Browne, D., Burns, F., et al. (2021). Safety and efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 385: 1172–1183.

- Tanriover, M.D., Doğanay, H.L., Akova, M., Güner, H.R., Azap, A., Akhan, S., et al. (2021). Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. *Lancet* 398: 213–222.

- Al Kaabi, N., Zhang, Y., Xia, S., Yang, Y., Al Qahtani, M.M., Abdurazzaq, N., et al. (2021). Effect of 2 inactivated SARS-CoV-2 vaccines on symptomatic COVID-19 infection in adults: a randomized clinical trial. *JAMA* 326: 35–45.

- Haas, E.J., Angulo, F.J., McLaughlin, J.M., Anis, E., Singer, S.R., Khan, F., et al. (2021). Impact and effectiveness of mRNA BNT162b2 vaccine against SARS-CoV-2 infections and COVID-19 cases, hospitalisations, and deaths following a nationwide vaccination campaign in Israel: an observational study using national surveillance data. *Lancet* 397: 1819–1829.

- Abu-Raddad, L.J., Chemaitelly, H., Butt, A.A. (2021). Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 variants. *N Engl J Med* 385: 187–189.

- Nasreen, S., He, S., Chung, H., Brown, K.A., Gubbay, J.B., Buchan, S.A., et al. (2021). Effectiveness of COVID-19 vaccines against variants of concern. *medRxiv* 2021.6.28.21259420.

- Bernal, J.L., Andrews, N., Gower, C., Robertson, C., Stowe, J., Tessier, E., et al. (2021). Effectiveness of the Pfizer-BioNTech and Oxford-AstraZeneca vaccines on covid-19 related symptoms, hospital admissions, and mortality in older adults in England: test negative case-control study. *BMJ* 373: n1088.

- Paris, C., Perrin, S., Hamonic, S., Bourget, B., Roué, C., Brassard, O., et al. (2021). Effectiveness of mRNA-BNT162b2, mRNA-1273, and ChAdOx1 nCoV-19 vaccines against COVID-19 in health care workers: an observational study using surveillance data. *Clin Microbiol Infect* S1198–743X: 379–387.

- Dagan, N., Barda, N., Biron-Shental, T., Makov-Assif, M., Key, C., Kohane, I.S., et al. (2021). Effectiveness of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine in pregnancy. *Nat Med* 27: 1693–1695.

- Keehner, J., Horton, L.E., Binkin, N.J., Laurent, L.C., Pride, D., Longhurst, C.A., et al. (2021). Resurgence of SARS-CoV-2 infection in a highly vaccinated health system workforce. *N Engl J Med* 385: 1330–1332.

- Andrews, N., Tessier, E., Stowe, J., Gower, C., Kirsebom, F., Simmons, R., et al. (2021). Vaccine effectiveness and duration of protection of Comirnaty, Vaxzevria and Spikevax against mild and severe COVID-19 in the UK. *medRxiv* 09.15.21263583.

- Chodick, G., Tene, L., Rotem, R.S., Patalon, T., Gazit, S., Ben-Tov, A., et al. (2021). The effectiveness of the TWO-DOSE BNT162b2 vaccine: analysis of real-world data. *Clin Infect Dis*: ciab438.

- Fabiani, M., Ramigni, M., Gobetto, V., Mateo-Urdiales, A., Pezzotti, P., Piovesan, C. (2021). Effectiveness of the Comirnaty (BNT162b2, BioNTech/Pfizer) vaccine in preventing SARS-CoV-2

---

---

infection among healthcare workers, Treviso province, Veneto region, Italy, 27 December 2020 to 24 March 2021. *Eurosurveillance* 26: 2100420.

