

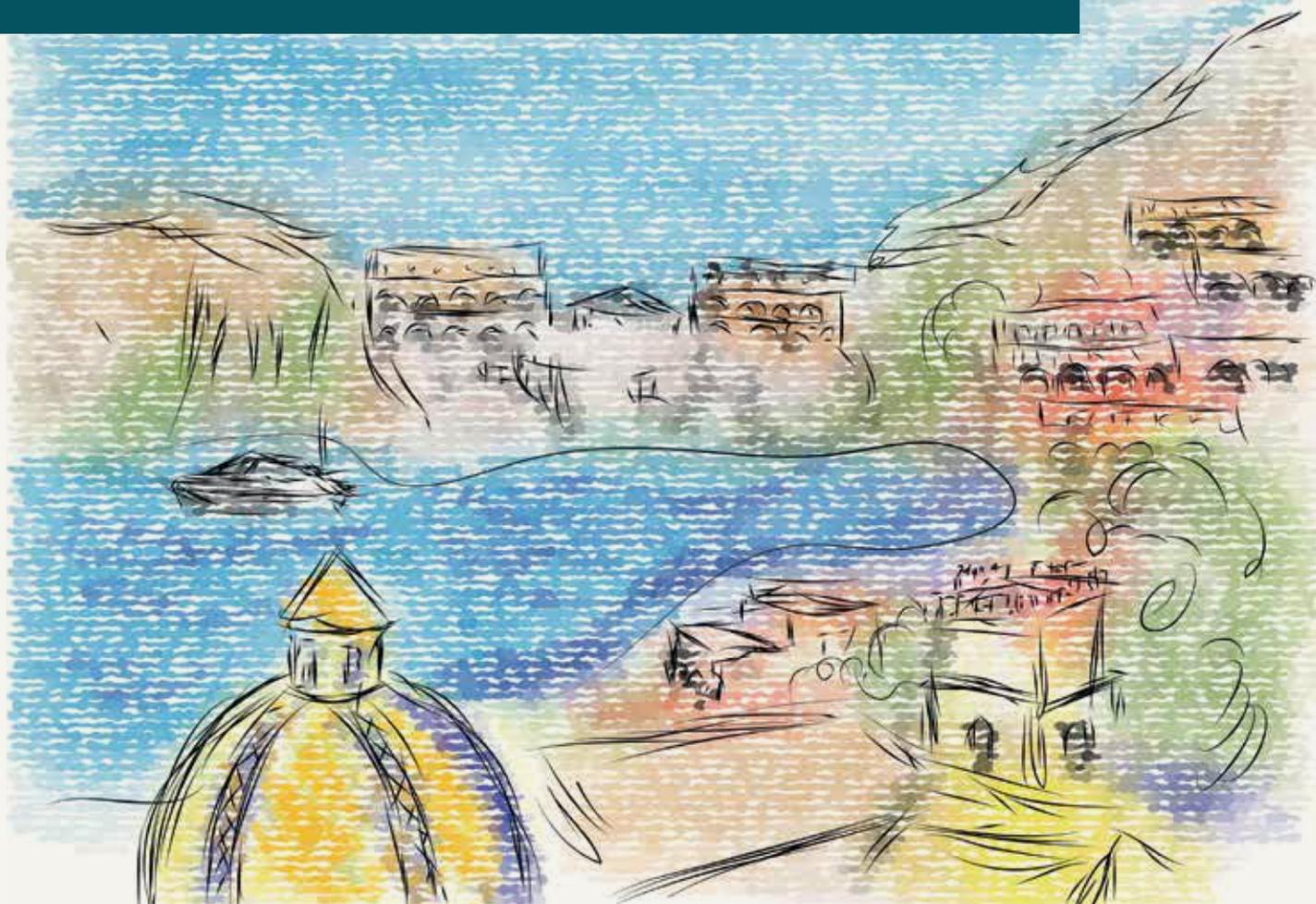
Quaderni

della SIF

Anno XVI n.49
Novembre 2024 - PARTE 2

*42° Congresso Nazionale
della Società Italiana di Farmacologia*

SCIENCE TODAY FOR A BETTER MEDICINE TOMORROW



Società Italiana di Farmacologia

Riconosciuta con D.M. del MURST del
02/01/1996 Iscritta nel registro delle Persone
Giuridiche della Prefettura di Milano n. 467
pag. 722 vol. 2°

SEDE LEGALE E OPERATIVA

Via Giovanni Pascoli 3, 20129 Milano

sif.informazione@sigr.it

www.sifweb.org

Consiglio Direttivo

PRESIDENTE

Giuseppe Cirino

PAST PRESIDENT

Giorgio Racagni

SEGRETARIO

Mariarosaria Bucci

CONSIGLIERI

Vincenzo Calderone, Emilio Clementi,
Carmela Fimognari, Silvana Gaetani,
Fabrizio Gardoni, Maria Angela Sortino

Quaderni della SIF

DIRETTORE RESPONSABILE

Vincenzo Calderone

COMITATO DI REDAZIONE

Andrea Ballerini

Milo Gatti

Davide Grisafi

Pietro Nunnari

Arianna Pani

Maria Elena Scamoni (Segreteria)

Adele Tangolo (Segreteria)

COORDINAMENTO EDITORIALE

EDRA S.p.a.

CHIEF EXECUTIVE OFFICER

Ludovico A. Baldessin

ASSOCIATE PROJECT DIRECTOR

Susanna Garofalo



Publicazione iscritta nel Registro della
Stampa, Tribunale di Milano in data 20
settembre 1997, n. 528

STAMPA

Jona s.r.l.

DESIGN

pupilla grafik

IN COPERTINA

42° Congresso Nazionale della Società
Italiana di Farmacologia

SOMMARIO

Editoriale	2
<i>V. Calderone</i>	
Beyond Molecules and Routes: Unveiling the True Value of Pharmaceuticals	3
Decision making in rare disease: could RWE and biomarkers make the difference?	4
Pulmonary Arterial Hypertension: state of the art and new signaling pathways	6
Therapeutic evolution: translating pharmacological innovation in tangible benefit for patient with Haemophilia A	8
Spotlights on emerging approaches in immunopharmacology	10
The dual challenge of immune system disorders: the case of vitiligo and oncological immunotherapies	12
Purinergic signaling in cancer and neurodegenerative diseases: towards purine-based therapeutic approaches	14
New insights on the role of complement in neurological diseases: from preclinic to clinic	16
Novel drug candidates targeting phosphodiesterase (PDE) families 4 and 9 as an emerging strategy for cell survival and CNS diseases	18
Synaptic targets for Parkinson's disease	20
Translational Pharmacology in Alzheimer's Disease: searching for new targets or new drugs?	22
Unmet medical needs in the management of tardive dyskinesia	24

New frontiers in treating mental and addictive disorders: unveiling the therapeutic potential and mechanisms of hallucinogens	26
Impact of chronic stress on the onset and progression of mental disorders: searching for novel pharmacological targets	28
Unravelling sex differences in cognition and behaviours for better pharmacological treatments in neuropsychiatric disorders	30
Endocannabinoid signalling perturbations and neurodevelopmental trajectories	32
Impact of drug abuse on neurodevelopment trajectory: from molecular mechanisms to behavior	34
Exploring novel pharmacological approaches for chronic pain management	36
Glymphatic system as a bridge connecting pain, sleep disruption and brain (dys)function	38
Pharmacological bases of anticancer drug therapies	40
Anticancer drug discovery and preclinical development: methods and targets	43
Pharmacological biomarker research and tools for the improvement of precision medicine in oncology	46
Oncology 3.0: new drugs and technologies in oncogene-addicted solid tumors	49
Acquired Resistance Mutations: New Diagnostic and Therapeutic Solutions in the Pathway of HR+ HER2- Metastatic Breast Cancer	50
HER-2 as predictive biomarker and drug target across solid tumor	52

Le opinioni espresse in questa pubblicazione sono quelle degli autori e non necessariamente riflettono la posizione di SIF.

Il presente numero di Quaderni della SIF può essere diffuso solo nella sua interezza.

EDITORIALE

Di anno in anno, entrando in aula per la prima ora di lezione del corso di Farmacologia Generale, trovo sempre più difficile e “sfidante” riuscire a dare una soddisfacente definizione della nostra Disciplina. Complicato è infatti circoscrivere gli ambiti di una materia così poliedrica - e forse anche per questo così affascinante - che impegna studiosi, ricercatori, tecnici o anche solo “appassionati al tema” e che spazia dall’identificazione di *target* inediti all’ottimizzazione di terapie note e consolidate, dalla valutazione di nuove molecole nelle primissime fasi del loro percorso alla sperimentazione clinica, dallo sviluppo di molecole sintetiche originali a quello di farmaci biotecnologici, dall’utilizzo di metodiche sperimentali classiche o avanzate all’impiego di approcci computazionali e di intelligenza artificiale, dalla caratterizzazione dei meccanismi d’azione su ingegnosi modelli preclinici agli studi di farmacovigilanza e alle indagini farmacoepidemiologiche “real world”, ecc. E tutto questo, declinato a tutti i possibili ambiti terapeutici e a tutte le aree che riguardano conoscenza e uso dei farmaci, anch’essi in continua evoluzione sull’onda delle rapide e dinamiche mutazioni degli scenari demografici, sociali, economici ed ambientali che influenzano in modo significativo molteplici aspetti di fondamentale importanza per la nostra salute.

Il Congresso Nazionale della SIF non è quindi soltanto l’evento collegiale più importante per tutti i farmacologi del nostro Paese, ma è anche un’occasione unica e insostituibile per dare voce a questa grande eterogeneità di competenze, esperienze, inclinazioni, attitudini e interessi scientifici e per consentire dunque l’interazione e l’integrazione tra le mille branche della nostra caleidoscopica Disciplina.

