



**UNIVERSITÀ DI PISA**

**Facoltà di Medicina e Chirurgia**

**Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale**

**Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia**

**TESI DI LAUREA**

**Effetti cardiaci degli agonisti della sfingosina:  
monitoraggio in una coorte di pazienti con sclerosi multipla**

**Relatore**

**Prof. Ubaldo Bonuccelli**

**Candidato**

**Yulia Blinova**

**Anno accademico 2015/2016**



Riassunto	4
<i>La Sclerosi Multipla</i>	5
Introduzione	5
Eziologia	8
Patogenesi	10
Presentazione clinica	22
Diagnosi	29
Terapia	32
<i>Studio clinico:</i>	49
<i>effetti cardiaci degli agonisti della sfingosina</i>	49
Razionale dello studio	49
Metodi	49
Risultati	51
Discussione	55
<i>Bibliografia</i>	58

## **Riassunto**

Fingolimod è il primo trattamento orale approvato per la Sclerosi Multipla (SM). Si tratta di un analogo della sfingosina e lega il recettore della sfingosina 1-fosfato (S1P1) bloccando così la fuoriuscita dei linfociti dai linfonodi riducendo gli effettori iniziali della cascata infiammatoria associata alla distruzione della mielina nella Sclerosi Multipla. Questo farmaco ha mostrato una discreta riduzione del tasso annualizzato di ricadute e un miglioramento statisticamente significativo alla RMN nei pazienti trattati a fronte di una bassa incidenza di effetti collaterali. Nella nostra coorte di pazienti trattati abbiamo analizzato gli effetti cardiaci del farmaco (bradicardia e disturbi della conduzione atrio-ventricolare), monitorizzando l'ECG di questi pazienti per 6 ore alla prima somministrazione e valutando poi gli effetti a lungo termine. Partendo da questi presupposti abbiamo valutato in base alla pratica clinica il profilo di sicurezza di uno dei farmaci più efficaci per la Sclerosi Multipla.

# **La Sclerosi Multipla**

## **Introduzione**

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia infiammatoria cronica demielinizzante del sistema nervoso centrale a patogenesi autoimmune, in cui il danno tissutale è mediato prevalentemente dai linfociti T [1]. Descritta inizialmente da Cruveilhier (1835), nel 1868 Charcot ne ha descritto gli aspetti clinici e neuropatologici, quali le multiple aree di demielinizzazione del SNC, con predilezione per le vie lunghe e la sostanza bianca periventricolare, il midollo spinale, i nervi ottici, il tronco encefalico e il cervelletto.[2]

Per molti anni è stata considerata una malattia della sostanza bianca del sistema nervoso centrale, tuttavia un numero crescente di studi in tempi recenti ha dimostrato anche un coinvolgimento della sostanza grigia. Alla base della SM dunque vi è un processo di demielinizzazione che determina danni o perdita della mielina e la formazione di lesioni (placche) che possono evolvere da una fase infiammatoria iniziale a una fase cronica, in cui assumono caratteristiche simili a cicatrici, da cui deriva il termine «sclerosi».[3]

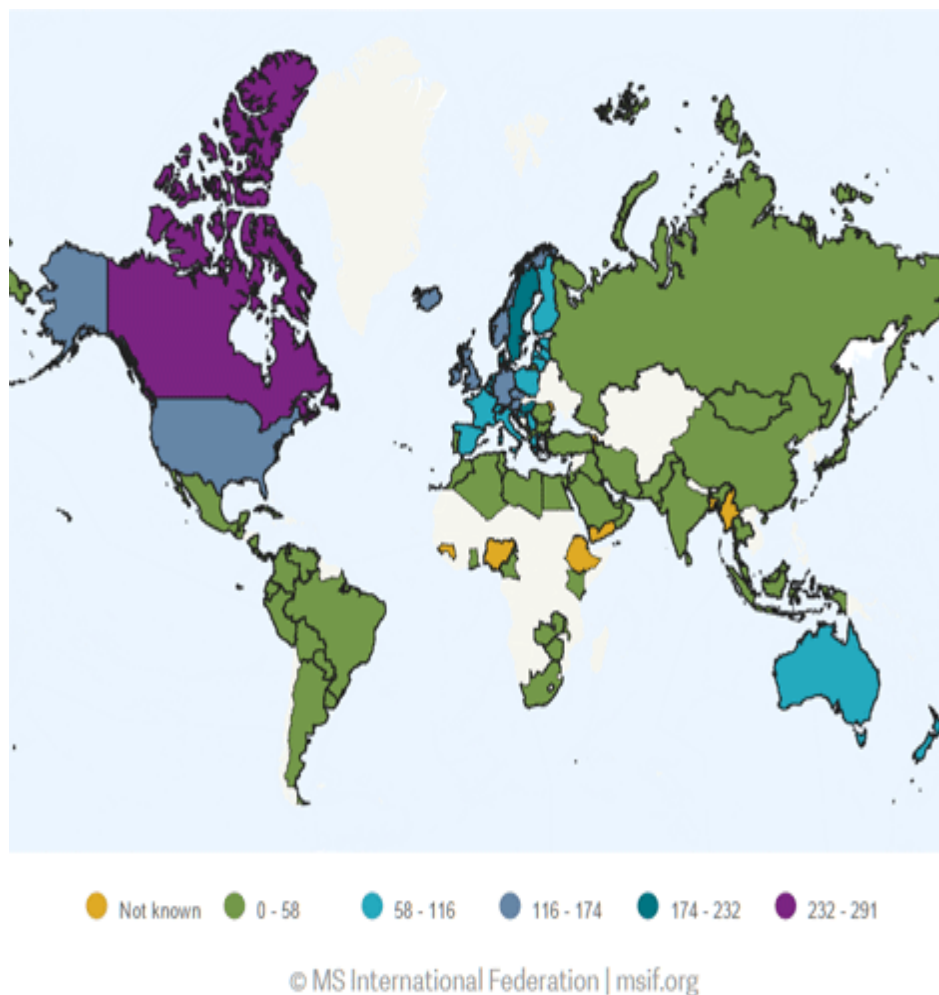
## **Epidemiologia**

Nel mondo si contano circa 2,5-3 milioni di persone con sclerosi multipla, di cui 600.000 in Europa e circa 75.000 in Italia [4] . La prevalenza più alta è nelle Isole Orcadi (300/100.000), mentre nel nord Europa la prevalenza è intorno a circa 100 casi/100.000 abitanti, in Italia circa 50-80 casi/100.000 abitanti. La maggior parte degli studi epidemiologici ha evidenziato un rapporto fra SM e latitudine: la malattia è molto rara intorno ai tropici e aumenta di frequenza con l'aumentare della latitudine.

La maggior parte dei paesi africani non è in grado di fornire informazioni sui malati di SM, poiché non dispone di questi dati. Tuttavia, la malattia risulta maggiormente diffusa in Sud Africa (5 casi ogni 100 mila abitanti), Egitto (25), Marocco (20), Tunisia (20) e Algeria (20). In Russia si ha un tasso di prevalenza pari a 50 casi ogni 100 mila abitanti, simile a ciò che si riscontra in Turchia e Iran. Tassi più elevati si riscontrano in Australia (96) e Nuova Zelanda (73). Per quanto riguarda il continente americano, Stati Uniti e Canada sono i Paesi con i tassi di prevalenza maggiori (rispettivamente 135 e 291 casi ogni 100 mila abitanti). Notevolmente inferiore il livello di diffusione della malattia nei Paesi di centro e sud America.[ 5 ]

L'incidenza della SM è due o tre volte più elevata nelle donne che negli uomini, ma il significato di questo dato non è chiaro: la spiegazione attualmente ritenuta più verosimile è che le donne sono generalmente più suscettibili alle patologie immunitarie e infiammatorie. L'incidenza della

SM nei bambini è molto bassa; solo lo 0,3-0,4 % di tutti i casi si verifica nei primi 10 anni di vita. Dopo l'infanzia il rischio aumenta rapidamente con l'età, raggiungendo un picco a circa 30 anni e rimanendo alto fino alla sesta decade. Nei due terzi circa dei casi la SM esordisce tra 20 e i 40 anni di età; nella maggior parte dei rimanenti casi l'esordio avviene prima dei 20 anni, mentre in un numero esiguo di casi la malattia si sviluppa in età adulta- avanzata ( verso la fine dei 50-60 anni). [6]



**Prevalenza di casi di sclerosi multipla nel mondo (per 100.000)**

## **Eziologia**

La SM è una patologia ad origine multifattoriale, che si sviluppa in soggetti geneticamente predisposti in presenza di condizioni ambientali favorevoli. La SM è contraddistinta da un alto livello di familiarità, tanto che i parenti dei pazienti affetti sono esposti ad un rischio dalle venti alle cinquanta volte maggiore di sviluppare la malattia. Studi effettuati su gemelli monozigoti hanno inoltre attestato valori di concordanza intorno al 25% [7]. L'ereditarietà tuttavia non è basata sull'intervento di un singolo gene causale, bensì dipende da molteplici loci indipendenti l'uno dall'altro (ereditarietà poligenica), ciascuno dei quali contribuisce in modo limitato al rischio complessivo. Studi di linkage e di associazione hanno indicato il complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) sul cromosoma 6 come uno dei determinanti genetici della SM. Questo complesso codifica per i componenti del sistema HLA presentanti l'antigene ai linfociti T. Gli antigeni di classe II sono stati più frequentemente associati alla malattia ed in particolare, nella popolazione caucasica, gli aplotipi DRB1 \* 1501, DQA1 \* 0102, DQB1 \* 0602 dell'allele DR. In altre razze tuttavia la malattia è associata a differenti aplotipi HLA; ad esempio, in Sardegna dove la prevalenza della malattia è superiore a 100 casi/100.000 abitanti, si ha una maggiore associazione con gli aplotipi HLA-DR4 e DQW3. È stata riportata inoltre un'associazione fra la malattia ed alcuni loci diversi da quelli del sistema



HLA, come ad esempio i loci per la catena Vb del recettore dei linfociti T situati sul cromosoma 7 oppure il gene legato alla proteina basica della mielina situato sul cromosoma 18 [8]. Gli agenti ambientali che favoriscono l'insorgere della malattia sono per la maggior parte agenti infettivi, sia virus che batteri, che interverrebbero con un meccanismo di mimetismo molecolare. Il coinvolgimento dei virus sembra essere supportato da alcuni esperimenti di induzione della demielinizzazione in animali mediante le infezioni virali [9]. Tra i vari agenti studiati vi è il virus del morbillo, l'Epstein-Barr virus (EBV), gli Herpes virus in particolare l'HSV6 e alcuni retrovirus compreso l'HTLV1 [10]. E' stato riscontrato che l'elevazione dei livelli di anticorpi contro il virus EBV avviene già diversi anni prima dell'insorgenza della malattia dimostrando la relazione causale tra la presenza del virus e la risposta infiammatoria nelle lesioni cerebrali tipiche questa malattia [11]. Tra gli agenti batterici associati i più importanti sono la Chlamidia Pneumoniae e il Mycobacterium avium subspecies Paratuberculosis [12]. Tuttavia, per nessuno di essi è stato dimostrato un chiaro nesso eziopatogenico. Recentemente è stato ipotizzato un ruolo della vitamina D nell'eziopatogenesi dell'SM poichè la prevalenza della malattia è più alta sulle alte latitudini, dove l'esposizione solare è meno intensa. Inoltre alcuni studi hanno evidenziato che i bambini nati in aprile hanno maggior rischio della SM rispetto ai bambini nati ad ottobre e novembre [13].