- Pilishvili, T., Gierke, R., Fleming-Dutra, K.E., Farrar, J.L., Mohr, N.M., Talan, D.A., et al. (2021). Effectiveness of mRNA Covid-19 vaccine among U.S. health care personnel. *N Engl J Med* NEJMoa2106599.
- Tenforde, M.W. (2021). Effectiveness of pfizer-BioNTech and Moderna vaccines against COVID-19 among hospitalized adults aged  $\geq 65$  Years — United States, January–March 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 70: 674–679.
- Shah, A.S.V., Gribben, C., Bishop, J., Hanlon, P., Caldwell, D., Wood, R., et al. (2021). Effect of vaccination on transmission of SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 385: 1718–1720.
- Bianchi, F.P., Germinario, C.A., Migliore, G., Vimercati, L., Martinelli, A., Lobifaro, A., et al. (2021). BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine effectiveness in the prevention of SARS-CoV-2 infection: a preliminary report. *J Infect Dis* 224: 431–434.
- Tang, L., Hijano, D.R., Gaur, A.H., Geiger, T.L., Neufeld, E.J., Hoffman, J.M., et al. (2021). Asymptomatic and symptomatic SARS-CoV-2 infections after BNT162b2 vaccination in a routinely screened workforce. *JAMA* 325: 2500–2502.
- Butt, A.A., Omer, S.B., Yan, P., Shaikh, O.S., Mayr, F.B. (2021). SARS-CoV-2 vaccine effectiveness in a high-risk national population in a real-world setting. *Ann Intern Med* 174: 1404–1408.
- Thompson, M.G., Burgess, J.L., Naleway, A.L., Tyner, H., Yoon, S.K., Meece, J., et al. (2021). Prevention and attenuation of covid-19 with the BNT162b2 and mRNA-1273 vaccines. *N Engl J Med* 385: 320–329.
- Pegu, A., O'Connell, S., Schmidt, S.D., O'Dell, S., Talana, C.A., Lai, L., et al. (2021). Durability of mRNA-1273 vaccine-induced antibodies against SARS-CoV-2 variants. *Science* 373:1372–1377.
- Wang, Z., Schmidt, F., Weisblum, Y., Muecksch, F., Barnes, C.O., Finkin, S., et al. (2021). mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature* 592:616–622.
- Wang, G.-L., Wang, Z.-Y., Duan, L.-J., Meng, Q.-C., Jiang, M.-D., Cao, J., et al. (2021). Susceptibility of circulating SARS-CoV-2 variants to neutralization. *N Engl J Med* 384: 2354–2356.
- Chen, Y., Shen, H., Huang, R., Tong, X., Wu, C. (2021). Serum neutralising activity against SARS-CoV-2 variants elicited by CoronaVac. *Lancet Infect Dis* 21: 1071–1072.
- Edara, V.-V., Pinsky, B.A., Suthar, M.S., Lai, L., Davis-Gardner, M.E., Floyd, K., et al. (2021). Infection and vaccine-induced neutralizing-antibody responses to the SARS-CoV-2 B.1.617 variants. *N Engl J Med* 385: 664–666.
- Liu, J., Liu, Y., Xia, H., Zou, J., Weaver, S.C., Swanson, K.A., et al. (2021) BNT162b2-elicited neutralization of B.1.617 and other SARS-CoV-2 variants. *Nature* 596: 273–275.

## Altre aree ad alta innovatività

### Farmaci RNAi

- Zamecnik, P.C., Stephenson, M.L. (1978) Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:280–284.
- Wang, F., Zuroske, T., Watts, J.K. (2020) RNA therapeutics on the rise. *Nat Rev Drug Discov* 19: 441–442.
- Croke, S.T., Witztum, J.L., Bennett, C.F., Baker, B.F. (2018) RNA-targeted therapeutics. *Cell Metab* 27: 714–739.
- Falese, J., Donlic, A., Hargrove, A. (2021) Targeting RNA with small molecules: from fundamental principles towards the clinic. *Chem Soc Rev* 50: 2224–2243.
- Wang, F., Wang, L., Zou, X., Duan, S., Li, Z., Deng, Z., et al. (2019) Advances in CRISPR-Cas systems for RNA targeting, tracking and editing. *Biotechnol Adv* 37: 708–729.
- Croke, S.T., Baker, B.F., Croke, R.M., Liang, X.H. (2021) Antisense technology: an overview and prospectus. *Nat Rev Drug Discov* 20: 427–453.
- Desterro, J., Bak-Gordon, P., Carmo-Fonseca, M. (2020) Targeting mRNA processing as an anticancer strategy. *Nat Rev Drug Discov* 19: 112–129.
- Li, D., Mastaglia, F.L., Fletcher, S., Wilton, S.D. (2018) Precision medicine through antisense oligonucleotide-mediated Exon skipping. *Trends Pharm Sci* 39: 982–994.
- Corey, D.R. (2017) Nusinersen, an antisense oligonucleotide drug for spinal muscular atrophy. *Nat Neurosci* 20: 497–499.
- Castanotto, D., Rossi, J.J. (2009) The promises and pitfalls of RNA-interference-based therapeutics. *Nature* 457: 426–433.
- Medley, J.C., Panzade, G., Zinovyeva, A.Y. (2021) microRNA strand selection: unwinding the rules.

---

---

Wiley Interdiscip Rev Rna 12: e1627.