Proprio con questo intento, il prossimo 42° Congresso che si svolgerà a novembre nella pittoresca cornice di Sorrento ha incentivato l’organizzazione di numerosissimi simposi tematici, in gran parte proposti dai tanti Gruppi di Lavoro della SIF ma anche dall’iniziativa di singoli studiosi o di Aziende Farmaceutiche, che tratteranno le più attuali e interessanti tematiche che interessano pressoché tutti i campi di interesse per i farmacologi.

Allo scopo di dare ai soci della SIF la possibilità di avere una sorta di “anteprima” sugli stimolanti contenuti scientifici che popoleranno il Congresso, la nostra rivista Quaderni della SIF ha deciso di pubblicare due “numeri dedicati” in cui gli organizzatori dei tanti simposi, con un breve “summary”, descriveranno le tematiche trattate.

Vincenzo Calderone

*Dipartimento di Farmacia,
Università di Pisa,
Direttore Responsabile*

BEYOND MOLECULES AND ROUTES: UNVEILING THE TRUE VALUE OF PHARMACEUTICALS

A cura di Pier Luigi Canonico – Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università del Piemonte Orientale

Introduzione — Nel contesto della farmacologia moderna, l'importanza dei farmaci va oltre la loro struttura molecolare e le vie di somministrazione. La loro vera essenza risiede nella capacità di apportare miglioramenti significativi alla salute e alla qualità della vita dei pazienti, integrando aspetti clinici, economici e sociali. Il simposio “Beyond Molecules and Routes: Unveiling the True Value of Pharmaceuticals” si propone di esplorare questa complessità, affrontando temi di estrema rilevanza e attualità nel campo della farmacologia e della ricerca farmaceutica. Negli ultimi decenni, la ricerca e lo sviluppo di nuovi farmaci hanno subito una trasformazione radicale. Dai farmaci convenzionali si è passati a molecole biologiche complesse e terapie avanzate (ATMP) che promettono di rivoluzionare il trattamento di molte patologie. Tuttavia, l'introduzione di queste nuove terapie ha sollevato una serie di questioni relative alla sicurezza, alla tollerabilità, all'efficacia, ai costi e alla semplicità di trattamento. Lo sviluppo di farmaci innovativi non si ferma al laboratorio, coinvolge un percorso complesso che va dalla sperimentazione clinica alla commercializzazione, passando per l'approvazione regolatoria e l'accesso dei pazienti. È essenziale valutare l'impatto di queste terapie non solo in termini di efficacia clinica, ma anche considerando il loro valore complessivo per il sistema sanitario e la società. L'integrazione delle nuove terapie nel sistema sanitario richiede una valutazione attenta e multidimensionale che consideri vari fattori, certamente e principalmente i benefici clinici, ma anche i costi, l'accessibilità e l'accettabilità. Questo processo di valutazione è cruciale per garantire che le nuove terapie siano non solo efficaci, ma anche sostenibili e accessibili a chi ne ha bisogno.

Obiettivi del Simposio

Il simposio “Beyond Molecules and Routes: Unveiling the True Value of Pharmaceuticals” è stato organizzato per offrire una panoramica completa e approfondita delle sfide e delle opportunità associate allo sviluppo e all'implementazione di nuove terapie farmacologiche. Il simposio vedrà la partecipazione di tre *discussants* che condivideranno le loro esperienze e conoscenze su vari aspetti della farmacologia moderna. Paola Marcon illustrerà le potenzialità della *pipeline* di Biogen. La sua presentazione metterà in luce le innovazioni e le scoperte più recenti che potrebbero rappresentare una svolta nel trattamento di diverse patologie. Verranno discussi i progressi nello sviluppo di terapie mirate e personalizzate, evidenziando l'importanza della ricerca continua e dell'innovazione nel campo biomedico. Il professor Ferdinando Nicoletti

presenterà il modello STEPS, un *framework* che consente di analizzare e valutare diversi farmaci, siano essi convenzionali, biologici o terapie avanzate. Questo schema, basato su Sicurezza, Tollerabilità, Efficacia, Costi e Semplicità di trattamento, offre una metodologia strutturata per confrontare e valutare le nuove terapie, facilitando decisioni informate sia a livello clinico che regolatorio. Nicoletti discuterà inoltre la suddivisione delle molecole in tre categorie principali e i criteri utilizzati per la loro valutazione, evidenziando le differenze chiave e le sfide specifiche associate a ciascuna categoria. Andrea Marcellusi affronterà il tema cruciale del passaggio dall'approvazione all'accesso delle terapie farmacologiche. La sua presentazione si concentrerà sull'importanza di valutare il valore reale dei farmaci, considerando non solo la loro efficacia clinica ma anche il loro

impatto economico e sociale. Marcellusi esaminerà i meccanismi di valutazione del rapporto costo-efficacia, le strategie per migliorare l'accesso alle terapie innovative e le sfide associate alla loro implementazione nei sistemi sanitari nazionali. In sintesi, il simposio offrirà una piattaforma per un dibattito approfondito e multidisciplinare, riunendo esperti di vari campi per discutere le sfide e le opportunità nel mondo della farmacologia. L'obiettivo principale è promuovere una comprensione più completa e sfaccettata del valore dei farmaci, andando oltre la loro semplice composizione chimica e le modalità di somministrazione. Attraverso questo simposio, speriamo di contribuire a una gestione più informata e olistica delle terapie farmacologiche, a beneficio dei pazienti e del sistema sanitario nel suo complesso. ■

DECISION MAKING IN RARE DISEASE: COULD RWE AND BIOMARKERS MAKE THE DIFFERENCE?

A cura di Ylenia Ingrassiotta – Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona

Antonio De Vincentis – UOC di Medicina Interna, Fondazione Policlinico Universitario Campus Bio-medico di Roma

Introduzione —Gli studi clinici randomizzati (RCT, *randomized clinical trials*) rappresentano il *gold standard* della ricerca clinica per valutare l'efficacia di un trattamento farmacologico, collocandosi in cima alla piramide gerarchica della *Evidence Based Medicine* e costituendo, pertanto, il fulcro dei processi valutativi da parte delle agenzie regolatorie internazionali per l'autorizzazione all'immissione in commercio di nuovi farmaci. Tuttavia, è noto che gli RCT, essendo condotti su popolazioni ideali ed omogenee, presentano una serie di importanti limiti che rendono i loro risultati difficilmente generalizzabili alle popolazioni di pazienti trattati comunemente in pratica clinica e non permettono di valutare in maniera esaustiva il profilo beneficio-rischio dei farmaci al momento della loro commercializzazione. Inoltre, in caso di urgente *unmet medical need* (come nel caso delle malattie rare) alcuni farmaci possono beneficiare di una procedura di autorizzazione accelerata che consente di sottomettere all'autorità regolatoria competente un dossier registrativo non completo, a condizione di fornire i dati clinici mancanti e concordati in un preciso termine stabilito successivo all'approvazione. Su tali presupposti si fonda il bisogno di considerare il peso scientifico della *Real-World Evidence* (RWE) nei processi regolatori.

Per RWE si intende l'evidenza scientifica generata dall'analisi di *Real-World Data* (RWD), ovvero dati relativi allo stato di salute del paziente e all'erogazione di servizi sanitari che vengono raccolti quotidianamente da diverse fonti durante la normale pratica clinica. Oggi, la possibilità di accedere e integrare questi dati offre l'opportunità di generare tempestivamente evidenze significative sul profilo beneficio-rischio dei farmaci e il loro utilizzo viene sempre più spesso proposto anche per fornire evidenze a supporto del processo decisionale durante le procedure autorizzative del farmaco, come testimoniato dal numero crescente di linee guida su utilizzo RWD a fini regolatori in ambito *pre-* e *post-marketing* che sono state pubblicate da parte di diverse agenzie regolatorie, sebbene ancora poco applicate.

La generazione di RWE è inoltre utile per colmare il *gap* di evidenze della fase *pre-marketing*, fornendo già informazioni utili nella fase precoce dello sviluppo dei farmaci per descrivere il *burden of disease* (prevalenza di malattia), per individuare specifici *unmet medical needs* (identificazione di soggetti *non-responders* all'attuale *standard of care* ed eventuale derivazione di *endpoint* surrogati di efficacia clinica) e per caratterizzare il contesto clinico di riferimento, supportando il corretto disegno e la rappresentatività degli RCT. Questo ruolo risulta ancor più rilevante nel contesto delle patologie rare a lenta progressione, ove la bassa prevalenza di malattia limita la numerosità campionaria reclutabile e la ridotta incidenza di eventi clinici nel *follow-up* riduce significativamente la potenza statistica per l'identificazione degli *endpoint* clinici, rendendo la conduzione degli RCT particolarmente complessa.