## **Patogenesi**

L'ipotesi patogenetica principale consiste nel fatto che i linfociti T CD4+ circolanti nel sangue periferico, vengano attivati da un antigene infettivo con conseguente cascata di citochine e up-regulation di molecole d'adesione a livello delle cellule endoteliali del SNC e di integrine a livello della superficie dei linfociti, con facilitazione per questi ultimi al passaggio attraverso la barriera ematoencefalica; il processo viene agevolato ulteriormente dall'azione di metalloproteinasi, coinvolte nel processo di degradazione della matrice extracellulare. I linfociti migrati nel SNC vengono riattivati localmente, riconoscendo erroneamente come patogeni degli antigeni mielinici self (proteina basica della mielina e glicoproteina mielinica dell'oligodendrocita) presentati dalle locali cellule APC, a causa del meccanismo di mimetismo molecolare [14]. Altre ipotesi prevedono l'esistenza di primitivi cloni autoreattivi di linfociti T oppure un'abnorme stimolazione antigenica da parte di proteine mieliniche non riconosciute come self. Le cellule T attivate secernono citochine che stimolano la microglia e gli astrociti, richiamano altre cellule infiammatorie, inducono la produzione dei anticorpi da parte delle plasmacellule ed aumentano la permeabilità della barriera ematoencefalica, con edema tissutale, indotto anche dai mediatori e dalle proteasi secrete dai mastociti e dai monociti [15]. È stato osservato che la quantità di linfociti T reattivi verso la mielina è la stessa nei pazienti affetti da SM e nei controlli sani, tuttavia, qualitativamente si è osservata

una maggiore espressione del profilo attivato rispetto a quello *naive* ed una maggiore secrezione di citochine infiammatorie nei linfociti T dei pazienti con SM. Inoltre, nei pazienti con SM, è stata osservata una più elevata presenza di linfociti T CD8<sup>+</sup> specifici per la mielina. All'interno del SNC poi, i linfociti T CD4<sup>+</sup> si differenziano prevalentemente in senso Th1 che a loro volta producono citochine pro-infiammatorie, come l'IL-2, il TNF e l'INF- $\gamma$ , che attivano le cellule presentanti l'antigene e continuano a promuovere la differenziazione in senso Th1. Come evidenziato anche da modelli di encefalomyelite autoimmune sperimentale alcune interleuchine, in particolare l'IL-12 e l'IL-23, sembrano essere coinvolte nello switch verso la risposta Th1 e, quindi, nella patogenesi della malattia. L'IL-23 determinerebbe a sua volta la produzione di IL-17, che sembra avere un ruolo centrale nell'innescare dell'infiammazione del tessuto cerebrale dei pazienti con SM. Sempre gli esperimenti nei modelli animali, hanno dimostrato che i fattori di trascrizione Stat-4 e T-bet, necessari per l'induzione della risposta Th1, sono alla base della differenziazione di cellule T autoreattive. Per quanto riguarda i linfociti B, è stata evidenziata da tempo la sintesi intratecale di immunoglobuline oligoclonali, tuttavia, è stato ipotizzato un loro ruolo patogenetico diretto in quanto facilitanti la risposta T cellulare.

Durante la fase neurodegenerativa della malattia, vi è un eccessivo rilascio di glutammato da parte dei linfociti, macrofagi e microglia; esso attiva i recettori AMPe Kainato e determina un massivo afflusso di calcio

intracellulare, responsabile del danno necrotico a carico di assoni ed oligodendrociti. Lo stesso glutammato può attivare dei recettori a livello di neuroni ed oligodendrociti, inducendo l'attivazione della NADPH-ossidasi e dell'iNOS (inducibile nitric oxide synthase), con produzione di ossido nitrico e superossido [16; 17]. Per quanto riguarda il danno ossidativo esistente a livello delle lesioni attive, non è una sorpresa che questo sia presente, data la notevole attività infiammatoria e le numerose fonti di radicali liberi dell'ossigeno, compresi i linfociti T, la microglia e i macrofagi. E' stato dimostrato che il danno ossidativo presenta una distribuzione disomogenea all'interno delle placche, risultando massimo nelle "initial region", cioè le aree di demielinizzazione precoce in cui la microglia è notevolmente attivata, seguite, diversamente da quanto atteso, dalle "periplaque region", cioè le zone al margine con la sostanza bianca apparentemente normale [18]. Il danno ossidativo sembra principalmente imputabile alla microglia attivata, in grado di esprimere la mieloperossidasi, la NADPH-ossidasi e la iNOS e di produrre specie reattive dell'ossigeno, in particolare superossido e NO, che sono in grado di attraversare le membrane e di danneggiare oligodendrociti ed assoni [19]. Quindi, la demielinizzazione deriva sia da un danno diretto alla mielina da parte delle cellule infiammatorie sia da un danno indiretto da parte dell'ambiente che si crea in conseguenza dell'infiammazione stessa [20; 21]. Parzialmente la rimielinizzazione interviene nelle lesioni, ma la mielina è solitamente più sottile rispetto a quella di iniziale e con

segmenti internodali più corti [22]. Se la rimielinizzazione è incompleta, avviene prevalentemente al bordo della lesione; le placche completamente rimielinizzate vengono denominate “placche ombra”. I fattori che inibiscono la rimielinizzazione sono la perdita degli oligodendrociti e dei loro precursori come conseguenza della risposta immunitaria, la produzione di segnali inibitori da parte dell'infiammazione, l'interposizione delle cicatrici astrocitarie e la ridotta responsività da parte degli assoni danneggiati [23]. Studi anatomopatologici hanno messo in rilievo la presenza di oligodendrociti preservati in lesioni attive. Queste cellule possono rappresentare oligodendrociti che non sono stati danneggiati dal processo di demielinizzazione, oligodendrociti maturi che sono sopravvissuti alla perdita dei processi che formano la mielina o cellule che sono rapidamente reclutate dal pool di progenitrici ed esprimono markers di oligodendrociti maturi [24]. La formazione della nuova guaina mielinica, tuttavia, sembrerebbe derivare da cellule precursori degli oligodendrociti (OPCs), che rispondono agli stimoli chemiotattici rilasciati dal danno tissutale, migrano nelle aree demielinizzate, si attivano, proliferano e si differenziano in oligodendrociti maturi in grado di formare la mielina [25]. La rimielinizzazione risulta inefficace in presenza di placche di vecchia data, ma ciò sembra non dipendere dai cambiamenti indotti nell'assone dalla demielinizzazione cronica, che potrebbero indurre uno stato di refrattarietà alla rimielinizzazione. Piuttosto, si ritiene che sia imputabile

o all'incapacità delle OPCs di migrare e ripopolare le aree di demielinizzazione cronica o, se queste cellule sono presenti in tali zone, al fatto che esse non sono in grado di generare oligodendrociti maturi, capaci di remielinizzare le lesioni, per la presenza di fattori inibenti e/o per l'assenza di fattori stimolanti le OPCs. Al contrario, l'induzione di infiammazione acuta nell'ambito di queste lesioni croniche risulterebbe in uno stimolo alla rimielinizzazione [26]. Questo ha fatto nascere l'ipotesi che l'infiammazione stessa possa portare alla produzione di mediatori che stimolino la rimielinizzazione ed, in particolare, la migrazione e la differenziazione delle OPCs sarebbe stimolata da fattori solubili rilasciati da cellule microgliali attivate, concentrate nel sito di danno tissutale; inoltre, le cellule progenitrici esprimerebbero recettori per le molecole chemiotattiche prodotte da cellule infiammatorie o da cellule gliali attivate [27]. Anche l'attività infiammatoria presente a livello della lesione potrebbe avere un ruolo nel determinare i blocchi di conduzione. Infatti, l'NO, prodotto da macrofagi ed astrociti come mediatore dell'infiammazione o in seguito all'induzione dell'iNOS da parte di citochine pro-infiammatorie, quali il TNF- $\alpha$  e l'IFN- $\gamma$ , è in grado di bloccare la conduzione sia negli assoni normali che in quelli demielinizzati; tuttavia, gli assoni demielinizzati e quelli remielinizzati di recente sono più sensibili all'azione dell'NO, per cui anche a più basse concentrazioni di NO, incluse quelle presenti nei siti di infiammazione, risultano selettivamente bloccati [28]. L'infiammazione presente nelle

aree demielinizzate, inoltre, potrebbe determinare un'alterazione di astrociti e microglia, che hanno un ruolo fondamentale nel regolare tutta una serie di stimoli chimici presenti nel microambiente cerebrale, inducendo, pertanto, le disfunzioni neurologiche della malattia [29]. Sembra che perfino un modesto aumento dell'ampiezza nodale possa determinare un blocco di conduzione; infatti, alcune evidenze mostrano che la perdita di un dato volume di mielina a livello delle zone paranodali ha un effetto maggiore sulla conduzione rispetto alla medesima perdita distribuita lungo i vari segmenti internodali. Questo accade perchè aumenta la capacitance nodale e vi è una maggiore dispersione passiva di corrente, per cui sarà necessaria più corrente ed un tempo maggiore per indurre la depolarizzazione del nodo. Altri fattori che sembrano favorire il blocco di conduzione sono un adattamento subottimale dell'assolemma alla demielinizzazione, la presenza di una lunga regione internodale immediatamente precedente la zona di demielinizzazione ed un più ampio diametro assonale [30]. A livello delle lesioni demielinizzanti possono avere origine treni di potenziali d'azione, spontanei o indotti da modificazioni meccaniche, che si propagano in entrambe le direzioni rispetto alla placca. Questo fenomeno, in particolare se indotto da modificazioni meccaniche percepite da una particolare meccanosensibilità assonale, insorta negli assoni demielinizzati e probabilmente dovuta ad una distorsione delle caratteristiche dei canali ionici che assumono proprietà tipiche dei meccanocettori, sarebbe in grado di spiegare alcuni

sintomi tipici della malattia, come il fenomeno di Lhermitte, oppure la percezione di lampi di luce a seconda dei movimenti oculari, in pazienti in cui è colpito il nervo ottico. La scarica spontanea e prolungata, probabilmente dovuta a disregolazione dei canali ionici di membrana, invece, starebbe alla base delle parestesie continue, spesso avvertite durante gli attacchi acuti della malattia [31]. Alcune teorie invocate per spiegare i sintomi “positivi”, quali il formicolio, nell'ambito del fenomeno di Uhthoff, ovvero il riacutizzarsi di sintomi e deficit funzionali con l'esposizione ad alte temperature, come un bagno caldo o in seguito ad esercizio fisico, prevedono che l'aumento di temperatura determini blocchi di conduzione in assoni parzialmente demielinizzati [32]. Il danno assonale tardivo può derivare o da una modificazione nel microambiente del SNC o da stimoli subletali durante eventi infiammatori acuti. Alcuni meccanismi proposti per spiegare il danno assonale indotto dalla demielinizzazione prevedono un effetto diretto dovuto alla perdita dell'influenza trofica garantita dagli oligodendrociti, una conseguenza del blocco di conduzione sostenuto, un effetto indiretto dovuto all'aumentata suscettibilità degli assoni esposti ad agenti nocivi [33]. I meccanismi alla base del danno assonale precoce non sono del tutto chiari, però, data l'esistenza di una correlazione positiva tra l'entità del danno e l'infiammazione, potrebbero giocare un ruolo chiave i mediatori prodotti dalle cellule immunitarie o gliali. L'infiammazione può produrre un danno ossidativo a carico del DNA mitocondriale ed alterare l'attività dei



complessi enzimatici mitocondriali, con conseguente alterazione del metabolismo energetico e deplezione di ATP. Infatti sembra che il deficit d'attività del complesso mitocondriale IV giochi un ruolo determinante nella degenerazione assonale presente in lesioni attive; tuttavia, sia la massa mitocondriale che l'attività del complesso IV appaiono aumentate nell'ambito delle lesioni croniche inattive, presumibilmente come risposta compensatoria all'aumentata domanda energetica da parte degli assoni cronicamente demielinizzati [34]. Si è ipotizzato che il danno assonale e demielinizzazione abbiano, almeno in parte, meccanismi patogenetici diversi [35]. Il danno assonale nelle fasi precoci della malattia può causare una significativa perdita di assoni nella sostanza bianca apparentemente normale. Gli assoni del SNC vanno rapidamente incontro ad una degenerazione irreversibile, distalmente rispetto alla zona di sezione. Al contrario, la mielina che circonda questi assoni in via di degenerazione può persistere per anni dopo la lesione e può apparire normale alle indagini istologiche e alle scansioni di risonanza magnetica [36]. La progressiva disabilità neurologica presente nella SM, infatti, si ritiene sia dovuta sia al danno assonale cumulativo che alla perdita neuronale indotta dalla degenerazione walleriana, che consiste nella degenerazione e nel riassorbimento del segmento distale di un nervo, allorchè sia stato sezionato tutto il suo spessore. La presenza degli assoni danneggiati, nel corso del tempo, induce uno stress e un danno prematuro a carico degli assoni indenni, determinando ulteriori perdite e disfunzioni. Per questo