- Kim, H., Kim, J., Yu, S., Lee, YY, Park, J., Choi, R.J., et al. (2020) A mechanism for microRNA arm switching regulated by uridylation. *Mol Cell* 78: 1224–1236.e5.
- Long, J.M., Maloney, B., Rogers, J.T., Lahiri, D.K. (2019) Novel upregulation of amyloid- $\beta$  pre-cursor protein (APP) by microRNA-346 via targeting of APP mRNA 5'-untranslated region: Implications in Alzheimer's disease. *Mol Psychiatry* 24: 345–363.
- Rupaimoole, R., Slack, F.J. (2017) MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov* 16: 203–222.
- Meng, X., Jiang, Q., Chang, N., Wang, X., Liu, C., Xiong, J., et al. (2016) Small activating RNA binds to the genomic target site in a seed-region-dependent manner. *Nucleic Acids Res.* 44: 2274–2282.
- Portnoy, V., Lin, S.H.S., Li, K.H., Burlingame, A., Hu, Z-H., Li, H., et al. (2016) saRNA-guided Ago2 targets the RITA complex to promoters to stimulate transcription. *Cell Res.* 26: 320–335.
- Tan, C.P., Sinigaglia, L., Gomez, V., Nicholls, J., Habib, N.A. (2021) RNA activation-A novel approach to therapeutically upregulate gene transcription. *Molecules* 26: 6530.
- Pickar-Oliver, A., Gersbach, C.A. (2019) The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20: 490–507.
- Strutt, S.C., Torrez, R.M., Kaya, E., Negrete, O.A., Doudna, J.A. (2018) RNA-dependent RNA targeting by CRISPR-Cas9. *Elife* 7: e32724.
- Konermann, S., Lotfy, P., Brideau, N.J., Oki, J., Shokhirev, M.N., Hsu, P.D. (2018) Transcriptome engineering with RNA-targeting type VI-D CRISPR effectors. *Cell* 173: 665–676.e14.

#### **HIV/AIDS**

- Palella, F.J., Delaney, K.M., Moorman, A.C., et al. (1998). Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *N Engl J Med* 338(13): 853-860
- Chandiwana, N.C., Celicia, M., Serenata, C.M., Owen, A. et al. (2021) Impact of long-acting therapies on the global HIV epidemic. *AIDS* 35(2): S137–S143.
- Colbers, A., Gibb, D.M., Ford, D., Turkova, A., Burger, D.M. (2020). ODYSSEY trial team. Simplified dolutegravir dosing for children with HIV weighing 20 kg or more: pharmacokinetic and safety substudies of the multicentre, randomised ODYSSEY trial. *Lancet HIV* 7(8): e533–544.
- World Health Organization (2021). Consolidated guidelines on HIV prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring: recommendations for a public health approach.
- Cresswell, F.V., Lamorde, M. (2022). Implementation of long-acting antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries. *Current Opinion in HIV and AIDS* 17(3): 127-134.
- Nishimwe, M.L., Tovar-Sanchez, T., Wandji, M.L., et al. (2021) Cost-utility analysis of a dolutegravir-based versus low-dose efavirenz-based regimen for the initial treatment of HIV-infected patients in Cameroon (NAMSAL ANRS 12313 Trial). *PharmacoEconomics* 39: 331–343.
- Phillips, A.N., Venter, F., Havlir, D., Pozniak, A., Kuritzkes, D., Wensing, A. et al. (2019) Risks and benefits of dolutegravir-based antiretroviral drug regimens in sub-Saharan Africa: a modelling study. *Lancet HIV* 6: e116–1127.
- Vitoria, M., Hill, A., Ford, N., et al. (2018) The transition to dolutegravir and other new antiretrovirals in low- and middle-income countries – what are the issues? *AIDS* 32: 1551–1561.

#### **HCV**

- Sherman, K.E., Flamm, S.L., Afdhal, N.H., Nelson, D.R., Sulkowski, M.S., Everson, G.T., et al. (2011). ILLUMINATE Study Team. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 365(11): 1014–1024.
- Manns, M., Marcellin, P., Poordad, F., de Araujo, E.S., Buti, M., Horsmans, Y., et al. (2014). Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a or 2b plus ribavirin in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 384(9941): 414–426.
- Afdhal, N., Reddy, K.R., Nelson, D.R., Lawitz, E., Gordon, S.C., Schiff, E., et al. (2014). ION-2 Investigators. Ledipasvir and sofosbuvir for previously treated HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 370(16): 1483–1493.
- Pawlotsky, J.M., Feld, J.J., Zeuzem, S., Hoofnagle, J.H. (2015). From non-A, non-B hepatitis to hepatitis C virus cure. *J Hepatol.* 62(1 Suppl): S87–99.
- Pawlotsky, J.M., Negro, F., Aghemo, A., Berenguer, M., Dalgard, O., Dusheiko, G., et al. (2018) European Association for the Study of the Liver. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C. *J Hepatol.* 69(2): 461–511.
- World Health Organization (2017). Global hepatitis report, 2017. Disponibile al sito: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>.