Un caso esemplificativo del valore della RWE nella gestione clinica e sviluppo farmacologico è costituito dalla colangite biliare primitiva (CBP o PBC, *primary biliary cholangitis*), una malattia rara autoimmune del fegato caratterizzata dalla distruzione immuno-mediata dei dotti biliari intraepatici di piccolo-medio calibro, con conseguente danno epatico di natura colestatica ad andamento progressivo sino allo sviluppo di cirrosi epatica ed aumentato rischio di complicanze e morte fegato-relata. In questo contesto la RWE ha fornito dati per stimare la prevalenza della malattia in Italia (27,9 casi ogni 100.000 persone), caratterizzare la patologia e soprattutto identificare e validare marcatori surrogati della gravità di malattia (quali ad esempio i livelli di fosfatasi alcalina e bilirubina totale). La riduzione di questi due parametri biochimici è risultata infatti altamente predittiva della riduzione di eventi clinici avversi (scompenso dell'epatopatia, morte o necessità di trapianto epatico) nei pazienti trattati con acido ursodesossicolico (UDCA), l'unica terapia di prima linea approvata. Sulla base dei dati di RWE è emersa una percentuale

variabile dal 20 al 50% di pazienti che tuttavia non raggiunge un'adeguata risposta all'UDCA e presenta pertanto un rischio aumentato di prognosi infausta. Questa popolazione di pazienti è rimasta orfana di trattamento fino all'arrivo dell'acido obeticolico (OCA), un agonista del recettore farnesoide X (FXR), disponibile in Italia da agosto 2017 a seguito dell'approvazione ottenuta sulla base delle evidenze del RCT di fase III (studio POISE), che ha dimostrato una persistente riduzione dei valori di fosfatasi alcalina nei pazienti trattati *vs* placebo. All'indomani dell'immissione in commercio, lo studio di OCA ha interessato numerosi gruppi di ricerca a livello internazionale e nazionale. Lo studio RECAPITULATE "*REal-world obetiCholic Acid theraPy in ITaly recapitULATion of Efficacy and safety*" ha coinvolto tutte le coorti di dati di *real-world* sulla PBC in Italia (PBC Registry, CLEO-AIGO Sicilian PBC Network - Sintesi, Progetto PBC Piemonte, Valle D'Aosta e Liguria), con l'intento di valutare l'uso di OCA nella pratica clinica ed è rappresentativo dell'esperienza di 66 centri per oltre 750 pazienti trattati, ed è attualmente il più grande studio di *real-world* su OCA al mondo. I dati di RECAPITULATE hanno permesso di confermare l'efficacia del trattamento nel contesto della normale pratica clinica nel medio-lungo termine ed anche su *marker* surrogati di fibrosi. Hanno, inoltre, permesso di acquisire informazioni sull'appropriatezza d'uso, sulla persistenza ed aderenza alla terapia nel tempo e di ottenere delle evidenze su sottopopolazioni di pazienti non investigate nel *trial* POISE.

Come anticipato, analizzare dati di progressione (mortalità, trapianto, scompenso dell'epatopatia) in un contesto di malattia rara attraverso RCT è estremamente difficile a causa della bassa numerosità dei pazienti, specialmente laddove sia disponibile un trattamento che rallenti il decorso. Ciò è quanto è stato evidenziato dallo studio COBALT (747-302) multicentrico di fase IIIb/IV, in doppio cieco, randomizzato e controllato con placebo, disegnato per valutare l'effetto di OCA sugli esiti clinici in una popolazione di pazienti con PBC ad alto rischio di progressione. L'analisi ITT (*intention-to-treat*) dell'RCT è stata ampiamente falsata dal *functional unblinding* e dal *treatment crossover*, correlato alla disponibilità del farmaco in commercio. Lo studio COBALT è stato interrotto prematuramente su indicazione del *Data Monitoring Committee* (DMC) a causa delle difficoltà di reclutamento e di *retention*. Gli studi con controllo esterno, come l'analisi COBALT EC (che confronta una coorte dei pazienti provenienti dallo studio COBALT in trattamento con OCA e una coorte esterna *real-world* (EC) proveniente dal database US Komodo), CoPEC (che confronta la popolazione in trattamento con OCA proveniente dal *trial* registrativo POISE verso una coorte di pazienti non trattati con OCA dai registri internazionali *UK-PBC Registry* e *Global PBC Study Group*) e lo studio RECAPITULATE (confronto della coorte italiana RECAPITULATE con pazienti non trattati con OCA proveniente dal *GLOBAL PBC Study group*), completamente *real-world*, risulterebbero alternative migliori agli RCT, come dimostra la coerenza del dato scientifico. Merita attenzione la disponibilità dell'ente regolatore a discutere ed individuare, con tutti gli *stakeholder* coinvolti, le tipologie di evidenze da generare per confermare la validità della soluzione terapeutica nel disegno appropriato sia di RCT che di studi di reale pratica clinica.

Obiettivi del Simposio

Il simposio "Decision making in rare disease: could RWE and biomarkers make the difference?" ha lo scopo di descrivere le potenzialità della RWE nel contesto clinico, sanitario e regolatorio. Nell'ambito delle malattie rare, scarsamente descritte, i dati di *real-world* risultano fondamentali per approfondire le caratteristiche cliniche delle malattie e la risposta ai trattamenti, definendo *marker* surrogati di malattia utili per lo sviluppo clinico dei farmaci. Al contempo, questi dati debbono sempre più avere un ruolo centrale

nel processo regolatorio approvativo dei farmaci, specialmente laddove il contesto clinico terapeutico non consente la conduzione di RCT classici. Durante il simposio si analizzerà il ruolo della RWE nel contesto di una malattia rara, come la colangite biliare primitiva, evidenziando il valore scientifico, clinico ed etico apportato dalla RWE in ambito sanitario, per migliorare la qualità delle cure e per il benessere del paziente. Questi aspetti saranno presentati attraverso un approccio multidisciplinare, che tenga conto

della necessità regolatoria e clinica, con l'obiettivo di supportare il ruolo della RWE nel processo decisionale di approvazione delle innovazioni tecnologiche. ■

PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION: STATE OF THE ART AND NEW SIGNALING PATHWAYS

A cura di Vincenzo Calderone, Eugenia Piragine – Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa

Introduzione — L'ipertensione arteriosa polmonare (IAP) è una malattia rara e degenerativa che si manifesta con ridotta capacità di esercizio fisico e dispnea. È caratterizzata da un graduale ed inesorabile rimodellamento delle arterie polmonari che, nel tempo, causa vasocostrizione, aumento della pressione sistolica polmonare e della resistenza vascolare, disfunzione del ventricolo destro e, nei casi più gravi, insufficienza cardiaca destra. Nonostante i numerosi progressi nella conoscenza della fisiopatologia della malattia, il tasso di mortalità nei pazienti affetti da IAP è ancora drammaticamente elevato. Pertanto, nell'ambito di questa specifica area di applicazione terapeutica, l'individuazione di nuove strategie farmacologiche costituisce un obiettivo improrogabile.

Le terapie attualmente disponibili per il trattamento dell'IAP prevedono la modulazione delle vie di segnalazione coinvolte nei meccanismi di vasodilatazione a livello della circolazione polmonare. Una strategia farmacologica "tradizionale" riguarda l'impiego di farmaci che regolano il *pathway* dell'ossido nitrico (NO), favorendo l'aumento dei livelli intracellulari di guanosin monofosfato ciclico (GMPc) nelle cellule di muscolatura liscia vascolare con conseguente vasodilatazione. In particolare, sildenafil e tadalafil sono due noti inibitori dell'enzima fosfodiesterasi-5 (PDE-5), responsabile della conversione del GMPc in GMP, mentre Riociguat è un attivatore dell'enzima guanilato ciclasi solubile (GCs) che catalizza la conversione della guanosina trifosfato (GTP) in GMPc.

Un'ulteriore classe di farmaci è rappresentata dagli attivatori del *pathway* della prostaciclina, un mediatore con funzione vasodilatatoria che, legandosi al proprio recettore espresso sulle cellule di muscolatura liscia vascolare, induce un aumento dei livelli di adenosina monofosfato ciclico (AMPC). A questa categoria appartengono sia gli analoghi sintetici della prostaciclina, quali epoprostenolo e trepostinil, sia gli agonisti del recettore per la prostaciclina con struttura non prostanoide, come selexipag. La terza classe di farmaci è costituita dagli antagonisti dei recettori dell'endotelina-1 (ET-1), un potente agente vasocostrittore sintetizzato dalle cellule endoteliali. Tra questi vi sono gli antagonisti dupli dei recettori dell'ET-1 (ETA e/o ETB), ossia bosentan e macitentan, e l'antagonista selettivo del recettore ETA ambrisentan.

Nuovi approcci farmacologici sono stati più recentemente sviluppati con l'approfondimento del ruolo dei mediatori con proprietà pro-proliferative nella patogenesi dell'IAP. Particolare attenzione è stata rivolta all'attivina, una proteina appartenente alla superfamiglia del fattore di crescita trasformante (TGF- β) capace di indurre la proliferazione e la migrazione delle cellule di muscolatura liscia delle arterie polmonari legandosi al recettore ACTRII. Numerosi studi hanno mostrato un aumento dei livelli di questo mediatore nel siero e nei polmoni dei pazienti affetti da IAP. Pertanto, sono stati recentemente progettati gli inibitori del *pathway* dell'attivina, tra cui sotatercept (WINREVAIR™, MSD), una proteina di fusione ricombinante che agisce da recettore "trappola" per l'attivina stessa, inducendo così lo spegnimento del segnale pro-fibrotico. Sotatercept ha ricevuto l'approvazione come farmaco orfano da parte della Food & Drug Administration (FDA) nel mese di marzo 2024 e, quindi, dall'European Medicines Agency (EMA) in agosto per il trattamento dei pazienti adulti affetti da IAP a seguito dei risultati incoraggianti di uno studio preliminare di fase 2 (PULSAR), del successivo studio di estensione in aperto (OLE) e del *trial* clinico registrativo di fase 3 (STELLAR). In questi studi il nuovo farmaco si è rivelato sicuro, ben tollerato ed efficace. Il trattamento con sotatercept in combinazione con la terapia standard, inoltre, ha aumentato la sopravvivenza e rallentato la progressione della malattia in modo significativo rispetto al placebo.

A fianco al meccanismo di azione direttamente legato all'inibizione del segnale dell'attivina, altre vie di segnale possono rappresentare un avvincente ambito di sviluppo di farmaci per il trattamento dell'IAP. Tra questi vi è il *pathway* associato alla proteina morfogenetica dell'osso (BMP), che controbilancia il *pathway* dell'attivina e che riveste un ruolo chiave nella forma ereditaria di IAP, spesso associata ad

una mutazione a carico del gene che codifica per il recettore della BMP di tipo II (BMPRII). Il recettore mutato, disfunzionante, determina infatti una parziale inibizione della via di segnalazione anti-fibrotica della BMP che consente al *pathway* dell'attivina di prevalere, con conseguente sviluppo di ipertrofia a carico della parete dei vasi arteriosi polmonari. Pertanto, anche la BMP e il *pathway* ad essa associato potrebbero verosimilmente rappresentare un ulteriore possibile *target* per lo sviluppo di farmaci destinati al trattamento della IAP.