motivo, sebbene il danno assonale correli con l'entità dell'infiammazione nelle lesioni attive e sia presente in ogni stadio di malattia, in realtà è un fenomeno progressivo e graduale nel corso della malattia stessa ed è di entità maggiore nelle fasi più avanzate [37]. Esso, inoltre, rimane clinicamente silente per molto tempo e la disabilità neurologica permanente si manifesta solo quando viene raggiunta una “soglia” di perdita assonale ed i meccanismi compensatori del SNC vengono sopraffatti [30]. Per compensare la perdita e recuperare la funzionalità, la corteccia può andare incontro a cambiamenti “plastici”, che possono coinvolgere una riorganizzazione locale dei contatti sinaptici oppure il reclutamento di vie funzionali preesistenti e parallele. In particolare, un alterato pattern di attivazione neuronale, studiato mediante PET e risonanza magnetica funzionale, è stato dimostrato nelle aree motorie di pazienti con SM. E' stato rilevato che questa adattabilità e l'attivazione della corteccia motoria ipsilaterale (che conduce ad una ridotta lateralizzazione emisferica dell'attivazione motoria) è tanto maggiore quanto più elevato è il carico lesionale e la perdita di assoni; studi successivi hanno confermato un notevole reclutamento di aree motorie della corteccia ipsilaterale, in seguito all'esecuzione di compiti motori, che può essere interpretato come una risposta adattativa funzionalmente rilevante, ma limitata a lesioni croniche [38]. Si ritiene sempre più che questa alterazione nei pattern di attivazione corticali possa contribuire al recupero funzionale dei danni prodotti dalla perdita assonale

e che una perdita di tale capacità adattativa sia parte integrante del meccanismo che conduce alla progressiva disabilità neurologica [39]. Anche studi successivi hanno dimostrato come un certo grado di plasticità neuronale sia presente in individui con un notevole carico lesionale, mettendo ulteriormente in discussione l'idea che l'incremento degli esiti patologici sia accompagnato da un totale fallimento della capacità adattativa [40]. I cambiamenti funzionali adattativi nello schema di attivazione corticale dopo l'esecuzione di un compito motorio, sia a livello dell'emisfero sintomatico che in quello asintomatico, sono rilevabili anche in pazienti che hanno subito un solo episodio clinicamente manifesto di emiparesi ed aumentano con l'aumentare del tempo trascorso dall'insorgenza della malattia e con la gravità del danno cerebrale, ad indicare che tale plasticità possa essere responsabile, almeno in parte, del recupero funzionale che tipicamente si verifica una volta esauritasi la fase attiva della malattia [41]. Poiché gli assoni costituiscono la parte prevalente del volume della sostanza bianca, una loro riduzione comporta necessariamente una atrofia cerebrale, che può essere prevalentemente determinata o dalla perdita tissutale a livello delle lesioni o dalla degenerazione walleriana a carico dei nervi corrispondenti. Ad ogni stadio di malattia, vi è un aumentato tasso di atrofia cerebrale nei pazienti con SM rispetto ai controlli (si osserva una riduzione annua del volume cerebrale dello 0,6-1% rispetto allo 0,1-0,3% dei controlli). Così come la degenerazione assonale, l'atrofia è più evidente nei pazienti

con forme progressive di malattia e può essere un predittore di evolutività verso queste forme. Si è, inoltre, osservato che l'atrofia cerebrale segue di mesi o anni le fasi di infiammazione acuta o demielinizzazione, per cui vi potrebbe essere un lasso di tempo potenzialmente ottimale per la messa in atto di strategie terapeutiche neuroprotettive, atte a prevenire l'ingravescente disabilità neurologica [42]. Tuttavia, studi recenti hanno dimostrato la presenza di atrofia corticale anche in pazienti con malattia in fase iniziale [43], ma i meccanismi alla base di questo reperto non sono del tutto chiari: una ipotesi è che il danno assonale possa dar luogo ad una degenerazione retrograda, oppure potrebbero essere responsabili le stesse lesioni corticali, con il loro carico di infiammazione, perdita di mielina e sezione degli assoni [44]. Il coinvolgimento della corteccia è stato poi messo in relazione al deterioramento cognitivo, che colpisce dal 40% al 65% dei pazienti affetti. Studi di risonanza magnetica hanno messo in evidenza una correlazione tra la progressione del deterioramento cognitivo e l'aumento sia del carico lesionale che dell'atrofia [45]. Mediante studi funzionali in grado di valutare l'attività metabolica della corteccia con la PET, è stata riscontrata una diminuzione globale e regionale del metabolismo nei pazienti con SM e questo dato correla con il livello di deficit cognitivo dei pazienti stessi, indicando che il carico lesionale influisce negativamente sulla funzionalità neuronale [46]. Dai dati ottenuti dai test neuropsicologici e da studi di risonanza magnetica e risonanza magnetica funzionale, si può ritenere che il deficit

cognitivo non sia il risultato solo dell'atrofia cerebrale, ma piuttosto del venir meno dell'equilibrio instauratosi tra danno tissutale, riparazione e riorganizzazione funzionale adattativa [47]. Anche l'apoptosi, oltre alla necrosi, è coinvolta nella patogenesi della SM, in parte perchè la perdita della mielina rende i neuroni più suscettibili al legame da parte di molecole che inducono apoptosi, piuttosto che necrosi. L'apoptosi interessa i leucociti, gli oligodendrociti ed i neuroni nell'ambito delle lesioni di malattia, ma il suo preciso ruolo non è stato ancora identificato. Numerosi oligodendrociti apoptotici sono stati messi in evidenza nell'ambito di nuove lesioni sintomatiche, in assenza di risposta immune cellulare, mentre le lesioni croniche di malattia non mostrano oligodendrociti apoptotici. Queste osservazioni fanno ipotizzare che l'apoptosi degli oligodendrociti rappresenti uno stadio precoce dell'evoluzione delle lesioni che determinano le ricadute cliniche di malattia e che possa intervenire nel processo di demielinizzazione . L'apoptosi sembra essere parzialmente responsabile anche della progressione della malattia e spiegherebbe il motivo per cui la disabilità dei pazienti aumenta anche quando le lesioni alla risonanza magnetica appaiono quiescenti[48; 49].

## **Presentazione clinica**

I sintomi iniziali di SM sono variabili, a seconda della sede lesionale, tuttavia alcuni sintomi si presentano più frequentemente. I disturbi si manifestano e raggiungono il loro acme in poche ore o in alcuni giorni. Nella maggior parte dei casi il sintomo iniziale è una ipostenia ad uno o più arti (40% dei casi), una neurite ottica (22%), un disturbo soggettivo della sensibilità (tipo parestesie e disestesie) (21%), diplopia, vertigini. Tali sintomi possono comparire isolatamente (esordio monosintomatico) o in associazione (esordio polisintomatico). I disturbi iniziali tendono nella maggior parte dei casi a regredire dopo un periodo di tempo variabile ed in seguito possono ripresentarsi o possono comparire altri sintomi e segni di sofferenza focale del SNC. La malattia è molto eterogenea così diversi per ogni singolo paziente saranno l'età di esordio, il sintomo iniziale, la frequenza delle ricadute, il decorso della malattia, la disabilità e la sua progressione. Nei casi avanzati, tuttavia, i disturbi motori, la spasticità, l'atassia, le turbe della sensibilità, i deficit visivi e le turbe sfinteriche sono pressoché costantemente presenti [50]. Le funzioni (sistemi funzionali) maggiormente colpite sono quindi in primo luogo quelle piramidali: si ha ipostenia, che può manifestarsi con monoparesi, emiparesi, o paraparesi. Nei casi di interessamento più lieve si riscontrano segni tipici di interessamento del sistema piramidale come iperreflessia profonda, segno di Babinski, assenza dei riflessi addominali, mioclono del piede e della rotula all'esame obiettivo neurologico. Sintomo molto frequente dovuto

alla lesione delle vie cortico-spinali è la spasticità ovvero aumento del tono muscolare di intensità variabile: da accessi di spasmi tonici, tipicamente notturni e dolorosi fino ad ostacolare nei casi più gravi il mantenimento della posizione seduta. Il secondo sistema funzionale maggiormente colpito è quello visivo: si tratta di un calo del visus che si sviluppa in alcuni giorni, con sensazione di vedere “appannato” o vere e proprie alterazioni nella visione dei colori “discromatopsia” spesso precedute o in concomitanza con dolore retro o sovraorbitario; questa condizione viene denominata neurite ottica retro bulbare ad indicare un focale interessamento infiammatorio a carico del nervo ottico. Altro sintomo, sebbene meno tangibile dal punto di vista obiettivo è la fatica, da alcuni definito stigma della patologia. Si può descrivere come senso opprimente di stanchezza, mancanza di energia e sensazione di spossatezza esagerata rispetto all’effettivo livello di attività effettuata. Può comparire a qualsiasi stadio della malattia e non è strettamente correlato con la disabilità e con la compromissione delle funzioni piramidali. Inoltre è notevolmente esacerbata da aumenti della temperatura corporea. Dato l’elevato tropismo che hanno le lesioni demielinizzanti per i penducoli cerebellari ed il cervelletto spesso si riscontrano sintomi di tipo cerebellare, riassunti nella classica triade: nistagmo, tremore intenzionale e parola scandita. Il sintomo maggiormente frequente è l’atassia, statica e dinamica, che nelle forme più gravi interessa anche gli arti inferiori e il tronco; nelle forme avanzate di malattia è caratteristica l’andatura atasso-

spastica, per coinvolgimento temporaneo del sistema piramidale e cerebellare. Sono spesso presenti dismetria e soprattutto tremore intenzionale di grande ampiezza, che influenza negativamente la normale gestualità del paziente; il tremore può interessare anche gli arti e il tronco, essere presente anche a riposo. Talora si ha il coinvolgimento delle funzioni del tronco encefalico che si manifestano tramite segni di interessamento delle vie lunghe ascendenti e discendenti e dei nervi cranici. Un sintomo molto tipico è la diplopia, per l'interessamento dei centri dell'oculomotricità, viene infatti descritta come caratteristica peculiare della SM l'oftalmoplegia internucleare, caratterizzata da deficit dell'adduzione nell'occhio omolaterale al fascicolo lesa e da nistagmo orizzontale, nell'occhio controlaterale abdotto. Si può inoltre avere il caratteristico nistagmo pendolare, cioè caratterizzato da due fasi di uguale velocità, con l'assenza di una chiara direzionalità; i pazienti con nistagmo pendolare lamentano la sensazione di vedere muovere l'ambiente circostante (oscillopsia). Altro segno caratteristico è la paralisi del nervo facciale spesso associata ad alterazione della sensibilità dell'emivolto colpito. Nelle forme più avanzate vi può essere un danno dei nervi cranici bulbari o dei tratti cortico-bulbari, con disfagia, disfonia e disartria, che in alcuni casi può assumere le caratteristiche della paralisi pseudo-bulbare, associandosi a crisi di riso e pianto spastico e deterioramento intellettivo. Tipico è l'interessamento del sistema vestibolare, che si manifesta con alterazioni dell'equilibrio alla stazione eretta ed alla deambulazione.



Possono essere colpite anche le funzioni sfinteriche e viscerali, queste solitamente correlate all'interruzione delle vie discendenti di controllo che vanno dai centri encefalici a quelli sacrali del midollo con una perdita dell'inibizione sui questi ultimi soprattutto nei sintomi urinari. La manifestazione più tipica è rappresentata dall'iperreflessia detrusoriale: il riempimento della vescica provoca instabilità della parete vescicale con conseguente contrazione detrusoriale. I pazienti avvertono tale anomalia come urgenza minzionale, talora associata ad una vera e propria incontinenza da urgenza. Infine non va dimenticato l'interessamento delle funzioni cognitive con manifestazioni tipiche della demenza sottocorticale: perdita della memoria di fissazione, del mantenimento dell'attenzione e della fluency verbale nonché riduzione della capacità critiche di astrazione. In altri casi si può evidenziare il quadro psicocognitivo della demenza da interessamento prefrontale o della sindrome pseudo-bulbare. Nel primo caso è tipicamente evidente uno stato di euforia, inappropriato allo stato di malattia, con indifferenza per l'evento morboso. Dal punto di vista psichico è molto frequente lo sviluppo di disturbi del tono affettivo e di una vera e propria depressione. La prevalenza di questo disturbo nei pazienti con SM è stimata intorno al 60%; vi è inoltre un aumento del rischio di suicidio, pari a circa 15 volte la popolazione normale.