- World Health Organization (2021). Global health sector strategy on viral hepatitis 2016–2021. Disponibile al sito: <http://www.who.int/hepatitis/strategy2016-2021/ghss-hep/en/>.
- Thomas, D.L. (2019) Global Elimination of Chronic Hepatitis. *N Engl J Med.* 380(21): 2041–2050.
- World Health Organization (2016). Global report on access to hepatitis C treatment. Focus on overcoming barriers. Disponibile sul sito: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/250625>.
- World Health Organization (2018). Progress report on access to Hepatitis C treatment, focus on overcoming barriers in low and middle income countries. Disponibile sul sito: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/260445/1/WHO-CDS-HIV-18.4-eng.pdf?ua=1>.
- World Health Organization (2016). Global health sector strategy on viral hepatitis 2016-2021. Towards ending viral hepatitis. Disponibile sul sito: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/246177>
- Marcellusi, A., Viti, R., Kondili, L.A., et al. (2019) Economic consequences of investing in anti-HCV antiviral treatment from the Italian NHS perspective: a real-world-based analysis of PITER data. *PharmacoEconomics* 37(2):255-266.
- Razavi, H., Sanchez-Gonzales, Y., Yuen, C., et al (2020). Global timing of hepatitis C virus elimination in high-income countries. *Liver Int* 40(3): 522-529.
- CDA Foundation's Polaris Observatory (2020) Italy progress toward elimination 2019. Disponibile al sito: <https://cda.found.org/polaris/>.
- Kondili LA, Gamkrelidze I, Blach S, et al. Optimization of hepatitis C virus screening strategies by birth cohort in Italy. *Liver Int* 2020;40(7):1545-55.

#### **Farmaci per l'infezione da SarsCov2 e il COVID**

- Beigel, J.H., Tomashek, K.M., Dodd, L.E., Mehta, A.K., Zingman, B.S., Kalil, A.C., Hohmann, E., Chu, H.Y., Luetkemeyer, A., Kline, S., Lopez de Castilla, D., Finberg, R. W., Dierberg, K., Tapson, V., Hsieh, L., Patterson, T.F., Paredes, R., Sweeney, D.A., Short, W.R., Touloumi, G., Lye, D.C., Ohmagari, N., Oh, M., Ruiz-Palacios, G.M., Benfield, T., Fatkenheuer, G., Kortepeter, M.G., Atmar, R.L., Creech, C.B., Lundgren, J., Babiker, A.G., Pett, S., Neaton, J.D., Burgess, T.H., Bonnett, T., Green, M., Makowski, M., Osinusi, A., Nayak, S., Lane, H.C. (2020). Remdesivir for the treatment of Covid-19 — final report. *N. Engl. J. Med.* 383: 1813–1826. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2007764>.
- Siemieniuk, R.A.C., Bartoszko, J.J., Ge, L., Zeraatkar, D., Izcovich, A., Pardo-Hernandez, H., et al. (2020). Drug treatments for covid-19: living systematic review and network meta-analysis. *BMJ* 370: m2980.
- Zeraatkar, D., Cusano, E., Diaz Martinez, J.P, Qasim, A., Mangala, S., Kum, E., et al. (2021). Tocilizumab and sarilumab alone or in combination with corticosteroids for COVID-19: a systematic review and network meta-analysis. *medRxiv*. Disponibile al sito: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.07.05.21259867v1>
- World Health Organization (2021). Therapeutics and COVID-19. Disponibile al sito: <https://www.who.int/teams/health-care-readiness-clinical-unit/covid-19/therapeutics>
- World Health Organization (2021). Living guidance for clinical management of COVID-19. Disponibile al sito: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-clinical-2021-2>
- World Health Organization (2021). WHO Living guideline: Drugs to prevent COVID-19. Disponibile al sito: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-prophylaxes-2021-1>
- Bartoszko, J.J., Siemieniuk, R.A.C., Kum, E., Qasim, A., Zeraatkar, D., Ge, L., et al. (2021). Prophylaxis against covid-19: living systematic review and network meta-analysis. *BMJ* 373: n949.
- World Health Organization (2020). Coronavirus (COVID-19) Dashboard [online database]. Disponibile al sito: <https://covid19.who.int>
- RECOVERY Collaborative Group (2020). Dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19 - preliminary report. *New Eng J Med* 384(8): 693-704.
- WHO SOLIDARITY Trial Consortium (2021) Repurposed antiviral drugs for COVID-19 - interim WHO SOLIDARITY trial results. *New Eng J Med* 384: 497-511.
- Wynants, L., Van Calster, B., Collins, G.S., Riley, R.D., Heinze, G., Schuit, E., et al. (2020). Prediction models for diagnosis and prognosis of covid-19: systematic review and critical appraisal. *BMJ* 369: m1328.
- Hammond, J., Leister-Tebbe, H., Gardner, A., Abreu, P., Bao, W., Wisemandle, W., et al. (2022). Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *New Eng J Med* 386: 1397-1408.
- Couzin-Frankel, J. (2021). Antiviral pills could change pandemic's course. *Science* 374(6569): 799-800.
- Vangeel, L., Chiu, W., De Jonghe, S., Maes, P., Slechten, B., Raymenants, J., et al. (2022). Remdesivir, Molnupiravir and Nirmatrelvir remain active against SARS-CoV-2 Omicron and other variants of concern. *Antiviral Res* 198: 105252.
- Gottlieb, R.L., Vaca, C.E., Paredes, R., Mera, J., Webb, B.J., Perez, G., et al. (2022). Early Remdesivir to Prevent Progression to Severe Covid-19 in Outpatients. *New Eng J Med* 386(4): 305-315.