Obiettivi del Simposio

Il Simposio mira, in primo luogo, a fornire una panoramica aggiornata ed esaustiva sull'epidemiologia e sull'eziopatogenesi dell'IAP, nonché sulle vie di segnalazione implicate nei meccanismi di alterazione dell'omeostasi vascolare polmonare che sottendono tale patologia rara e progressiva. Nel corso del Simposio verranno poi descritte le strategie farmacologiche tradizionali e le terapie emergenti per il trattamento della

IAP e verranno illustrate le evidenze disponibili relativamente ai farmaci autorizzati per discuterne il profilo di efficacia e sicurezza. Ciò consentirà di delineare il contesto clinico-terapeutico in cui il Simposio si pone: indirizzare la ricerca scientifica verso lo studio e l'approfondimento di meccanismi di azione innovativi e consentire lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per la gestione della IAP. ■



Foto di Mathew Schwartz, Unsplash

THERAPEUTIC EVOLUTION: TRANSLATING PHARMACOLOGICAL INNOVATION IN TANGIBLE BENEFIT FOR PATIENT WITH HAEMOPHILIA A

A cura di Diego Fornasari – Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano

Introduzione — L'emofilia è una coagulopatia genetica rara a carattere ereditario causata da una mutazione a carico dei geni F8 e F9, che si traduce in un deficit dei fattori della coagulazione, in particolare del fattore VIII (FVIII) nel caso dell'emofilia A e del fattore IX (FIX) nel caso dell'emofilia B.

L'emofilia A, essendo una malattia genetica *X-linked* a carattere recessivo, colpisce maggiormente i soggetti maschili ed è la forma più diffusa di emofilia, rappresentando circa l'80-85% dei casi, pur restando una malattia rara, diagnosticata in 1,7-13,6 persone ogni 10.000 [1].

A causa dell'assenza totale o parziale del FVIII, il meccanismo della cascata coagulativa si interrompe, impedendo la stabilizzazione del coagulo. Per questo, le manifestazioni cliniche tipiche dell'emofilia A sono gli episodi di sanguinamento, che possono manifestarsi spontaneamente o a seguito di traumi [1].

La gravità della patologia dipende dal livello di deficit del FVIII, da cui di conseguenza dipende anche la manifestazione clinica; tre sono i gradi identificati di emofilia A: lieve (FVIII >5% e <40%), moderato (FVIII compreso tra 1% e 5%) e grave (FVIII <1%). La forma grave è caratterizzata da episodi ricorrenti di sanguinamenti prolungati che interessano l'apparato muscolo-scheletrico e anche gli organi interni [2].

L'emofilia A è una patologia cronica che quindi impatta notevolmente sulla qualità di vita delle persone affette. Per questo l'obiettivo terapeutico è quello di aumentare la protezione nei confronti degli episodi emorragici e quindi di prevenire il danno articolare, raggiungendo la condizione di *health equity*. Fino agli anni '60, l'aspettativa di vita delle persone con emofilia era di 20-30 anni [3]. Dagli anni '70 ad oggi si è assistito ad una evoluzione-rivoluzione del trattamento dell'emofilia, passando dalla somministrazione dei concentrati plasmatici di FVIII, agli FVIII ricombinanti (rFVIII) negli anni '80. Questi comprendevano gli *standard half-life*, caratterizzati da un'emivita analoga al FVIII endogeno per la presenza di albumina, e gli rFVIII di seconda generazione (*extended half-life*) caratterizzati da un'emivita più estesa di 1,4-1,6 volte rispetto ai primi, pur non associati all'albumina. Questo ha permesso di raggiungere un'emivita di circa 19 ore con infusioni ogni 3-7 giorni, a fronte però di un'efficacia limitata per l'effetto-tetto dovuto all'interazione con il fattore di *Von Willebrand* [4].

L'armamentario terapeutico si è ampliato con l'avvento della terapia non sostitutiva rappresentata dagli anticorpi monoclonali e con la terapia genica, ma la terapia sostitutiva con rFVIII tutt'oggi rappresenta ancora lo *standard of care* dell'emofilia A. Nonostante i progressi terapeutici che, a partire dagli anni '70, sono stati in grado di rivoluzionare il trattamento dell'emofilia, essa continua a rappresentare un importante *burden* che impatta notevolmente sulla qualità di vita dei soggetti affetti, che non riguarda solamente lo stato di salute ma anche quello sociale, economico, cognitivo e affettivo. Infatti, l'emofilia è una patologia cronica e come tale richiede un trattamento che dura tutta la vita. Il *burden* del trattamento non riguarda soltanto la frequenza di somministrazione, ma anche il tempo da dedicare alla preparazione e somministrazione del trattamento, fattori che incidono sulla *compliance* del paziente. In questo contesto, il concetto di evoluzione terapeutica inevitabilmente passa attraverso il concetto di ottimizzazione della gestione terapeutica.

Obiettivi del Simposio

Il simposio si propone quale momento di confronto sul progresso terapeutico in emofilia, partendo da un concetto che è anche l'obiettivo: l'*health equity*. L'Organizzazione Mondiale della Sanità la definisce "absence of avoidable or remediable differences among groups of people".

Oggi le persone con emofilia hanno un'aspettativa di vita analoga alla popolazione generale, ma in assenza di ottimizzazione terapeutica si vive più a lungo ma in presenza di dolore cronico e disabilità. Si può quindi dire che in emofilia si sia raggiunta l'*health equity*? ■

Bibliografia

- 1 World Federation of Hemophilia. *Annual Global Survey*. <https://wfh.org/article/report-on-the-annual-global-survey-2021-now-available/2021>.
- 2 Srivastava A, Brewer AK, Mauser-Bunschoten EP, et al. *Guidelines for the management of hemophilia*. *Haemophilia*. 2013 Jan;19(1):e1-47. doi: 10.1111/j.1365-2516.2012.02909.x.
- 3 Mannucci PM. *Hemophilia therapy: the future has begun*. *Haematologica*. 2020 Mar;105(3):545-553. doi: 10.3324/haematol.2019.232132.
- 4 Konkle BA, Shapiro AD, Quon DV, et al. *BIVV001 Fusion Protein as Factor VIII Replacement Therapy for Hemophilia A*. *N Engl J Med*. 2020 Sep 10;383(11):1018-1027. doi: 10.1056/NEJMoa2002699.



Foto di Didssph, Unsplash

SPOTLIGHTS ON EMERGING APPROACHES IN IMMUNOPHARMACOLOGY

Simposio a cura del GdL Immunofarmacologia

Introduzione — L'immunofarmacologia vede al centro la progettazione, lo sviluppo e l'utilizzo di farmaci che modulino selettivamente la risposta immunitaria, contrastando lo sviluppo di numerose condizioni patologiche, tra cui malattie autoimmuni e patologie infiammatorie di tipo cronico. I farmaci che agiscono modulando il sistema immunitario come corticosteroidi, antistaminici e immunosoppressori sono stati ampiamente sfruttati in passato e rappresentano tuttora terapie di riferimento nel trattamento di disturbi infiammatori, allergici e autoimmuni. Ad oggi, nuove classi di farmaci sono disponibili e sono clinicamente rilevanti. Tra questi le cosiddette *small-molecules* come gli inibitori delle protein-chinasi ma anche farmaci biologici, come proteine ricombinanti ed anticorpi monoclonali che regolano selettivamente la risposta immunitaria.

Nel panorama immunofarmacologico, IL-17 rappresenta una citochina pro-infiammatoria prodotta principalmente dalle cellule T helper 17 (Th17). Questa citochina svolge diverse funzioni nel sistema immunitario e ha un ruolo chiave nell'infiammazione e nella risposta immunitaria. In particolare nell'infiammazione, dove promuove la biosintesi di altre citochine infiammatorie, anche determinando una risposta contro le infezioni da patogeni extracellulari come batteri e funghi. Tuttavia, dalla letteratura risulta evidente come un'abnorme produzione di IL-17 sia spesso correlata a patologie autoimmuni, come artrite reumatoide e psoriasi, in particolare caratterizzate da un suo eccessivo aumento; e in questi contesti IL-17 contribuisce all'infiammazione cronica e alla degradazione tissutale.

A questa importante citochina ne è associata spesso un'altra: IL-23. IL-23 contribuisce all'attivazione delle cellule immunitarie ed è principalmente prodotta dalle APC, come le cellule dendritiche e i macrofagi, in risposta a stimoli infiammatori. In particolare, va sottolineato come il suo ruolo principale sia legato proprio alla regolazione delle cellule T helper 17 (Th17), che sono responsabili della biosintesi e del rilascio di IL-17. La letteratura evidenzia come il coinvolgimento fondamentale di IL-23 nei processi infiammatori e nell'autoimmunità faccia di questa citochina un importante bersaglio terapeutico per il trattamento farmacologico di tali condizioni.

La scoperta di alterati livelli di IL-23 e IL-17, strettamente associate anche a IL-12, in malattie autoimmuni ha modificato le prospettive sulle cause e la prevenzione di queste patologie, identificando un ruolo chiave per una classe specifica di cellule Th (Th17). Ciò fornisce importanti implicazioni per lo sviluppo di nuove terapie per il trattamento di patologie autoimmuni organo specifiche come sclerosi multipla, morbo di Crohn, psoriasi, fibrosi cistica, asma e immunoartriti. Recentemente sono stati sviluppati farmaci che inibiscono l'attività di IL-23 o il suo recettore e il loro utilizzo è stato sperimentato nel trattamento della psoriasi, ma anche delle malattie infiammatorie intestinali.

Obiettivi del Simposio

Il simposio mira ad offrire l'opportunità ai relatori/membri del GdL Immunofarmacologia di mostrare i più recenti progressi nella sperimentazione di nuovi approcci farmacologici per colpire il sistema immunitario e la potenziale rilevanza in diversi contesti preclinici e clinici.