In base al decorso della malattia è possibile identificare quattro principali forme cliniche di SM:

- forma recidivante-remittente (SM-RR): è la forma più frequente, poiché interessa l'85% dei pazienti; è caratterizzata dal ricorrere di episodi acuti di malattia, detti “ricadute”, che insorgono nell'arco di ore o giorni e tendono a regredire, del tutto o in parte, nell'arco di settimane o mesi, con un intervallo, tra un attacco e l'altro, in cui i pazienti sono neurologicamente stabili (“remissioni”);
- forma secondariamente progressiva (SM-SP): è considerata l'evoluzione temporale della forma precedente, poiché circa il 50% dei pazienti con una forma SM-RR, dopo 10 dall'esordio, evolve verso questa forma progressiva e questo si verifica nella quasi totalità dei casi dopo 25 anni di malattia; è caratterizzata da una disabilità neurologica progressiva, in assenza di attacchi acuti;
- forma primariamente progressiva (SM-PP): interessa circa il 10% dei pazienti ed è caratterizzata da una graduale e continua progressione della disabilità, fin dall'esordio di malattia, salvo sporadici e temporanei lievi miglioramenti o fasi di plateau, in assenza di attacchi acuti;
- forma progressiva recidivante (SM-PR): interessa circa il 5% dei pazienti ed è caratterizzata da una progressiva disabilità, sin dall'esordio, con la possibilità di occasionali attacchi acuti di malattia e scarso recupero dopo l'episodio [51].

Nella ricaduta, in genere, i sintomi evolvono nell'arco di alcuni giorni, si stabilizzano e poi recedono nel giro di alcune settimane, spontaneamente o più rapidamente in risposta alla terapia corticosteroidea [52].

L'intervallo di tempo tra l'esordio della malattia e la prima ricaduta è piuttosto variabile, con circa il 30% dei pazienti che ha la prima ricaduta entro un anno dall'esordio dei sintomi, il 20% entro due anni, un altro 20% tra i cinque ed i nove anni ed, infine, un 10% tra i dieci ed i trent'anni [53]. Alcuni fattori sono stati analizzati come possibili scatenanti gli episodi acuti. Tra questi, le infezioni virali delle prime vie aeree o del tratto gastrointestinale che, nel 10% dei casi, sono seguite da ricadute [1]. Durante la gravidanza si registra una diminuzione nella frequenza di ricadute, in particolare nel terzo trimestre, ed un aumento nei primi tre mesi dopo il parto. Questo effetto è stato messo in relazione col fatto che l'unità feto-placentare produce citochine, che riducono l'immunità cellulare della madre, mentre il puerperio potrebbe, invece, essere associato con un'inversione di questo bilancio di citochine [54]. L'eccessiva esposizione al calore, ed in particolare bagni molto caldi possono scatenare nuovi attacchi [55]. I pazienti affetti da SM tollerano meno i sintomi quando sottoposti a situazioni stressanti, ma i fattori psicologici in generale non influiscono sull'attività di malattia [1]. Alcune variabili, che caratterizzano le prime fasi di malattia nella forma recidivante-remittente, influenzano il periodo di tempo che intercorre tra l'esordio della SM e l'inizio della fase di disabilità irreversibile. La malattia sembra avere, per lo meno nelle prime fasi, un decorso più favorevole nel sesso femminile, nei pazienti di più giovane età, in coloro che mostrano un completo recupero dopo il primo attacco e nei

pazienti con un intervallo maggiore tra il primo ed il secondo episodio. Per quanto riguarda le manifestazioni cliniche iniziali, la neurite ottica o sintomi esclusivamente sensitivi sembrano essere indicativi di prognosi più favorevole, al contrario dei casi che presentano una disfunzione isolata delle vie lunghe, mentre in pazienti con una isolata disfunzione del tronco encefalico i risultati sono intermedi. La SM sembra essere caratterizzata da un decorso in due fasi, in cui il primo periodo, di durata variabile, è influenzato dalle caratteristiche cliniche di presentazione, mentre il secondo periodo non è modificato dai sintomi e segni e dal decorso nelle prime fasi di malattia. Questo indica che quando è stata raggiunta una soglia di disabilità irreversibile, la patologia entra in una via finale comune in cui la successiva progressione procede indipendentemente dalla storia clinica precedente [56; 57]. Una delle caratteristiche della SM, pertanto, è l'ampia variabilità nell'evoluzione finale tra i diversi pazienti, che si estende dai casi cosiddetti benigni, in cui il paziente rimane pienamente funzionale in tutti i sistemi neurologici dopo 15 anni dall'esordio della malattia, alle forme maligne, in cui la malattia ha un decorso rapido e progressivo, che porta ad una significativa disabilità in molteplici sistemi neurologici o a morte in un tempo relativamente breve dall'esordio [58].

## **Diagnosi**

La diagnosi di Sclerosi Multipla si basa sulla presenza di segni e sintomi attribuibili a lesioni della sostanza bianca distribuite nel tempo e nello spazio e sull'esclusione di altre patologie. I criteri di diagnosi attualmente utilizzati sono quelli di Mc Donald rivisti ed aggiornati nel 2010, in cui si ha come elemento fondamentale la dimostrazione della disseminazione spazio-temporale. Per disseminazione spaziale si intende almeno 1 lesione in T2 in almeno 2 delle 4 localizzazioni chiave: juxtacorticale, periventricolare, infratentoriale e midollare. La disseminazione temporale consiste invece nella comparsa di nuove lesioni ad una RMN di follow-up ovvero nella coesistenza di lesioni vecchie e nuove (captanti il mdc) anche alla sola RMN basale. Ciò permette una diagnosi estremamente precoce, anche con un unico sintomo clinico e conseguentemente un precoce inizio di terapia [59]. Di aiuto alla diagnosi vi sono l'esame del liquor e i potenziali evocati; il primo quando positivo presenta tipicamente le gammaglobuline sintetizzate a livello del SNC, che all'elettroforesi in gel di agarosio migrano come distinte popolazioni patologiche a costituire le cosiddette bande oligoclonali di IgG. Si ha una positività dell'esame del liquor nell'80-90% dei casi, perciò tale esame non ci consente di escludere la patologia anche se negativo [60]. I potenziali evocati ottenuti dalla stimolazione delle vie visive, uditive, somatosensoriali o della via motoria centrale possono essere alterati nella SM più frequentemente come aumento della latenza mentre l'ampiezza del

potenziale è in genere invariata. Consentono il riconoscimento di una lesione subclinica, in sedi diverse da quelle note e possono dimostrare quindi la disseminazione spaziale della malattia. In generale, i potenziali evocati visivi (PEV) risultano alterati nel 70% dei pazienti con una forma clinicamente definita di SM e nel 60% di quelli con SM probabile. I potenziali evocati acustici (PEA), spia di lesione tronco-encefalica, risultano alterati nel 40% dei pazienti con diagnosi definita di SM, in assenza di sintomi acustici, e nel 15-20% dei pazienti con diagnosi probabile di SM. I potenziali evocati somatosensoriali (PES) sono alterati nel 60% dei casi di SM definita e nel 40% dei casi di SM probabile. [61; 62]. Inoltre bisogna effettuare una buona diagnosi differenziale considerando in particolare due elementi principali che devono indurre a pensare a diagnosi alternative, e cioè la mancanza di sintomi come quelli di neurite ottica, segno di Lhermitte, livelli sensitivi, vescica neurologica e la mancanza di elementi tipici alla risonanza magnetica come lesioni ovalari o lineari con dimensioni superiori ai 6 mm, asimmetriche e localizzate in sede periventricolare [63; 64]. Altri riscontri tipici in RMN sono aree ipointense in T1 in caso di placche croniche che appaiono come “buchi neri” (black holes”) nella sostanza bianca e correlano parzialmente con la disabilità e con la progressione della malattia soprattutto nelle forme secondariamente progressive, essendo il deficit neurologico espressione di marcata demielinizzazione, perdita assonale e gliosi [65]. Nelle prime fasi evolutive di una lesione da SM si verifica un’interruzione

della barriera emato-encefalica, presumibilmente causata da infiammazione. Tuttavia, la maggior parte delle lesioni, una volta visualizzate nelle sequenze pesate in T2, raramente scompaiono, a meno che non siano localizzate nel tronco cerebrale o nel midollo spinale. Inoltre, fin dalle prime fasi della SM, è evidenziabile un certo grado di atrofia del tessuto nervoso, sebbene questo fenomeno sia progressivo ed aumenti col decorso della malattia [66].

## Terapia

Sebbene attualmente non esista una terapia in grado di curare la SM vi sono disponibili numerosi trattamenti che in base al loro obiettivo si suddividono in terapia dell'attacco atta a ridurre l'inflammazione acuta e terapia di fondo, atta invece a ridurre la frequenza e la gravità delle ricadute di malattie ovvero a limitare l'accumulo di disabilità. Le terapie di fondo si distinguono a loro volta in terapie di prima linea indicate fin dalla diagnosi (immunomodulanti e immunosoppressori di nuova generazione) e terapie di seconda linea (trattamenti immunosoppressivi veri e propri). Vi è infine la terapia sintomatica.

La terapia della fase acuta è rappresentata essenzialmente dai corticosteroidi. Questi farmaci riducono la durata e la gravità della ricaduta di malattia ed accelerano i tempi di recupero, agendo positivamente sulla morbilità a breve termine [67]. I farmaci utilizzati sono diversi, somministrati per via orale o parenterale, tipicamente "in boli". La terapia in bolo consiste infusione endovenosa di dosi elevate di steroide (1 g di metilprednisolone) in poche ore. La somministrazione si ripete giornalmente per un totale di 3-5 somministrazioni. Uno studio effettuato su pazienti con neurite ottica isolata ha evidenziato che un singolo ciclo di Metilprednisolone endovena può ritardare l'insorgenza di un successivo episodio di demielinizzazione [68]. Nei pazienti che non rispondono alla terapia steroidea ad alte dosi, una possibile terapia di seconda scelta può essere la plasmaferesi, eseguita per 14 giorni [69].



Per quanto riguarda invece la terapia di fondo i farmaci di prima linea a disposizione da più di venti anni sono l'interferone  $\beta$  (IFN $\beta$ ) e il glatiramer acetato (GA). Gli interferoni possono essere di differenti classi, 1a e 1b, e sono a disposizione in commercio in varie formulazioni diverse per dose, modalità e frequenza di somministrazione. Di recente immissione in commercio l'IFN $\beta$  1a sottocute a cadenza quindicinale. L'IFN $\beta$  è una proteina endogena di 166 aminoacidi, appartenente al gruppo delle citochine, che viene prodotta da fibroblasti, cellule epiteliali e macrofagi in risposta ad infezioni virali, batteriche o protozoarie e ha proprietà antivirali e antinfiammatorie, oltre che immunomodulanti. Inoltre, l'IFN $\beta$  viene prodotto dai linfociti T, dopo stimolazione con IL-2, e dai macrofagi, secondariamente alla stimolazione con IL-1 e TNF- $\alpha$ . L'IFN $\beta$  si lega a specifici recettori presenti sulle superfici cellulari ed innesca una cascata di segnali intracellulari, che conducono, infine, alla produzione di proteine con attività antivirale, antiproliferativa ed immunomodulatoria [70; 71]. Il principale meccanismo d'azione dell'IFN $\beta$  non è ancora noto con certezza, ma sembra che non abbia effetti diretti a livello del SNC. L'IFN, in quanto agente immunomodulante, modifica il decorso della malattia attraverso l'inibizione della proliferazione dei linfociti T e della loro produzione di TNF, una citochina proinfiammatoria che attiva le cellule della linea monocitofagocitaria, ed aumenta l'espressione di molecole di adesione sulle

superfici cellulari, fenomeno necessario per la traslocazione dei linfociti T autoreattivi nel SNC. Inoltre l'INF ostacola la migrazione dei linfociti T nel SNC, attraverso una ridotta produzione di metalloproteinasi della matrice, secrete dagli stessi linfociti, che sono responsabili della degradazione della membrana basale e del danneggiamento della barriera ematoencefalica. Inoltre l'INF riduce l'attivazione dei linfociti T, mediante l'inibizione della presentazione antigenica da parte delle cellule presentanti l'antigene, ottenuta tramite una riduzione dell'espressione sia di molecole HLA che di quelle costimolatorie. L'IFN $\beta$  sembra anche favorire lo switch verso la risposta antinfiammatoria o regolatoria Th2, inducendo la produzione di citochine come IL-10 e IL-4 [71; 72]. L'effetto collaterale più frequente degli IFN $\beta$  è la causa principale di sospensione del trattamento (7-23% delle interruzioni) [73], è la comparsa di una sintomatologia simil-influenzale, che si verifica in circa il 60% dei pazienti, e si caratterizza per una combinazione di febbre, cefalea, stanchezza, brividi, mialgia e malessere generalizzato. Questi sintomi compaiono dopo 2-6 ore dall'iniezione e recedono nell'arco di 24 ore; inoltre, l'incidenza declina nel corso dei primi tre mesi di terapia [74; 75]. Per prevenire queste manifestazioni è comunemente consigliata l'assunzione di FANS prima dell'iniezione ed eventualmente in seguito, oppure può risultare utile la titolazione della dose di farmaco [76]. Nel caso di somministrazione per via sottocutanea, si possono osservare reazioni nella sede di iniezione, che vanno da eritema, infiammazione,

indurimento e dolore fino ai casi più rari di necrosi cutanea, che deve essere trattata tempestivamente con terapia antibiotica ed eventualmente necessita l'interruzione della terapia o il passaggio alla somministrazione intramuscolare. Il trattamento con IFN $\beta$  può essere responsabile della comparsa di una sintomatologia di tipo depressivo o accentuarne la gravità in pazienti già affetti. Inoltre, si possono verificare anomalie negli esami di laboratorio, in genere lievi ed asintomatiche per il paziente, tra cui leucopenia, neutropenia, linfopenia ed aumento delle transaminasi epatiche; per questo motivo, nel corso della terapia sono consigliati periodici controlli ematologici ed ematochimici.