- 
- 
- Beigel, J.H., Tomashek, K.M., Dodd, L.E., Mehta, A.K., Zingman, B.S., Kalil, A.C., et al. (2020). Remdesivir for the Treatment of Covid-19 - Final Report. *New Eng J Med* 383: 1813-1826.
  - Gordon, C.J., Tchesnokov, E.P., Woolner, E., Perry, J.K., Feng, J.Y., Porter, D.P., et al. (2020). Remdesivir is a direct-acting antiviral that inhibits RNA-dependent RNA polymerase from severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 with high potency. *J Biol Chem* 295(20): 6785-6797.
  - Jayk Bernal, A., Gomes da Silva, M.M., Musungaie, D.B., Kovalchuk, E., Gonzalez, A., Delos Reyes, V., et al. (2021). Molnupiravir for Oral Treatment of Covid-19 in Nonhospitalized Patients. *New Eng J Med* 386(6): 509-520.
  - Painter, W.P., Holman, W., Bush, J.A., Almazedi, F., Malik, H., Eraut, N.C.J.E., et al. (2021). Human Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Molnupiravir, a Novel Broad-Spectrum Oral Antiviral Agent with Activity Against SARS-CoV-2. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 65(5): e02428-20.

## **2. Disegni innovativi e nuovi end point degli studi clinici**

- Woodcock, J., LaVange, L.M. (2017) Master Protocols to Study Multiple Therapies, Multiple Diseases, or Both. *N Engl J Med*, 377: 62-70. DOI: 10.1056/NEJMra1510062
- Redig, A.J., Jänne, P.A. (2015) Basket trials and the evolution of clinical trial design in an era of genomic medicine. *J Clin Oncol* 33: 975-977.
- National Cancer Institute. NCI-MATCH Trial (Molecular Analysis for Therapy Choice). Disponibile al sito: National Cancer Institute (<http://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/clinical-trials/nci-supported/nci-match>)
- Berry, S.M., Connor, J.T., Lewis, R.J. (2015) The platform trial: an efficient strategy for evaluating multiple treatments. *JAMA* 313: 1619-1620.
- Delgado, A., Guddati, A.K. (2021) Clinical endpoints in oncology - a primer. *Am J Cancer Res*, 11(4): 1121-1131 ([www.ajcr.us](http://www.ajcr.us) /ISSN:2156-6976/ajcr0130927).
- European Medicines Association (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) (2005). Reflection paper on the regulatory guidance for the use of Health Related Quality of Life (HRQL) measures in the evaluation of medicinal products.
- Wilson, R. (2018). Patient led PROMs must take centre stage in cancer research. *Research Involvement and Engagement*, 4(1): 1-8.
- Kluzek, S., Dean, B., & Wartolowska, K. A. (2022). Patient-reported outcome measures (PROMs) as proof of treatment efficacy. *BMJ Evidence-Based Medicine*, 27(3): 153-155.





Scarica qui il volume in PDF