In particolare, l'obiettivo del simposio è quello di fornire una panoramica aggiornata sugli approcci terapeutici più promettenti, tra cui la modulazione di IL-17 e IL-23, in grado di generare un'efficacia terapeutica basata sulla modulazione farmacologica delle risposte immunitarie ed infiammatorie.

Le malattie infiammatorie immunomediate (IMID) identificano un gruppo di condizioni patologiche apparentemente non collegate tra loro ma che condividono un comune meccanismo infiammatorio. L'incidenza di queste malattie nelle popolazioni occidentali è di circa il 5-7% con una

frequente coesistenza nello stesso paziente di malattie multiple. In questo simposio, relatori provenienti da rinomati laboratori di ricerca in ambito accademico presenteranno e discuteranno criticamente le evidenze precliniche e cliniche più interessanti in grado di documentare l'efficacia di approcci immunofarmacologici innovativi nella modulazione della risposta immunitaria in diverse condizioni patologiche. In particolare, verrà descritto il ruolo di IL-17 nella regolazione delle patologie infiammatorie ed autoimmuni in relazione all'attivazione di diversi pathway intracellulari. Allo stesso modo, verrà discusso il ruolo clinico di IL-23 nelle malattie immunomediate, con un particolare riguardo al suo coinvolgimento nelle patologie infiammatorie intestinali e

all'applicazione terapeutica dei farmaci che ne inibiscono l'azione come gli anticorpi anti-IL-23. Si discuterà inoltre dei dati più recenti a sostegno delle potenzialità di questo specifico approccio immunofarmacologico come strategia terapeutica rilevante e realistica che può aprire la strada a trattamenti alternativi/complementari a quelli attualmente disponibili. Il simposio prevede inoltre la possibilità di partecipazione di alcuni giovani ricercatori italiani che presenteranno alcuni dei loro più recenti studi nell'ambito dell'immunofarmacologia. Nell'insieme, le relazioni di questo simposio permetteranno di condividere una visione complessiva e aggiornata dei progressi e dei campi di applicazione, dando il giusto risalto al ruolo fondamentale della ricerca di base per lo sviluppo di approcci terapeutici

a carattere innovativo. Con queste basi sarà sicuramente più plausibile disporre in futuro di terapie più adatte e maggiormente appropriate per contrastare il decorso e lo sviluppo delle patologie immunitarie e di quelle su base infiammatoria. ■



Foto di Eden Costantino, Unsplash

THE DUAL CHALLENGE OF IMMUNE SYSTEM DISORDERS: THE CASE OF VITILIGO AND ONCOLOGICAL IMMUNOTHERAPIES

A cura di Cristina Travelli – Dipartimento di Scienze Del Farmaco, Università di Pavia

Introduzione — Il sistema immunitario rappresenta la più importante linea di difesa dell'organismo da agenti e danni sia esterni che interni. Può accadere tuttavia che fattori ambientali e/o genetici portino ad anomalie di questo complicato sistema, con uno sbilanciamento dell'attivazione e inibizione del sistema immunitario, sia innato che adattativo, che comporta/determina l'insorgenza di stati patologici. Nelle malattie autoimmuni, ad esempio, il sistema immunitario ha un erroneo riconoscimento degli antigeni *self* come non-*self*. In questo contesto, la vitiligine non segmentale è una patologia autoimmune cronica che porta alla distruzione dei melanociti e alla formazione di aree depigmentate della pelle che interessano spesso zone visibili. Nella vitiligine un'elevata suscettibilità dei melanociti stessi a diversi fattori di stress dell'ambiente esterno porta all'attivazione del sistema immunitario innato e successivamente di quello adattativo. Nello specifico, avviene l'attivazione dei linfociti T-CD8+ contro i melanociti stessi, contribuendo alla loro distruzione e alla comparsa delle aree depigmentate tipiche. Come parte di questo processo, vengono poi attivate le cellule Trm della memoria, che sono invece responsabili del mantenimento e di eventuali *relapse* della malattia. Ad oggi la terapia è a base di corticosteroidi o inibitori della calcineurina topici, farmaci che non permettono ai pazienti di ottenere risultati soddisfacenti e presentano limitazioni legate al loro profilo di tollerabilità.

In ambito oncologico, lo stato cronico di infiammazione può portare ad un aumento della proliferazione cellulare e all'angiogenesi, ma anche all'incapacità del sistema immunitario di riconoscere gli antigeni tumorali perché mascherati o essere del tutto assente come nel caso del carcinoma mammario triplo negativo. Inoltre, in oncologia avviene il cosiddetto processo di "immuno-sorveglianza tumorale", nel quale le cellule tumorali evadono il sistema immunitario e lo ri-educano per essere immunosoppressivo, tramite per esempio l'attivazione di meccanismi inibitori tramite *checkpoint* immunologici (esempio: aumento dell'espressione del PD-L1), ma anche un aumento del numero di cellule T regolatorie (immunosoppressanti) o macrofagi di tipo 2, cellule che aiutano il tumore a progredire. Difatti, gli inibitori dei *checkpoint* immunologici rappresentano un importante nuovo ambito di applicazione nella lotta contro i tumori. Sono passati ormai tredici anni da quando il primo inibitore è stato approvato e questo evento, seguito poi da altri farmaci e da successive nuove indicazioni, ha migliorato la comprensione delle dinamiche di interazione tra tumore e sistema immunitario, al fine di ottimizzare le immunoterapie. Da una parte si sono potute evidenziare tante importanti novità biologiche che hanno aiutato lo sviluppo di immunoterapie sempre più mirate ed efficaci, dall'altra, grazie soprattutto a nuovi dati clinici inizialmente sperimentali ma poi confermati dalla corrente pratica clinica, si è assistito ad un aumento delle patologie che beneficiano della immunoterapia. A tipi tumorali che sin da principio sembravano poter rispondere naturalmente a questo approccio terapeutico (ca. renale; ca. vescica; melanoma) per caratteristiche proprie e per tentativi fatti nel passato con citochine o con cellule T attivate, se ne sono poi aggiunti altri che non necessariamente presentavano condizioni del sistema immunitario *ab initio* indicative di un successo rilevante (ca. polmonare, ca. della testa e collo, alcuni tumori ginecologici, alcune forme tumorali del ca. mammario).

Ancora più fondamentale per la prognosi *quoad vitam* dei pazienti con patologie tumorali è stata la possibilità di testare questi farmaci in stadi di malattia sempre più precoci, avendone osservato l'attività primariamente negli stadi più avanzati.

Un esempio didascalico è quanto presentato al recente Convegno degli Oncologi europei (ESMO) e cioè la notizia che uno studio con un *checkpoint* inibitore combinato alla chemioterapia ha mostrato un

miglioramento statisticamente significativo della sopravvivenza complessiva dopo otto anni di *follow up*, in un tipo tumorale di carcinoma mammario (cosiddetto triplo negativo) prima e dopo la chirurgia ablattiva, patologia che solo dieci anni fa era quasi incurabile. E questo tipo di evenienze, osservate in stadi meno progrediti, è avvenuto in precedenza anche nel carcinoma polmonare, in quello renale, nel melanoma, etc. Si può dire quindi che si è studiato, detto e scritto tutto quello che serve per l'immunoterapia contro il cancro? Ovviamente no, anzi molto c'è da fare ancora su diversi aspetti:

- sulla sempre più approfondita conoscenza dei meccanismi che nascondono il tumore alla reazione immunitaria normale, studiando sempre modi più innovativi di aiutare o di ricaricare il sistema immunitario stesso per agire contro il tumore;
- sulla possibilità non solo di mettere insieme agenti immunoterapici con un unico bersaglio (per esempio il recettore PD-1 / PDL-1) con la chemio o la radioterapia, ma di combinare più agenti immunostimolanti o di combinarli in sequenza;
- sulla possibilità di intercettare nuove indicazioni di patologie in cui l'efficacia dell' immunoterapia è stata già dimostrata o patologie nelle quali questo approccio non è mai stato seriamente testato: di recente sono stati presentati dati rilevanti nel trattamento del carcinoma cutaneo a cellule di Merkel e di nuovo all'ESMO sono stati presentati per la prima volta dati solidi nel carcinoma anale squamocellulare. C'è quindi ancora tanto da fare, ma la ricerca farmacologica e clinica è pronta alla sfida.

Obiettivi del Simposio

Il simposio "The dual challenge of immune system disorders: the case of vitiligo and oncological immunotherapies" ha l'obiettivo di esplorare le differenti implicazioni del sistema immunitario tramite gli esempi di vitiligine, rappresentativo delle malattie autoimmuni, e dell'immunoncologia. In particolare, attraverso tre presentazioni che riuniscono esperti in questo campo, il simposio mira a fornire una panoramica completa sulle recenti strategie terapeutiche. In primo luogo il simposio si focalizza su una terapia immunosoppressiva innovativa per il trattamento della vitiligine, con ruxolitinib, inibitore selettivo di JAK 1 e 2, che agisce in modo specifico sul meccanismo patogenetico alla base della patologia, interrompendo la via di segnale IFN-gamma/CXCL9-10, e ha dimostrato di essere efficace nel controllare la vitiligine non segmentale, di favorire la ri-pigmentazione delle aree affette, prevenendo la progressione della malattia e le ricadute, e di essere ben tollerato. Il secondo obiettivo del simposio è di far luce sull'arsenale immunoterapeutico che abbiamo a disposizione in ambito oncologico, come focus su tutti i bersagli farmacologici

scoperti e approvati, e approfondire possibili nuovi target immunoterapici per il trattamento di tumori liquidi e solidi nonché trattare possibili nuove sfide terapeutiche e farmacologiche per migliorare e affinare il trattamento immunoterapico. ■

PURINERGIC SIGNALING IN CANCER AND NEURODEGENERATIVE DISEASES: TOWARDS PURINE-BASED THERAPEUTIC APPROACHES

Simposio a cura del Purine Club Italiano

Introduzione — La scoperta, la sintesi e l'utilizzo nella sperimentazione sia preclinica che clinica di ligandi selettivi o modulatori dell'adenosina e dei suoi recettori (P1: A1, A2A, A2B e A3) e di ATP e dei suoi recettori (P2X, P2Y e P2Y-simili, attivati da purine/nucleotidi pirimidinici extracellulari), nonché di inibitori selettivi degli enzimi deputati alla produzione di adenosina (CD39/CD73), hanno fatto notevoli progressi rispetto alla prima definizione di Geoffrey Burnstock di "segnalazione purinergica". Alterazioni della segnalazione purinergica sono alla base di varie malattie, dalla neurodegenerazione alle reazioni infiammatorie fino allo sviluppo dei tumori. Ad oggi, lo studio del metabolismo dei nucleosidi purinici sta generando interesse per lo sviluppo di nuovi potenziali biomarcatori per il cancro e la *targeting* della segnalazione purinergica emerge come un'attraente strategia terapeutica per combattere tale condizione. I livelli di purine risultano spesso alterati nei tumori e gli enzimi del metabolismo sono stati studiati come potenziali biomarcatori diagnostici, prognostici e terapeutici in diversi tipi di neoplasie. Questo argomento ha un vasto interesse per la ricerca di base e un'elevata rilevanza clinica.