Il GA è il sale acetato di una miscela di polipeptidi sintetici costituiti da 4 aminoacidi (L-alanina, L-acido glutammico, L-lisina, L-tirosina) e mima la proteina basica della mielina (MBP), proteina ritenuta l'antigene responsabile della produzione di linfociti T autoreattivi. La molecola fu sintetizzata per indurre nell'animale da esperimento l'encefalite allergica sperimentale (EAE), il modello animale della SM, ma fu notato come fosse invece in grado di prevenirne lo sviluppo. Il copolimero-1 influenza il sistema immunitario con vari meccanismi. In primo luogo ha la capacità di inibire l'attivazione dei linfociti T autoreattivi legandosi ad essi a livello del complesso maggiore di istocompatibilità e in secondo luogo di determinare l'attivazione antigene-specifica dei linfociti T suppressor e la conseguente produzione di citochine antinfiammatorie.[71] Gli effetti collaterali più comuni del Glatiramer Acetato sono reazioni nel sito di

iniezione, reazioni sistemiche in seguito alla somministrazione, dolore toracico e linfadenopatia. Le reazioni nella sede di iniezione comprendono eritema, infiammazione, indurimento e dolore. Si può anche manifestare lipoatrofia, dovuta ad un deterioramento delle cellule adipose sottocutanee, che si manifesta come una lieve depressione cutanea. Immediatamente dopo la somministrazione, in circa il 10% dei pazienti, si manifestano reazioni sistemiche, caratterizzate da vasodilatazione con arrossamento (flushing), dolore toracico, palpitazioni, ansia, dispnea, senso di costrizione alla gola e orticaria. Questi sintomi possono durare da 30 secondi fino a mezz'ora, ma recedono spontaneamente e non richiedono trattamento. Dolore o senso di costrizione toracica transitori si verificano in circa il 20-25% dei pazienti, ma non sono associati ad eventi ischemici cardiaci, come dimostrato da registrazioni ECG. Dal 12 al 33% dei pazienti presenta linfadenopatia, non dolorosa, in genere a localizzazione inguinale, ma che può anche essere generalizzata, e che si manifesta dopo vari mesi di trattamento. Di fronte a questa evenienza sarebbe indicata una sospensione del trattamento per poter accertare che l'ipertrofia linfonodale sia realmente dovuta al farmaco ed esami ematici per escludere, invece, la presenza di una neoplasia ematologica [77]. Nel febbraio 2014 è stato approvato dall'FDA (disponibile da pochi mesi in Italia) il GA ad alto dosaggio che offre un minor numero di somministrazioni (tre volte a settimana anziché giornaliera). INF e GA sono stati approvati come terapia di prima linea nei pazienti con diagnosi

di SM-RR (caratterizzata da almeno due ricadute nei due anni precedenti) e in quelli con un singolo episodio clinico riferibile ad un evento demielinizzante (CIS), se considerati ad alto rischio di sviluppare una SM clinicamente definita. Il trattamento deve essere iniziato precocemente, poiché diversi trials clinici hanno dimostrato che trattamenti precoci hanno una maggiore efficacia, per cui è evidente la necessità di un trattamento che intervenga prima dell'insorgenza di una disabilità definitiva [43]. La terapia con questi farmaci immunomodulanti riduce la frequenza di ricadute di circa il 30-35%, non tutti i pazienti rispondono in maniera ottimale [72]. Per identificare quali pazienti non rispondono alla terapia possono essere considerati vari parametri, dopo un periodo di almeno 6-12 mesi dall'inizio del trattamento. In primo luogo il decorso clinico, in particolare, il numero di ricadute all'anno e la loro frequenza rispetto al periodo precedente la terapia, le ricadute coinvolgenti più sistemi neurologici e quelle seguite da incompleto recupero funzionale. Ancora, il giudizio soggettivo sia del medico che del paziente nell'identificare un lieve peggioramento in funzioni che coinvolgono le attività quotidiane, anche se non obiettivabile con cambiamenti nell'esame clinico, oltre alle alterazioni rivelate dalla RM e indicative di una persistente attività di malattia. Tra queste hanno importanza il carico lesionale nelle sequenze T2 pesate e la frequenza ed entità di lesioni captanti il mezzo di contrasto [78].

Negli ultimi anni sono uscite nuove terapie che hanno ottenuto l'indicazione ad essere prescritte in prima linea. La prima terapia ad essere approvata è stata la Teriflunomide nel 2012, (disponibile in Italia da agosto 2014), metabolita attivo della leflunomide, farmaco di trattamento già in uso per l'artrite reumatoide. Il farmaco va ad inibire la diidroorotato deidrogenasi, enzima responsabile della sintesi delle pirimidine. Attraverso l'inibizione di questo enzima la teriflunomide altera la produzione di acidi nucleici necessaria per la proliferazione dei linfociti attivati e coinvolti nella cascata infiammatoria responsabile della distruzione della mielina. Questo farmaco ha una efficacia dimostrata nel ridurre il tasso di ricadute del 30% circa e dagli studi registrativi si è riscontrato un miglioramento nel tempo in termini di accumulo di disabilità[79]. L'effetto collaterale più frequentemente riportato è stato l'incremento delle ALT pertanto il monitoraggio degli enzimi epatici è raccomandato al basale e poi mensilmente per i primi 6 mesi poi ogni 6 mesi. La Teriflunomide ha un effetto potenzialmente teratogeno per la sua attività di inibizione della sintesi degli acidi nucleici per cui la contraccezione è fortemente raccomandata sia nelle donne che negli uomini poiché stato riscontrato il farmaco anche nel liquido seminale. Le pazienti che vanno incontro ad una gravidanza devono effettuare una rapida eliminazione del farmaco con la colestiramina per ridurre il rischio di complicazioni fetali e malformazioni.

Nel marzo 2013 è stato approvato il dimetilfumarato (DMF) o BG12 il cui meccanismo d'azione non è completamente delineato: è noto che il DMF e il suo metabolita attivo (monometilfumarato o MMF) attivano la via del fattore nucleare 2 (nrf2) che è coinvolto nella risposta della cellula allo stress ossidativo. Il MMF è un agonista recettoriale dell'acido nicotinico. Sulla base del suo meccanismo d'azione il DMF potrebbe avere proprietà neuroprotettive per i neuroni e potrebbe inoltre modulare la risposta immune. Negli studi registrativi il DMF ha ridotto il tasso di ricadute del 45% circa migliorando anche gli endpoints di RMN rispetto al placebo. Come effetti collaterali si riscontrano flushing (40%), nausea (12%), dolore addominale (18%) e diarrea (14%). Il flushing di solito si autolimita permanendo circa per una settimana e può essere prevenuto assumendo DMF con il cibo o premedicando il paziente con aspirina. Anche gli effetti collaterali gastrointestinali di solito sono autolimitanti, durando circa 2-4 settimane dopo aver iniziato il DMF. Altre reazioni avverse comuni includono linfopenia e elevazione delle transaminasi. Per il rischio di linfopenia è raccomandato il controllo della formula leucocitaria prima dell'inizio del trattamento e poi annualmente. Negli studi l'incremento della AST è stato riscontrato nel 4% della popolazione, principalmente nei primi 6 mesi di terapia.

I farmaci di seconda linea disponibili al momento appartengono alla categoria degli immunosoppressori e vengono prescritti qualora non si sia

avuta una risposta ottimale ai farmaci di prima linea, oppure se si ha una forma rapidamente evolutiva di malattia. Il Natalizumab è un anticorpo monoclonale diretto verso la subunità  $\alpha 4\beta 1$  delle integrine, altamente espresse a livello di tutti i leucociti con l'eccezione dei neutrofil; impedendo l'interazione tra le integrine ed i loro recettori endoteliali blocca la fuoriuscita dei linfociti T dai vasi sanguigni, con conseguente inibizione del loro ingresso nel tessuto nervoso attraverso la barriera emato-encefalica. Il farmaco, al dosaggio di 300 mg, viene somministrato per via endovenosa ogni quattro settimane. L'infusione dura circa un'ora, terminata la quale inizia un periodo di osservazione della durata di un'altra ora per valutare l'insorgenza di eventuali reazioni di ipersensibilità, che si possono presentare, in maniera anche grave, durante l'infusione e nell'ora successiva. Il farmaco ha un'efficacia elevata riducendo non solo il tasso di ricadute ma anche la disabilità con un effetto sostenuto nel tempo nonché l'insorgenza di nuove lesioni alla RMN [80,81]. Per quanto riguarda la sicurezza la problematica principale riguarda il rischio di PML (Leucoencefalopatia Multifocale Progressiva): a dicembre 2014 i casi riportati di PML associata a Natalizumab erano 517 su un totale di 4.132.600 pazienti in trattamento con una mortalità del 23% [82]. Inoltre i dati di safety oltre i sei anni di esposizione sono scarsi [83]. I fattori di rischio per lo sviluppo di PML sono la positività degli anticorpi anti-JCV (John Cunningham virus), la precedente esposizione agli immunosoppressori e la prolungata esposizione a Natalizumab (> 24



mesi) [84]. Quindi l'uso di Natalizumab è raccomandato nei pazienti che non presentano anticorpi anti-JCV: questi pazienti devono poi essere testati nuovamente per gli anticorpi ogni 6 mesi per il rischio di siero conversione [85, 86]. Inoltre frequenti RMN sono raccomandate per identificare segni precoci e subclinici di PML che possano essere associati ad un outcome migliore [87].

Un altro anticorpo monoclonale umanizzato disponibile da pochi mesi come terapia di seconda linea in Italia è Alemtuzumab. La sua azione è diretta contro l'antigene CD52 espresso sulla superficie dei linfociti T e B, dei monociti, dei macrofagi e degli eosinofili, determinando una deplezione di queste cellule che persiste per molto tempo. I due studi di fase III, che hanno utilizzato Alemtuzumab somministrato per via endovenosa alla dose di 12 mg al giorno per cinque giorni all'inizio del trattamento e, dopo 12 mesi, per altri tre giorni, hanno dimostrato, in pazienti con SM-RR, una riduzione del tasso di ricadute, della progressione verso la disabilità, delle lesioni RM gadolinio-positive e della comparsa o estensione di nuove lesioni iperintense in T2, rispetto ai pazienti in trattamento con IFN $\beta$ -1a. Si possono avere importanti reazioni durante l'infusione, quali cefalea, febbre, rash e nausea; successivamente possono verificarsi infezioni delle vie respiratorie superiori e del tratto urinario, malattie autoimmuni della tiroide (29%), nefropatie (0,3%), trombocitopenia autoimmune (1,3%). Il trattamento richiede una stretta osservazione durante l'infusione, per la possibile insorgenza di reazioni

avverse, ed una profilassi verso le infezioni da herpes virus e la polmonite da *Pneumocystis jirovecii*.

Tra i trattamenti di seconda linea per l'Europa, ma di prima linea negli USA, vi è il Fingolimod, primo farmaco orale per la Sclerosi Multipla, disponibile in Italia dal 2011. Questo farmaco è un analogo della sfingosina e agisce sul suo recettore 1-fosfato (S1P). La sfingosina fa parte del doppio strato fosfolipidico delle membrane cellulari, svolgendo funzione di mediatore del signaling intracellulare. Nell'uomo esistono 5 sottotipi di recettori S1P, recettori accoppiati a proteine G, che vengono espressi in modo diverso nei diversi tessuti dell'organismo. Il Fingolimod, una volta fosforilato, è in grado di legarsi a tutti i tipi recettoriali andando ad agire inizialmente come un agonista recettoriale per poi andare a determinare una down-regulation dei recettori stessi. Poichè i linfociti attivati dalle cellule presentanti l'antigene (APC) necessitano di una UP-regulation di S1PR1 per fuoriuscire dai linfonodi, si comprende come Fingolimod, portando alla internalizzazione recettoriale, ne determini un intrappolamento a lungo termine. In tal modo si ottiene una linfopenia reversibile in quanto non si ha distruzione dei linfociti stessi; interrompendo il farmaco si è osservato infatti un ritorno alla conta linfocitaria normale nell'arco di circa 3 mesi [88]. In base al suo meccanismo d'azione quindi il Fingolimod va a colpire solo gli effettori immunitari che transitano nei linfonodi e che per fare ciò esprimono il CCR7 e CD62L sulla loro superficie; in particolare si tratta dei linfociti T

naive, T centrali della memoria (compresi i Th17) e i linfociti B essendo quindi risparmiati i T effettori della memoria, cosicché la sorveglianza immunitaria è risparmiata. Il Fingolimod inoltre, essendo lipofilo, può oltrepassare la barriera ematoencefalica, andando ad esercitare un effetto diretto sul SNC, in particolare promuovendo la sopravvivenza degli oligodendrociti e dei loro progenitori, la proliferazione degli astrociti e inibendo il rilascio di citochine infiammatorie.

A livello cardiaco i recettori S1P (sottotipi 1 e 3) sono coinvolti nel controllo della frequenza cardiaca: la loro modulazione da parte del Fingolimod può determinare un' importante riduzione della frequenza o altre alterazioni del ritmo. Allo stesso modo, essendo i recettori S1P espressi sulle pareti dei miociti vascolari, attraverso una loro modulazione si può verificare lo sviluppo di ipertensione arteriosa. Per contro il legame con questi recettori, presenti anche sulle cellule dell'endotelio vascolare, può determinare produzione di ossido nitrico e vasodilatazione [89].

Fingolimod negli studi clinici registrativi ha dimostrato una riduzione del tasso annualizzato di ricadute del 65-70% circa; è stato riportato inoltre un miglioramento statisticamente significativo negli endpoint di RMN [90]. Questi risultati positivi sono stati confermati dall'evidenza nell'utilizzo postmarketing: i dati ottenuti dal Registro MS-Base (Multiple Sclerosis Database) hanno mostrato una riduzione significativa del tasso di ricadute e migliori outcome di disabilità se i pazienti passavano a Fingolimod piuttosto che ad un altro farmaco di prima linea iniettabile (INF o GA)

[91]. Per quanto riguarda il profilo di sicurezza gli eventi avversi più comunemente riportati sono bradicardia, disturbi della conduzione atrio-ventricolare, ridotta conta linfocitaria periferica, incremento delle transaminasi, edema maculare retinico e infezioni (herpes zoster). A causa della bradicardia e del blocco atrioventricolare, la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa devono essere monitorizzate per 6 ore dopo aver assunto la prima dose, in aggiunta ad un ECG al basale e a fine monitoraggio. L'effetto è tipicamente transiente per l'internalizzazione/desensibilizzazione del recettore S1P1 si rileva già a partire dalla prima ora, aumenta fino alla 4-5<sup>o</sup> ora quando si osserva la massima riduzione della frequenza cardiaca (riduzione di 8-10 bpm rispetto al basale) successivamente si attenua e entro un mese si ha una frequenza cardiaca normale. In uno studio di fase III in aperto la bradicardia si è verificata nello 0,6% dei pazienti ed era più frequente in coloro che assumevano anche beta-bloccanti e bloccanti del canale del calcio (3,3%) [92]. Nella maggior parte dei pazienti la bradicardia era asintomatica e tutti avevano recuperato entro 24 ore senza l'utilizzo di terapie. I pazienti con patologie cardiache preesistenti tendevano ad avere un blocco atrioventricolare di secondo grado Mobitz 1. La pressione arteriosa tendeva ad essere più alta nel primo mese e a stabilizzarsi successivamente. Al fine di approfondire il profilo di tollerabilità cardiovascolare del Fingolimod, è stato inserito all'interno dello studio FIRST (di fase IIIb, in aperto, a singolo braccio, della durata di 16 settimane e comprendente 2417 pazienti con SM-RR)

l'obiettivo di stabilire l'incidenza delle modificazioni del ritmo cardiaco e il numero di eventi cardiovascolari, registrati mediante monitoraggio ECG Holter al basale e per sei ore dopo la prima somministrazione di Fingolimod 0,5 mg. Sono stati inclusi nella valutazione anche pazienti con elementi di attenzione sotto il profilo del rischio cardiologico (uso concomitante di beta-bloccanti, bradicardia a riposo, BAV di secondo grado tipo Mobitz 1, bradicardia sintomatica ricorrente, positività al tilt test, diabete compensato o asma cronico). L'analisi non ha evidenziato nuove aree di attenzione cardiovascolare e i risultati sono comparabili a quelli degli studi registrativi. L'uso concomitante di betabloccanti o calcio-antagonisti ha comportato una lieve maggiore incidenza di bradicardia (9,4% vs 8,5% degli altri pazienti), con una riduzione media della frequenza cardiaca (-7,4 bpm) simile a quella rilevata negli altri pazienti [93]. Alla prima somministrazione si può avere inoltre una lieve e transitoria riduzione della pressione arteriosa media entro 4-5 ore, seguita da un minimo e sostenuto incremento della stessa (di circa 3 mmHg sopra i livelli basali per la sistolica e 1 mmHg per la diastolica), a partire dal primo mese circa dopo l'inizio del trattamento per i primi sei mesi, senza ulteriori modificazioni in seguito. Negli studi di fase III, l'ipertensione è stata riportata nel 4-6% dei pazienti in trattamento con Fingolimod, rispetto al 2-4% dei pazienti in placebo. Per il rischio di herpes zoster le persone che non hanno storia di varicella o non sono vaccinate devono dosare gli anticorpi anti-VZV ed eventualmente

effettuare il vaccino, post-ponendo l'inizio della terapia di almeno un mese.

Oltre alle terapie per ridurre l'attività di malattia e l'accumulo del danno assonale assumono crescente importanza le terapie sintomatiche volte migliorare la qualità di vita del paziente con SM. La spasticità è un disturbo che va a limitare le comuni azioni quotidiane del paziente, determinando alterazioni della motilità, della deambulazione che determina spasmi dolorosi involontari e contratture articolari. Non viene sempre trattata, poiché in molti casi l'aumento del tono muscolare può essere utile per mantenere la stazione eretta. Tra i farmaci più usati ed efficaci abbiamo il Baclofen, un agonista del recettore per il GABA, somministrato solitamente in tre basse dosi giornaliere con un aumento progressivo delle stesse fino al raggiungimento della dose efficace. In caso di spasticità intrattabile con terapia per via sistemica, può anche essere usato per via intratecale. Gli effetti collaterali più comuni sono la debolezza, la sedazione e la stanchezza, per cui va ricercata una giusta dose in modo da non compromettere la mobilità e le funzioni cognitive. La sospensione deve essere graduale per evitare segni e sintomi di astinenza, tra cui un aumento della spasticità e crisi epilettiche.

Negli ultimi anni, nei pazienti resistenti a terapia con Baclofen, si possono utilizzare come add on uno spray a base di cannabis [94]. Se invece la spasticità è limitata ad un distretto muscolare si può ricorrere iniezioni

intramuscolari di tossina botulinica in loco, che necessita di essere ripetuta ogni 3-6 mesi. Le manifestazioni parossistiche della malattia, quali la nevralgia del trigemino, spasmi tonici e i disturbi sensitivi parossistici rispondono bene alla Carbamazepina, però stesso farmaco può peggiorare il tremore ed i disturbi dell'equilibrio e provocare alterazioni dell'emocromo e degli enzimi di funzionalità sia epatica che renale. Altri farmaci utilizzati sono la Difenilidantoina, il Clonazepam, il Topiramato e il Gabapentin. I disturbi urinari come l'urgenza minzionale e l'aumentata frequenza sono i disturbi più comuni, dovuti ad una iperreflessia vescicale, ma anche la tendenza alla ritenzione non è rara, dovuta a dissinergia di detrusore e sfintere. In caso di iperreflessia del detrusore si usano gli anticolinergici (possono dare diversi effetti collaterali ed aumentare il residuo urinario post-minzionale), tra cui il più utilizzato è l'Ossibutinina. In caso di dissinergia detrusore-sfintere si usano gli  $\alpha$ -bloccanti, come la Prazosina o la Fenossibenzamina ed eventualmente l'autocaterismo intermittente più volte al giorno. In caso di areflessia vescicale non si usano farmaci, per il riscontro della loro scarsa efficacia; è perciò preferibile ricorrere al cateterismo intermittente o a quello permanente. Si sono rivelati utili, inoltre, sia la tecnica del biofeedback che la riabilitazione del pavimento pelvico. La terapia della stipsi va corretta con la dieta ricca di fibre, accompagnata, se necessario, all'assunzione di sostanze che aumentano la massa fecale, come crusca e psyllium; in alcuni casi possono essere utili emollienti

fecali, come supposte di glicerina o microclismi; solo nei casi refrattari, si può passare all'assunzione sporadica di lassativi osmotici.



## **Studio clinico: effetti cardiaci degli agonisti della sfingosina**

### **Razionale dello studio**

Questo è uno studio osservazionale che va a comparare le variabili di tollerabilità cardiaca del Fingolimod nei pazienti con SMRR trattati presso l'ambulatorio per le malattie demielinizzanti.

### **Metodi**

Sono stati inclusi pazienti con SMRR afferenti all'ambulatorio per le malattie demielinizzanti della Clinica Neurologica dell'AOUP trattati con fingolimod (Gilenya®). Il fingolimod è stato impiegato al nostro centro a partire da giugno 2011 nell'ambito di studi clinici e prescritto poi dall'aprile 2012. I dati sono stati raccolti fino a febbraio 2016 considerando i pazienti che avevano intrapreso fingolimod tra giugno 2008 e febbraio 2016. I criteri di inclusione erano avere diagnosi di Sclerosi Multipla in base alla revisione del 2010 dei criteri di McDonald [59] anche in accordo con i criteri di prescrivibilità posti dall'AIFA per il farmaco.

Le variabili cliniche e demografiche sono state raccolte e registrate in cartelle cliniche e sul registro AIFA. Della popolazione in oggetto sono state analizzate le seguenti variabili: genere, età ed eventuali comorbidità cardiologiche e non, al basale. Per valutare il rischio cardiovascolare di

fingolimod è stata effettuata una valutazione cardiologica e un ECG a 12 derivazioni al basale, poi dopo l'assunzione del farmaco è stato effettuato un monitoraggio cardiaco a sei derivazioni prolungato per sei ore, come previsto dalle raccomandazioni AIFA, valutando ad ogni ora i valori di pressione arteriosa (PA) e di frequenza cardiaca. E' stato poi effettuato un ECG finale a 12 derivazioni. Laddove si sono verificate alterazioni persistenti del ritmo cardiaco il monitoraggio è stato prolungato di alcune ore, fino anche a 24 ore, e comunque fino alla normalizzazione delle alterazioni riscontrate. Inoltre è stato valutato l'eventuale riscontro di ipertensione arteriosa nei mesi a seguire.

Le variabili quantitative sono state riportate come media  $\pm$  deviazione standard ed è stata applicata una statistica descrittiva. Non è stata effettuata una statistica inferenziale poiché non era stata posta una ipotesi da confermare come razionale dello studio e non era prevista una comparazione tra gruppi.