Inoltre, la dimostrazione che i recettori purinergici sono ampiamente espressi in neuroni e cellule gliali del Sistema Nervoso Centrale (SNC) ha stimolato nuovi studi volti a comprenderne il ruolo come potenziali bersagli di terapie innovative per patologie neurologiche.

Un esempio è rappresentato dagli studi sugli oligodendrociti, le cellule gliali che svolgono la funzione essenziale di supporto trofico e metabolico ai neuroni e di mielinizzazione, avvolgendo le fibre nervose del SNC con la guaina mielinica. Queste cellule originano durante lo sviluppo da precursori degli oligodendrociti (OPC), che si ritrovano anche nel tessuto nervoso parenchimale adulto. La conseguenza primaria della morte degli oligodendrociti è la degenerazione dei neuroni e la demielinizzazione assonale, che ritarda o blocca completamente la conduzione degli impulsi nervosi nella regione interessata. La perdita di oligodendrociti è un aspetto comune a molte patologie del SNC, come la sclerosi multipla (SM), l'ischemia cerebrale o la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), quest'ultima caratterizzata dalla perdita di motoneuroni, le cellule responsabili della contrazione della muscolatura volontaria. In molte di queste condizioni, perlomeno nelle fasi iniziali della malattia, il processo di re-mielinizzazione delle fibre colpite avviene grazie alla maturazione e al differenziamento di OPC. Tuttavia, nel tempo tali processi si riducono fino a scomparire, probabilmente a causa di un microambiente sfavorevole. Le ricerche più avanzate nel campo delle Neuroscienze mettono in evidenza sempre più chiaramente come, in gran parte di tali malattie, venga a fallire proprio l'equilibrio esistente tra tutti i componenti o gli attori che, con azione inibitoria o facilitatoria, contribuiscono alla formazione della mielina e alla sua plasticità.

ATP extracellulare, i nucleotidi uracilici ed i propri recettori denominati P2X e P2Y, incluso il recettore P2Y simile GPR17, sono stati identificati sulle cellule gliali mielinizzanti in specifici stadi di sviluppo. I risultati ottenuti utilizzando un modello murino e tessuti umani (*post-mortem* di soggetti con SLA) hanno evidenziato alterazioni significative dell'espressione del recettore GPR17, regolatore chiave del differenziamento oligodendrogliale, durante la progressione della patologia. Saranno presentati dati che dimostrano l'efficacia di trattamenti farmacologici diretti contro GPR17 nel correggere tali alterazioni, ripristinando la corretta mielinizzazione e rallentando la neurodegenerazione. Nel dettaglio, i risultati mostreranno che il trattamento con ligandi attivi su GPR17 è in grado di migliorare, in modo sesso-specifico, la probabilità di sopravvivenza e le funzioni motorie dei topi, andando a ripristinare l'oligodendrogenesi, contrastare la neuroinfiammazione e ridurre la neurodegenerazione. Da questi dati il recettore GPR17 emerge quindi come un nuovo possibile bersaglio per il trattamento della SLA.

Da notare che i numerosi e complessi effetti dell'ATP rilasciato non vengono esercitati solo attraverso i recettori purinergici P2, ma anche attraverso adenosina, recettori P1 ed enzimi specifici o ectonucleotidasi capaci di regolare le concentrazioni extracellulari di ATP, ADP, AMP e la formazione di adenosina. Quest'ultima è un importante modulatore endogeno nel SNC in grado di regolare la proliferazione e differenziamento degli OPC verso oligodendrociti maturi. Nelle cellule della linea oligodendrocitaria (dai precursori a quelle mature) sono presenti tutti e quattro i sottotipi recettoriali adenosinergici finora clonati e identificati (A1, A2A, A2B e A3). Il recettore A2B è definito come il più enigmatico tra i recettori adenosinergici, sia per la scarsità di ligandi selettivi che per la bassa affinità verso il modulatore endogeno adenosina; ciò lascia presupporre che tale recettore venga attivato solo in condizioni di emergenza o di patologia. È importante ricordare infatti che le concentrazioni di adenosina aumentano significativamente in tutte le condizioni di stress e di patologia a livello cerebrale. Saranno presentati dati relativi al ruolo dei recettori A2A e A2B (A2BR) su colture primarie di OPC e di neuroni, utilizzando agonisti e antagonisti selettivi per tali sottotipi recettoriali. I dati che saranno presentati, ottenuti con tecniche elettrofisiologiche accoppiate ad analisi morfologica e biochimica, evidenzieranno un ruolo diverso dei recettori A2A e A2B durante l'oligodendrogliogenesi e la mielinizzazione, a seconda della loro attivazione sui neuroni o sulle cellule oligodendrogliali, suggerendo che possano rappresentare importanti ed innovativi bersagli molecolari utili per lo sviluppo di nuove terapie per il trattamento di patologie caratterizzate da demielinizzazione.

Nel melanoma, così come in altri tipi di tumore, sono molto frequenti mutazioni a carico della protein chinasi BRAF (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*), un oncogene che ricopre un ruolo critico nella via di segnalazione RAS-RAF-MEK-ERK. La mutazione in grado di attivare BRAFV600E rimane la più comune, osservata nel 40% dei pazienti affetti da melanoma. Ad oggi, sono stati approvati diversi inibitori specifici di BRAF, che soprattutto in combinazione con inibitori di MEK, inducono significativi benefici clinici nei pazienti. Tuttavia, la resistenza a questi trattamenti resta una problematica clinica rilevante. Adenosina extracellulare è coinvolta nell'*escape* immunitario da parte delle cellule tumorali. Diversi inibitori dell'enzima ectonucleotidasi CD73 sono stati studiati come potenziali agenti terapeutici in diversi studi preclinici e alcuni di questi sono entrati in *trial* clinici per il trattamento di pazienti con tumori solidi. Alcune evidenze sperimentali indicano che le alterazioni di BRAF possono regolare l'espressione di CD73 nelle cellule tumorali e che gli inibitori di BRAF a loro volta possono ridurre l'espressione di CD73 nel tessuto tumorale. In questo simposio saranno presentati dati relativi allo studio del profilo di espressione di CD73 e della sua attività nelle cellule BRAF-mutate sensibili e resistenti agli inibitori di BRAF, e il possibile meccanismo di regolazione dell'espressione di CD73 in queste condizioni. L'approfondimento delle conoscenze relative al ruolo di CD73/adenosina nella risposta agli inibitori di BRAF è fondamentale per identificare nuove vie di segnalazione coinvolte nella resistenza terapeutica a questi agenti, al fine di poter sviluppare potenziali strategie terapeutiche combinate. Infine, saranno presentati dati relativi al ruolo delle purine nel carcinoma mammario. In tali condizioni, la purina nucleoside fosforilasi (PNP), l'enzima che converte guanosina in guanina ed inosina in ipoxantina, è espressa sia nelle cellule mammarie non tumorali (MCF12A) che in quelle tumorali altamente invasive (MDA-MB-231) o non invasive (MCF7). Lo studio dell'asse guanosina-PNP nelle tre linee cellulari evidenzierà un ruolo antiproliferativo della guanosina ad alte concentrazioni nelle cellule tumorali, ma non in quelle normali. L'effetto antiproliferativo risulta più marcato in seguito all'inibizione della PNP con forodesina. Parallelamente alla via di salvataggio delle purine mediata da PNP, saranno presentati dati relativi alla via *de novo* attivata dall'IMPDH. L'inibizione di quest'ultima con acido micofenolico (MPA) provoca un aumento dei livelli di espressione di PNP, probabilmente per un meccanismo di compensazione, e riduce la proliferazione delle cellule tumorali, seppur con un andamento diverso. I differenti *pattern* di metabolismo delle purine nelle cellule tumorali potrebbero essere sfruttati per individuare nuovi *target* terapeutici nella cura del carcinoma mammario.