## **Risultati**

Sono stati valutati 55 pazienti che hanno intrapreso la terapia con fingolimod, di cui 22 maschi e 33 femmine, con un'età media di  $39\pm 11$  anni. Al basale si sono evidenziate le seguenti lievi anomalie dell'ECG: QTc borderline-allungato in 2 pazienti (3,6%), bradicardia sinusale in 2 pazienti (3,6%), blocco destro parziale in 3 pazienti (5,5%), PR ai limiti inferiori in 1 paziente (1,8%). Tali anomalie sono state interpretate come costituzionali, pertanto anche questi pazienti hanno intrapreso la terapia e sono stati sottoposti al successivo monitoraggio. Durante il monitoraggio cardiaco a sei derivazioni sono state evidenziate lievi anomalie di conduzione nel 19,9% dei pazienti. In particolare si trattava del riscontro di QTc borderline-allungato in 3 pazienti (5,5%), bradicardia sinusale in 2 pazienti (3,6%), blocco destro parziale in 2 pazienti (3,6%), emblocco anteriore sinistro in 2 pazienti (3,6%), blocco atrio-ventricolare (BAV) di primo grado in 1 paziente (1,8%), BAV di secondo grado di tipo Mobitz 1 in 1 paziente (1,8%). Tali anomalie si sono risolte nel proseguimento del monitoraggio eccetto che in 5 pazienti (9% dell'intera popolazione) in cui il monitoraggio è stato prolungato oltre le sei ore stabilite. In particolare il monitoraggio è stato prolungato di 2 ore per riscontro di QTc borderline-allungato in 2 pazienti (3,6%), bradicardia sinusale in 2 pazienti (3,6%), BAV di primo grado in 1 paziente (1,8%). Alla fine delle due ore aggiuntive di monitoraggio in due pazienti permanevano le anomalie di conduzione per cui è stata prolungata l'osservazione fino al

mattino successivo. Di questi soltanto un paziente presentava anomalie ECG anche al basale con un blocco completo di branca destra. Questi dopo aver assunto la prima dose del farmaco aveva poi mostrato un emiblocco anteriore sinistro e QTc borderline (447 msec) per cui è stato prolungato il monitoraggio di due ore. All' ECG finale si evidenziava ancora blocco bifascicolare e QTc allungato (461 msec), pertanto è stata richiesta l'osservazione successiva. Nell'altro paziente invece pur non avendo presentato anomalie all'ECG basale si è poi registrato ritmo sinusale basso e BAV di primo grado, presenti anche alla fine del prolungamento di due ore del monitoraggio. Pertanto anche in questo caso si è deciso per l'osservazione breve fino al mattino successivo. Al momento della dimissione tutti i pazienti hanno raggiunto la normalizzazione dei parametri elettrocardiografici. Inoltre nessuno dei pazienti ha presentato sintomatologia soggettiva associata. All'ECG finale a 12 derivazione, esclusi i pazienti per cui è stato prolungato il monitoraggio, sono state riscontrate lievi anomalie costituzionali sovrapponibili a quelle riscontrate all'ecg basale. Fanno eccezione due pazienti in cui si è riscontrata bradicardia sinusale, due pazienti con extrasistolia ventricolare sporadica e un paziente con Qtc borderline-allungato, non presenti al basale; tuttavia tali anomalie non sono state considerate significative.

Per quanto riguarda la valutazione della frequenza cardiaca (FC) si è riscontrata una riduzione della media della FC graduale dal basale fino alla 4° ora (da  $75 \pm 9$  al basale a  $67 \pm 8$  alla 4° ora) per poi stabilizzarsi su questi valori fino alla sesta ora. (Tab. 3) La pressione arteriosa sistolica e diastolica ha presentato una riduzione di pochi mmHg, rimanendo pressoché stabile in tutti i pazienti. (Tab. 3). Valutando i pazienti nei mesi successivi abbiamo riscontrato lo sviluppo di ipertensione arteriosa in sei pazienti (10,9%) trattata in solo quattro di loro (7,3 %) con farmaci anti-ipertensivi.

Pazienti in terapia con Fingolimod	55
Età in anni (media $\pm$ DS)	39 $\pm$ 11
M/F	22/33

Tabella 1: Caratteristiche demografiche.

	basale	monitoraggio sei ore	ECG finale	prolungamento ECG	osservazione 24 ore
<b>QTc borderline- allungato</b>	2 (3,6%)	3 (5,5%)	3 (5,5%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)
<b>bradicardia sinusale</b>	2 (3,6%)	2 (3,6%)	4 (7,3%)	2 (3,6%)	0
<b>extrasistolia ventricolare</b>	0	0	2 (3,6%)	0	0
<b>blocco destro parziale</b>	3 (5,5%)	2 (3,6%)	2 (3,6%)	0	0
<b>emiblocco anteriore sinistro</b>	0	2 (3,6%)	0	0	0
<b>BAV 1° GRADO</b>	0	1 (1,8%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)	1 (1,8%)
<b>BAV 2° grado mobitz1</b>	0	1 (1,8%)	0	0	0
<b>P-R ai limiti inferiori</b>	1 (1,8%)	0	0	0	0

Tabella 2. Monitoraggio cardiologico su totale 55 pazienti.

	basale	1° ora	2° ora	3° ora	4° ora	5° ora	6° ora
PA sistolica (media ± DS)	118±13	115±15	114±15	114±15	113±14	114±15	112±13
PA diastolica (media ± DS)	73±12	73±11	71±11	73±14	70±12	69±12	68±10
Frequenza cardiaca (media ± DS)	75±9	72±9	70±8	68±9	67±8	68±10	66±8

Tabella 3. Monitoraggio della PA sistolica e diastolica e frequenza cardiaca.

## **Discussione**

Nei pazienti che hanno iniziato Fingolimod presso il nostro ambulatorio a partire dal 2011, non si sono presentati gravi eventi cardiovascolari associati alla prima somministrazione del farmaco e al successivo periodo di osservazione ambulatoriale di mesi e anni. Questo in linea con gli studi in letteratura [95,92,96,97]. Dopo la somministrazione della prima dose, è stata osservata una riduzione della frequenza cardiaca che ha raggiunto il valore minimo alla 4° ora (con una riduzione media di circa 7 bpm rispetto al basale) per poi rimanere stabile o incrementare lentamente fino alla 6° ora. Non si sono verificati episodi che hanno richiesto un intervento farmacologico (es. atropina e.v.). In una piccola proporzione di casi si è verificato un blocco di conduzione de novo (di primo grado in un paziente e di secondo grado Mobitz 1 in un altro paziente), ma non si è verificato nessun caso di blocco atrioventricolare di secondo grado Mobitz 2 o di terzo grado. I pazienti nella maggior parte dei casi (91%) sono stati dimessi dopo 6 ore, con una estensione del monitoraggio richiesta nel 9 % dei pazienti essenzialmente per allungamento del QT, bradicardia sinusale o blocco atrioventricolare di primo grado. In solo 2 casi (3,6%) c'è stato bisogno di un prolungamento ulteriore dell'osservazione, fino al mattino successivo, dovuto a blocco di conduzione, in un caso bifascicolare, e allungamento del QT.

Sebbene il nostro sia uno studio retrospettivo condotto nell'ambito della reale pratica clinica, le osservazioni riguardanti il monitoraggio della

prima dose di fingolimod ricalcano i dati ottenuti dagli studi clinici randomizzati e controllati condotti in precedenza [98,90,99] così come quelli degli studi clinici di fase III b e IV [92,96]. La riduzione massima della frequenza cardiaca alle 4° ora di 7 bpm rispetto al basale, ricalca quanto descritto dagli studi di fase III (nadir della FC alla 4-5° h dopo la prima somministrazione, con riduzione di 8 bpm rispetto al basale), dallo studio EPOC di fase IV (nadir della FC alla 5° ora con riduzione di 8 bpm) (Hughes et al., 2014) e dallo studio FIRST di fase III (nadir della FC alla 4° ora con una riduzione di 6.5 bpm per i pazienti con preesistenti comorbidità cardiologica e nadir della FC alla 5° ora con una riduzione di 7.4 bpm nei pazienti senza preesistenti comorbidità). Altra somiglianza con gli studi controllati è la bassa incidenza di blocco atrio-ventricolare (3,6 % nella nostra casistica V/S 3,3 % nello studio FIRST). Anche lo sviluppo di ipertensione arteriosa nel 10,9% dei casi si pone in linea con quanto dimostrato dagli studi registrativi del farmaco che attestano questa incidenza in un valore superiore al 10%.

Si tratta di una casistica limitata e in questa sede non sono stati presi in considerazione fattori confondenti quali tempo dalla diagnosi, gravità di malattia, comorbidità e terapie concomitanti. Pur con questi limiti potremmo concludere che gli effetti cardiaci così come sono stati descritti dagli studi clinici, effettuati con rigidi criteri di inclusione/esclusione dei pazienti, sono gli stessi che poi si riscontrano nella reale pratica clinica. Questi dati si aggiungono inoltre non solo a quelli degli studi clinici ma



anche a quelli di altri studi osservazionali su più larga casistica effettuati negli ultimi anni [100] e aggiungono prove ulteriori della sicurezza del farmaco. Tuttavia la seppur rara occorrenza di blocco atrio-ventricolare, presente anche nella nostra casistica, conferma la necessità di continuare ad effettuare il monitoraggio cardiaco alla prima somministrazione.

## **Bibliografia**

- [1] Compston A et al. Multiple sclerosis. Lancet 2002; 359(9313):1221-31
- [2] Loeb- Favale, Neurologia, 2003, p. 1111
- [3] Canal N, Ghezzi A, Zaffaroni M, Sclerosi multipla. Attualità e prospettive, p.528, 2011
- [4] Elsevier a cura di Jack S. Burks, Kenneth P. Johnson Multiple sclerosis: diagnosis, medical management, and rehabilitation, p. 598, 2000, Edizioni Demos
- [5] [www.epicentro.iss.it](http://www.epicentro.iss.it)
- [6] Adams and Victor's Principles of Neurology, Eight Edition, A. H. Ropper, R. H. Brown ; McGraw-Hill, 2005, p. 840-841
- [7 ] Dyment DA et al, 2004. Genetic of multiple sclerosis. Lancet. Neurol.
- [8] Loeb- Favale, Neurologia, 2003, p. 1112-1113
- [9] Gilden DH Infectious causes of multiple sclerosis. The Lancet Neurology 2005 4(3): 195–202
- [10] Kobelt G et al. Costs and quality of life in multiple sclerosis in Europe: method of assessment and analysis. Eur J Health Econ 2006; (7): 45-54
- [11] [La-sclerosimultipla.net](http://La-sclerosimultipla.net)
- [12] Noseworthy JH Progress in determining the causes and treatment of Multiple Sclerosis. Nature 1999; 399(24):A40-7
- [13] Update in vitamin D and multiplesclerosis. Fatimah M. Alharbi; Neuroscienses 2015 oct.;329-325

- [14] Fujinami RS et al. Amino acid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: mechanism for autoimmunity. *Science* 1985; 230(4729):1043-5
- [15] Fox, E. J. (2004). Immunopathology of multiple sclerosis. *Neurology*, 63(12 suppl 6), S3-S7.
- [16] Hammond SR et al. The age-range of risk of developing multiple sclerosis:evidence from a migrant population in Australia. *Brain* 2000; 123:968-74
- [17] Karadottir R et al. Neurotransmitter receptors in the life and death of oligodendrocytes. *Neuroscience* 2007; 145(4):1426-1438
- [18] Haider L et al. Oxidative damage in multiple sclerosis lesions. *Brain* 2011; 134(Pt 7):1914-24
- [19] Gray E et al. Elevated Activity and Microglial Expression of Myeloperoxidase in Demyelinated Cerebral Cortex in Multiple Sclerosis. *Brain Pathol* 2008; 18:86–95
- [20] Fox J Immunopathology of multiple sclerosis. *Neurology* 2004; 63 (Suppl 6):S3- S7
- [21] Frohman EM et al. Multiple Sclerosis-The Plaque and Its Pathogenesis. *N Engl J Med* 2006; 354:942-55
- [22] Stangel M et al. Remyelinating strategies for the treatment of multiple sclerosis. *Prog Neurobiol* 2002; 68(5):361-7

- [23] Lutton JD et al. Multiple Sclerosis: etiological mechanisms and future directions. *Exp Biol Med* 2004; 229:12-2
- [24] Bruck W et al. Remyelination in multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2003; 206(2):181-5
- [25] Miron VE et al. Cells of the oligodendroglial lineage, myelination, and remyelination. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812(2): 184-93
- [26] Foote AK et al. Inflammation stimulates remyelination in areas of chronic demyelination. *Brain* 2005; 128(Pt 3):528-39
- [27] Ruffini F et al. Inflammation and remyelination in the central nervous system. *Am J Pathol* 2004; 164(5):1519–1522
- [28] Redford EJ et al. Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible. *Brain* 1997; 120:2149-57
- [29] Largo C et al. The effect of depressing glial function in rat brain in situ on ion homeostasis, synaptic transmission, and neuron survival. *J Neurosci* 1996; 16:1219
- [30] Smith KJ et al. The pathophysiology of multiple sclerosis: the mechanisms underlying the production of symptoms and the natural history of the disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1999; 354(1390):1649–1673
- [31] Smith KJ et al. Spontaneous and mechanically evoked activity due to centrale demyelinating lesion. *Nature* 1980; 286:154-155