Obiettivi del Simposio

Il Simposio dal titolo "Purinergic signaling in cancer and neurodegenerative diseases: towards purine-based therapeutic approaches" ha come obiettivo principale quello di discutere e portare all'attenzione

di una platea di esperti le principali implicazioni farmacologiche e prospettive terapeutiche della trasmissione purinergica. I risultati discussi in questo Simposio contribuiranno ad incrementare

le conoscenze sul possibile sviluppo di nuovi farmaci attivi sulla trasmissione purinergica, con particolare riferimento alle due condizioni patologiche trattate ed estremamente diffuse nella popolazione. ■

NEW INSIGHTS ON THE ROLE OF COMPLEMENT IN NEUROLOGICAL DISEASES: FROM PRECLINIC TO CLINIC

Simposio a cura del GdL Malattie Neurodegenerative

Introduzione — Il complemento è un componente essenziale del sistema immunitario che controlla i meccanismi di difesa umorale nei mammiferi. È formato da circa 30 proteine circolanti, nella forma di precursori enzimatici inattivi (zimogeni), che si distribuiscono ai diversi compartimenti corporei. Queste proteine sono parte di una cascata enzimatica che partecipa al processo di difesa contro le infezioni. Infatti, l'attivazione "a cascata" delle proteine solubili, che convenzionalmente vengono chiamate componenti, è alla base di attività biologiche che includono la lisi di cellule, di batteri o di virus. L'attivazione del complemento può essere indotta anche dalla presenza di aggregati macromolecolari e di complessi antigene-anticorpo ed in questo caso è accompagnata dal reclutamento di cellule immunocompetenti, come cellule fagocitarie (monociti, macrofagi, cellule polinucleate), linfociti B e linfociti T.

Ad oggi tre sono le vie di attivazione del complemento riportate nella letteratura: la via classica, la via alternativa e la via dipendente dalla lectina.

La via classica si può sviluppare con meccanismo anticorpo-dipendente e si verifica quando la componente C1 interagisce con complessi antigene-IgM o con complessi aggregati antigene-IgG. La via può essere attivata anche con un meccanismo anticorpo-indipendente (innescata da altre componenti quali la proteina C reattiva, proteine polianioniche o proteine batteriche).

La via lectinica è simile alla via classica ma si attiva in maniera anticorpo-indipendente, in presenza di lectina, una proteina del siero, di mannosio, fruttosio o di N-acetilglucosamina presenti sulla membrana cellulare.

La via alternativa è attivata per scissione del C3 circolante indotto dall'interazione con componenti superficiali di membrane cellulari o con immunoglobuline.

I diversi componenti circolanti includono componenti attivanti e componenti inibenti a sottolineare la complessità di questo sistema, la cui attività è la risultante dell'equilibrio tra i meccanismi di auto-attivazione e di autoregolazione. Tra i principali componenti abbiamo C1q, che rappresenta il componente principale di attivazione della via classica e della via lectinica, il componente C3, che rappresenta il componente principale della via alternativa ma che è anche substrato intermedio della via classica e lectinica e la cui attivazione porta alla produzione del componente C5. L'efficienza della progressione di queste tre vie è controllata da modulatori endogeni quali il fattore H, il fattore inibitore di C1 e la properdina.

Per molto tempo si è pensato che il sistema nervoso centrale (SNC) fosse un organo non accessibile al complemento. Questa ipotesi è però cambiata in seguito all'osservazione che non solo il complemento può accedere nel SNC in corso di infiammazione, ma che i suoi componenti (C1q, C3 e C5) sono qui attivamente prodotti ed esplicano azioni fondamentali per il corretto sviluppo della rete neuronale, favorendo l'eliminazione delle sinapsi deboli in tutto l'arco della vita dell'individuo (pruning sinaptico). Questi stessi meccanismi, se patologicamente amplificati (ad es. per iperproduzione di autoanticorpi o di proteine quali β -amiloide, proteina-tau), possono amplificare gli eventi citotossici e partecipare al decorso di patologie centrali e periferiche.

Obiettivi del Simposio

Il simposio è dedicato ad alcune delle conoscenze precliniche e cliniche che supportano il ruolo patogenetico del complemento in patologie infiammatorie autoimmuni quali la

sclerosi multipla (SM) e la neurite ottica e nel dolore neuropatico, la cui conoscenza può permettere l'individuazione di nuove categorie terapeutiche.

La SM è una patologia cronica demielinizzante e degenerativa del SNC. Un ruolo fondamentale nel definire sia le risposte autoimmunitarie sia gli eventi neurodegenerativi che la

caratterizzano è svolto dalle cellule B e dai componenti dell'immunità innata (e quindi del complemento). Negli anni più recenti è stato dimostrato che il complemento controlla e determina eventi cellulari coinvolti nella sinaptopatia, cioè le alterazioni e il depauperamento neuronale che riduce l'efficienza della trasmissione sinaptica. La sinaptopatia, che è stata correlata alle alterazioni neurologiche osservate nei pazienti affetti da SM (perdita di memoria e diminuita capacità di apprendimento, alterata coordinazione motoria, alterazioni dell'umore, ansia, depressione), è positivamente associata all'aumentata produzione del complemento, che a sua volta (in particolare l'iperproduzione di C1q, C3 e C5) è stata associata ad alterazione della trasmissione eccitatoria e a fenomeni di eccitotossicità. Nel simposio verranno presentati dati preclinici relativi all'impatto del complemento sul "pruning" sinaptico e sulla trasmissione glutamatergica in terminazioni nervose e processi astrocitari, nell'intento di proporre processi molecolari e/o cellulari che possano suggerire nuovi bersagli terapeutici per la cura della SM e/o della neurite ottica. Questa analisi permette la discussione di possibili applicazioni in clinica di modulatori/ligandi specifici del complemento ad oggi disponibili per ridurre gli eventi eccitotossici che caratterizzano la SM e la neurite ottica. Verrà anche discusso il ruolo del complemento nei meccanismi di immunotrombosi, cioè di coagulazione come risposta difensiva contro la diffusione patogenetica di componenti infiammatori circolanti, responsabili però di eventi di ipoperfusione cerebrale osservati nella forma remittente di SM. Un'altra patologia che vede il coinvolgimento del complemento è la neuropatia periferica indotta dalla chemioterapia (CIPN). Benché sia noto che il sistema del complemento, in particolare il fattore C5 e i suoi recettori, svolga un ruolo cruciale

nell'algia cronica, non è ancora del tutto chiaro il coinvolgimento dell'asse C5a/C5aR1 nello sviluppo e nel mantenimento della CIPN. Questo punto merita però attenzione, considerata la limitata efficacia delle attuali terapie farmacologiche, e tenuto conto che l'inibizione di C5aR1 potrebbe fornire un approccio farmacologico innovativo per il suo trattamento, aprendo uno scenario inesplorato nella gestione di una sintomatologia spesso invalidante associata al trattamento con chemioterapici. Il principale aspetto di innovazione scientifica che verrà discusso è l'identificazione di C5aR1 come nuovo bersaglio del paclitaxel e come mediatore chiave nella fisiopatologia della CIPN, dimostrando per la prima volta che la sua inibizione può contrastare la comparsa di questo effetto collaterale. La relazione è dedicata alla valutazione preclinica dell'inibizione dell'asse C5a/C5aR1 sull'insorgenza e progressione della CIPN. Nello specifico, i risultati dimostrano che il paclitaxel ha un'affinità di legame specifica per C5aR1, determinando un'attivazione del recettore C5a-indipendente. Sorprendentemente il blocco farmacologico dell'attivazione di C5aR1 con un inibitore allosterico selettivo e potente, DF3966A, è in grado di bloccare questa attivazione, riducendo significativamente l'allodinia meccanica e termica indotta da paclitaxel. In sintesi, i risultati ottenuti evidenziano il potenziale terapeutico del blocco del C5aR1 non solo a scopo preventivo ma anche per il trattamento sintomatico di pazienti con neuropatia periferica indotta da taxani. Questa scoperta è rivoluzionaria, poiché non solo fa luce sui meccanismi cellulari alla base della fisiopatologia della CIPN associata al trattamento con paclitaxel, ma suggerisce un potenziale bersaglio farmacologico per la prevenzione e il trattamento di tale sintomatologia, aprendo nuove possibilità per la

gestione dei numerosi pazienti che presentano gravi effetti collaterali, anche a lungo termine, in seguito al trattamento con paclitaxel. Le proposte terapeutiche innovative in ambito farmacologico che mirano alla modulazione del sistema del complemento sono diverse e richiedono di essere valutate prima in ambito preclinico e poi clinico. Considerato che è oramai consolidato come il complemento sia importante sia per il corretto sviluppo neuronale sia per l'insorgenza di patologie infiammatorie quali la SM e la CIPN, l'interesse in questo sistema e nelle molecole in grado di controllarlo è fortemente aumentato. I modulatori del complemento rappresentano i prototipi di nuove classi di farmaci per la gestione di diverse patologie centrali. Nello specifico, modulatori di C1q e C3 sono indicati per il controllo del *pruning* sinaptico e delle alterazioni della trasmissione glutamatergica nel SNC, mentre modulatori di C5 e del suo recettore C5aR1 appaiono come mediatori chiave dei meccanismi alla base del dolore infiammatorio e neuropatico. ■

NOVEL DRUG CANDIDATES TARGETING PHOSPHODIESTERASE (PDE) FAMILIES 4 AND 9 AS AN EMERGING STRATEGY FOR CELL SURVIVAL AND CNS DISEASES

Simposio a cura del GdL Malattie Neurodegenerative

Introduzione — La famiglia delle fosfodiesterasi (PDE) è una vasta classe di enzimi che regola le concentrazioni di cAMP e cGMP. È noto che entrambi i secondi messaggeri siano coinvolti in diversi percorsi di segnalazione nell'organismo, inclusi quelli correlati alle funzioni neurologiche, alla memoria e alla cognizione. Molti studi hanno identificato isoforme specifiche di PDE come modulatori di percorsi correlati alla plasticità neuronale e, in particolare, PDE4 e PDE9 nei disturbi neurodegenerativi. Grande attenzione è attualmente dedicata allo sviluppo di nuovi inibitori di PDE4 e PDE9.

Obiettivi del Simposio

Il simposio mira a dare una visione d'insieme sui diversi approcci per selezionare molecole bioattive sui processi fisiopatologici. La logica è quella di avvicinare chimici farmaceutici e bio-farmacologi per accelerare la scoperta di farmaci. Tutti i dati saranno presentati e discussi in modo critico sottolineando pro e contro di questa visione.