- [32] Guthrie TC et al. Influence of temperature changes on multiple sclerosis: critical review of mechanisms and research potential. *J Neurol Sci* 1995; 129(1):1-8.
- [33] Halfpenny C et al. Cell transplantation, myelin repair, and multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 2002; 1:31–40
- [34] Mahad DJ et al. Mitochondrial changes within axons in multiple sclerosis. *Brain* 2009; 132(5):1161-1174
- [35] Bitsch A et al. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 2000; 123(Pt 6):1174-1183
- [36] Bjartmar C et al. Axonal loss in normal-appearing white matter in a patient with acute MS. *Neurology* 2001; 57(7):1248-52
- [37] Petzold A. Neurofilament phosphoforms: surrogate markers for axonal injury, degeneration and loss. *J Neurol Sci* 2005; 233:183-198
- [38] Zeller D et al. Functional role of ipsilateral motor areas in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2011; 82:578-583
- [39] Reddy H et al. Evidence for adaptive functional changes in the cerebral cortex with axonal injury from multiple sclerosis. *Brain* 2000; 123(11): 2314-2320
- [40] Tomassini V et al. Relating Brain Damage to Brain Plasticity in Patients With Multiple Sclerosis. *Neurorehabil Neural Repair* 2012; 26(6): 581-593

- [41] Pantano P et al. Cortical motor reorganization after a single clinical attack of multiple sclerosis. *Brain* 2002; 125:1607-1615
- [42] Miller DH et al. Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain* 2002; 125:1676–1695
- [43] Stuve O et al. Pharmacological treatment of early multiple sclerosis. *Drugs* 2008; 68(1):73-83
- [44] Amato MP et al. Neocortical volume decrease in relapsing remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 2004; 63:89-93
- [45] Amato MP et al. Multiple sclerosis-related cognitive changes: a review of cross-sectional and longitudinal studies. *J Neurol Sci* 2006; 245:41-46
- [46] Blinkenberg M et al. Cortical cerebral metabolism correlates with MRI lesion load and cognitive dysfunction in MS. *Neurology* 2000; 54:558-564
- [47] Hoffmann S et al. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2007; 20(3):275-80
- [48] Lucchinetti C et al. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol* 2000; 47:707–717
- [49] Barnett MH et al. Relapsing and remitting multiple sclerosis: pathology of the newly forming lesion. *Ann Neurol* 2004; 55:458–468

- [50] Loeb- Favale, Neurologia, 2003, p. 1117
- [51] Loeb- Favale, Neurologia, 2003, p. 1125
- [52] Noseworthy JH et al. Multiple Sclerosis. N Engl J Med 2000; 343:938-52
- [53] Compston A. et al. McAlpine's Multiple Sclerosis, 4th Edition
- [54] Confavreux C et al. Rate of Pregnancy-Related Relapse in multiple Sclerosis. N Engl J Med 1998; 339:285-91
- [55] Fernandez O. Clinica de la esclerosis multiple recidivante-remitente. Factores pronosticos. Rev Neurol 2002; 35:1067-73
- [56] Confavreux C et al. Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. Brain 2003; 126:770-82
- [57] Confavreux C et al. Relapses and Progression of disability in Multiple Sclerosis. N Engl J Med 2000; 343:1430-38
- [58] Lublin FD et al. Defining the clinical course of multiple sclerosis: Results of an international survey. Neurology 1996; 46:907-11
- [59] Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., ... & Lublin, F. D. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. Annals of neurology, 69(2), 292-302.
- [60] Adams and Victor's Principles of Neurology, Eight Edition, A. H. Ropper, R. H. Brown ; McGraw-Hill, 2005, p.851

- [61] Adams and Victor's Principles of Neurology, Eight Edition, A. H. Ropper, R. H. Brown ; McGraw-Hill, 2005, p.851
- [62] Walsh P et al. The clinical role of evoked potentials. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2005; 76(Suppl II):16-22
- [63] Rocca MA et al. Long-term changes of magnetization transfer-derived measures from patients with relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. AJNR 1999; 20:821-827
- [64] Lycklama G et al. Spinal-cord MRI in multiple sclerosis. Lancet Neurol 2003; 2(9):555-62
- [65] Adams and Victor's Principles of Neurology, Eight Edition, A. H. Ropper, R. H. Brown ; McGraw-Hill, 2005, p.851
- [66] Bakshi R et al. Imaging of Multiple Sclerosis: Role in Neurotherapeutics NeuroRx. 2005; 2(2): 277–303
- [67] Calabresi PA. Diagnosis and Management of Multiple Sclerosis. Am Fam Physician 2004; 70:1935-44
- [68] Optic Neuritis Study Group. The 5-year risk of MS after optic neuritis. Experience of the optic neuritis treatment trial. Neurology 1997; 49(5):1404-13
- [69] Cortese I et al. Evidence-based guideline update: Plasmapheresis in neurologic disorders. Neurology 2011; 76(3):294-300
- [70] JM et al. Interferon  $\beta$  en la esclerosis multiple. Rev Neurol 2003; 36:980



- [71] Dhib-Jalbut S. Mechanism of action of interferons and glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology* 2002; 58(Suppl 4):S3-S9
- [72] Yong W et al. Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis Mechanisms of action. *Neurology* 1998; 51(3):682-689
- [73] Patti F et al. Effects of immunomodulatory treatment with subcutaneous interferon beta-1a on cognitive decline in mildly disabled patients with relapsing- remitting multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010; 16(1):68-77
- [74] Waubant E et al. Clinical characteristics of responders to interferon therapy for relapsing MS. *Neurology* 2003; 61:184-9
- [75] Cohen, B. A., Khan, O., Jeffery, D. R., Bashir, K., Rizvi, S. A., Fox, E. J., ... & Kinkel, P. (2004). Identifying and treating patients with suboptimal responses. *Neurology*, 63(12 suppl 6), S33-S40.
- [76] Giovannoni G et al. Neutralising antibodies to interferon beta during the treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73:465-469
- [77] Langer-Gould, A., Moses, H. H., & Murray, T. J. (2004). Strategies for managing the side effects of treatments for multiple sclerosis. *Neurology*, 63(11 suppl 5), S35-S41.
- [78] Ebers GC et al. The 16-Year Long-Term Follow-Up (LTF) to the pivotal interferon-beta-1b (IFNbeta-1b) trial in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010; 81(8):907-12

- [79] Confavreux, C., O'Connor, P., Comi, G., Freedman, M. S., Miller, A. E., Olsson, T. P., ... & Truffinet, P. (2014). Oral teriflunomide for patients with relapsing multiple sclerosis (TOWER): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet Neurology*, 13(3), 247-256.
- [80] Polman, C. H., O'Connor, P. W., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., Miller, D. H., ... & Toal, M. (2006). A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*, 354(9), 899-910.
- [81] Rudick, R., Polman, C., Clifford, D., Miller, D., & Steinman, L. (2013). Natalizumab: bench to bedside and beyond. *JAMA neurology*, 70(2), 172-182.
- [82] Multiple Sclerosis Research. Barts and the London School of Medicine and Dentistry. A blog for people with MS and their families. ClinicSpeak: natalizumab PML update - Q4 2014. Available at: <http://multiple-sclerosis-research.blogspot.com/2015/01/clinicspeak-natalizumab-pml-update-q4.html> (accessed February 2015)
- [83] O'Connor, P., Goodman, A., Kappos, L., Lublin, F., Polman, C., Rudick, R. A., ... & Duda, P. (2014). Long-term safety and effectiveness of natalizumab redosing and treatment in the STRATA MS Study. *Neurology*, 83(1), 78-86.
- [84] Bloomgren, G., Richman, S., Hotermans, C., Subramanyam, M., Goelz, S., Natarajan, A., ... & Bozic, C. (2012). Risk of natalizumab-

associated progressive multifocal leukoencephalopathy. *New England Journal of Medicine*, 366(20), 1870-1880.

[85] Outteryck, O., Zéphir, H., Salleron, J., Ongagna, J. C., Etxeberria, A., Collongues, N., ... & de Seze, J. (2014). JC-virus seroconversion in multiple sclerosis patients receiving natalizumab. *Multiple Sclerosis Journal*, 20(7), 822-829.

[86] Gorelik, L., Lerner, M., Bixler, S., Crossman, M., Schlain, B., Simon, K., ... & Zein, F. (2010). Anti-JC virus antibodies: implications for PML risk stratification. *Annals of neurology*, 68(3), 295-303.

[87] Nicholas J.A., Racke M.K., Imitola J., et al., First-line natalizumab in multiple sclerosis: rationale, patient selection, benefits and risks. 2014. *Ther. Adv. Chronic Dis.* 5, 62–68.

[88] Pham TH et al S1P1 receptor signaling overrides retention mediated by G alpha i-coupled receptors to promote T cell egress. *Immunity* 2008; 28:122–133 )

[89] Hla T et al. Sphingosine 1-phosphate (S1P): physiology and the effects of S1P receptor modulation. *Neurology* 2011; 76(Suppl 3):S3-S8

[90] Calabresi, P.A., Radue, E.W., Goodin, D., Jeffery, D., Rammohan, K.W., Reder, A.T., et al., 2014. Safety and efficacy of fingolimod in patients with relapsing-re-mitting multiple sclerosis (FREEDOMS II): a double-blind, randomised, placebo- controlled, phase 3 trial. *Lancet Neurol.* 13 (6), 545–556. [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70049-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70049-3).

[91] He, Anna, et al. "8.: Comparison of switch to fingolimod or interferon beta/glatiramer acetate as second line therapy in active multiple sclerosis." *Journal of Clinical Neuroscience* 21.11 (2014): 2035-2036.

[92] Gold, R., Comi, G., Palace, J., Siever, A., Gottschalk, R., Bijarnia, M., et al., 2014. FIRST Study Investigators. Assessment of cardiac safety during fingolimod treatment initiation in a real-world relapsing multiple sclerosis population: a phase 3b, open-label study. *J. Neurol.* 261 (2), 267–276. <http://dx.doi.org/10.1007/s00415-013-7115-8>.

[93] Comi G et al. Cardiac safety of fingolimod 0,5 mg during the first dose observation in a 4-month, open-label, multi-center FIRST study in relapsing multiple sclerosis patients. *Neurology* 2012; 78:S41.003

[94] Meuth, S. G., Vila, C., & Dechant, K. L. (2015). Effect of Sativex on spasticity-associated symptoms in patients with multiple sclerosis. *Expert review of neurotherapeutics*, 15(8), 909-918.

[95] Di Marco, J.P., O'Connor, P., Cohen, J.A., Reder, A.T., Zhang-Auberson, L., Tang, D., et al., 2014. First-dose effects of fingolimod: pooled safety data from three phase 3 studies. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 3 (5), 629–638. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2014.05.005>.

[96] Hughes, B., Cascione, M., Freedman, M.S., Agius, M., Kantor, D., Gudesblatt, M., et al., 2014. On behalf of the EPOC study investigators. First-dose effects of fingolimod after switching from injectable therapies in the randomized, open-label, multicenter, Evaluate Patient Outcomes

(EPOC) study in relapsing multiple sclerosis. *Mult. Scler. Relat. Disord.* 3 (5), 620–628. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msard.2014.06.006>.

[97] Laroni, A., Brogi, D., Morra, V.B., Guidi, L., Pozzilli, C., Comi, G., et al., 2014. EAP Investigators. Safety of the first dose of fingolimod for multiple sclerosis: results of an open-label clinical trial. *BMC Neurol.* 14, 65. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2377-14-65>.

[98] Kappos, L., Radue, E.W., O'Connor, P., Polman, C., Hohlfeld, R., Calabresi, P., et al., 2010. A placebo-controlled trial of oral fingolimod in relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 362, 387–401. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0909494>.

[99] Cohen, J.A., Barkhof, F., Comi, G., Hartung, H.P., Khatri, B.O., Montalban, X., et al., 2010. Oral fingolimod or intramuscular interferon for relapsing multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 362, 402–415. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0907839>.

[100] Datt, Joe, et al. "The management and outcomes of fingolimod first dose cardiac monitoring in UK patients with relapsing-remitting multiple sclerosis." *Multiple Sclerosis and Related Disorders* 5 (2016): 40-46.