Su questa linea, il contributo di Elisa Landucci sarà focalizzato sulla caratterizzazione degli effetti neuroprotettivi degli inibitori della PDE9 in un modello di epilessia *in vitro*. La ricerca ha prima valutato i livelli di espressione genica e proteica della PDE9 in fette organotipiche di ippocampo, in condizioni fisiologiche e patologiche mediante RT-PCR, *Western Blot* e immunoistochimica a fluorescenza. L'attività inibitoria di molecole selettive contro la PDE9 umana ricombinante a lunghezza intera è stata inoltre dimostrata utilizzando il test della fosfodiesterasi PDE-Glo. I risultati mostrano che l'esposizione delle fette organotipiche di ippocampo al kainato aumenta i livelli di geni

e proteine della PDE9. Le molecole selezionate sono risultate essere sia buoni inibitori della PDE9 sia in grado di ridurre il danno CA3 indotto dal kainato in modo dose-dipendente. Nel complesso, i risultati identificano gli inibitori selettivi della PDE9 come composti promettenti per sviluppare nuovi strumenti terapeutici contro le malattie neurologiche.

La selezione di molecole biologiche attive può anche seguire un approccio virtuale in silico. Un esempio di tali tecniche sarà riportato da Giovanni Ribaud. Il *background* dei suoi studi è rappresentato dalla evidenza che la fosfodiesterasi regola i livelli di cAMP/cGMP catalizzando la loro idrolisi nei corrispondenti analoghi lineari. Tra questi, la PDE9 - specifica per cGMP - sta attirando l'interesse di chimici farmaceutici e farmacologi come potenziale *target* poiché la neuroprotezione, il miglioramento della disfunzione microvascolare e il potenziamento cognitivo sono stati associati a livelli aumentati di cGMP nel cervello. In effetti, la PDE9 possiede caratteristiche strutturali uniche e un

profilo di espressione nel corpo umano che incoraggiano l'identificazione di ligandi selettivi. Ribaud descriverà il lavoro di scoperta degli inibitori della PDE9, reso più rapido dallo *screening* virtuale. Partendo dal loro *database* interno di oltre 1600 piccole molecole, i composti parametrizzati sono stati sottoposti a *screening* per i loro descrittori fisico-chimici utilizzando un approccio basato sui ligandi, al fine di evidenziare molecole simili ai farmaci. Inoltre, studi di *docking* supportati da dinamiche molecolari hanno permesso loro di valutare le caratteristiche del complesso ligando-bersaglio, e la valutazione dei risultati computazionali ha portato all'identificazione di un piccolo *pool* di candidati promettenti. Sono in corso studi per valutare la corrispondenza tra i dati virtuali e le proprietà biologiche. Come sopra riportato, il ruolo degli inibitori della PDE4 nel modulare la neuroinfiammazione e la neuroplasticità ha suscitato un enorme interesse negli ultimi anni. In dettaglio, è stato suggerito che l'inibizione della PDE4D sia utile per trattare i

disturbi da deficit cognitivo, mentre gli inibitori della PDE4B potrebbero essere efficaci nella neurogenesi, nella sopravvivenza neuronale, nella neuroplasticità, nel rafforzamento sinaptico e nella rimielinizzazione. Di conseguenza, gli inibitori selettivi della PDE4B/D potrebbero essere utili per contrastare la degenerazione assonale e la neuroinfiammazione, senza gli effetti collaterali associati agli inibitori della PDE non selettivi. Chiara Brullo si è dedicata a questo argomento e riporterà alcuni dati recenti nella progettazione e sintesi di nuovi chemiotipi per inibire diverse isoforme della PDE4. In studi precedenti, è stata sintetizzata una vasta libreria di composti (libreria GEBR) per ottenere nuovi inibitori della PDE4 attivi sulla neurodegenerazione. La libreria GEBR è caratterizzata dalla presenza di una *moiety* catecol-sostituita (tipica delle PDE4I come Rolipram) unita ad una coda amminica o amidica attraverso diversi *linker* o eterocicli. Studi cristallografici sull'isoforma PDE4D hanno evidenziato che, in base alla direzione e alla lunghezza delle code, i composti sono stati classificati in tre distinti gruppi conformazionali: molecole sporgenti, contorte ed estese, risultando quelle sporgenti più promettenti, in quanto probabilmente responsabili di un certo grado di interazione con i domini regolatori dell'enzima. Per ottenere ulteriori informazioni SAR per un ulteriore sviluppo della libreria, sono stati selezionati derivati sporgenti ed estesi, che rappresentano diversi chemiotipi (ammido-alchile, ammino-alchile, ammino-pirazoli, ammido-diidroisossazoli) e in grado di inibire con diversa potenza le isoforme PDE4D e PDE4B, per condurre studi più mirati sui loro effetti neuroprotettivi. I risultati dello *screening in vitro* di nuovi inibitori della PDE4 come agenti neuroprotettivi saranno riportati da Sara Anna Bonini. In particolare, i 10 composti GEBR selezionati sono stati testati *in vitro* per valutare la loro attività su neuroinfiammazione,

stress ossidativo e neuroplasticità. Inizialmente, è stata impostata una curva di concentrazione per stabilire l'intervallo di concentrazioni che non causano tossicità *in vitro*. Quindi, sono stati studiati gli effetti neuroprotettivi e neuroinfiammatori nelle cellule trattate con LPS. Per studiare gli effetti antiossidanti, le cellule sono state stimulate con H²O² e sono stati valutati gli effetti dei composti sullo stress ossidativo. Infine, è stata misurata la protezione della neuroplasticità dei composti nelle cellule trattate con LPS valutando i livelli di mRNA del gene correlato alla sinapsi e dei fattori neurotrofici. Sulla base dei risultati ottenuti da questo studio *in vitro*, Bonini è stata in grado di identificare i migliori composti selettivi per GEBR PDE4B/D in grado di stimolare la neuroplasticità e contrastare i processi neuroinfiammatori e ossidativi. Solo i composti migliori, efficaci sulla neuroplasticità (miglioramento dei livelli dei marcatori sinaptici e dei fattori neurotrofici) e su almeno uno degli altri due aspetti analizzati (proprietà antinfiammatorie e antiossidanti), saranno ulteriormente caratterizzati utilizzando preparazioni *in vitro* del sistema nervoso centrale, sia neurologicamente intatto che con lesione del midollo spinale. Da questo simposio emergeranno, quindi, le caratteristiche di nuovi composti che agiscono come inibitori delle PDE, in particolare PDE9 e PDE4, come nuovi potenziali farmaci modulatori della neuroplasticità. Questi composti potrebbero trovare future applicazioni per contrastare i danni neurologici legati alle crisi epilettiche e per le lesioni traumatiche del midollo spinale. ■

SYNAPTIC TARGETS FOR PARKINSON'S DISEASE

Simposio a cura del GdL Malattie Neurodegenerative

Introduzione — La malattia di Parkinson (MP) rappresenta il disordine neurodegenerativo a sintomatologia motoria più diffuso al mondo. L'età è il principale fattore di rischio per l'insorgenza delle forme sporadiche di MP. Esistono inoltre delle forme genetiche della malattia che sono correlate a mutazioni su differenti *loci* con trasmissione familiare autosomica dominante o recessiva.

Alla base dell'insorgenza dei sintomi della MP c'è la morte dei neuroni dopaminergici localizzati nella *pars compacta* della sostanza nera. Ognuno di questi neuroni proietta in maniera anterograda e diffusa verso l'area cerebrale dello striato, dove è in grado di stabilire molteplici connessioni che mediano la regolazione funzionale dei circuiti dei gangli della base, a loro volta responsabili del controllo del movimento. Quando la perdita dell'*input* dopaminergico derivante dalla degenerazione dei neuroni del sistema nigro-striatale supera il 70-80%, iniziano a manifestarsi rigidità e scarsità dei movimenti, bradicinesia, instabilità posturale e tremore a riposo, che rappresentano i segni motori distintivi della MP. I pazienti affetti possono presentare anche una pletera di sintomi non motori, molti dei quali sono considerati prodromici, in quanto possono manifestarsi molti anni prima dei disordini del movimento, e includono disturbi del sonno REM, iposmia, costipazione e altri sintomi di tipo autonomico. Depressione o *deficit* cognitivi sono ulteriori sintomi che possono aggravare la condizione dei soggetti affetti da MP.

Da oltre 60 anni, il *gold-standard* per la terapia della MP è rappresentato dalla somministrazione di levodopa, un precursore della dopamina che viene trasformato in dopamina a livello cerebrale, dove supplisce alla mancanza di questo neurotrasmettitore dovuta alla perdita dei neuroni nigrostriatali. La terapia sostitutiva con levodopa è in grado di contrastare efficacemente i principali sintomi motori per alcuni anni, ma il suo utilizzo a lungo termine è correlato all'insorgenza di severi effetti avversi e perdita di efficacia. Dopo 5 anni dall'inizio della terapia possono infatti presentarsi fluttuazioni motorie ascrivibili alla perdita di efficacia del farmaco, in ragione della progressione della perdita di neuroni. Inoltre, i pazienti trattati per molti anni con levodopa possono iniziare a manifestare anche discinesie, ossia movimenti involontari simil-coreici che possono diventare altamente invalidanti e sono causati da complesse riorganizzazioni plastiche dei circuiti dei gangli della base, determinate dalla somministrazione continuativa del farmaco in concomitanza alla perdita degli *input* dopaminergici. Purtroppo, ancora oggi non è possibile sviluppare terapie che possano rallentare o fermare efficacemente la progressione della malattia, perché le sue basi biologiche non sono state ancora chiarite. Inoltre, il fatto che nel momento della diagnosi della MP la perdita dei neuroni dopaminergici nigrostriatali sia già molto avanzata costituisce un problema primario per lo sviluppo di nuovi approcci, in quanto può inficiare in maniera significativa anche l'efficacia di eventuali terapie di tipo *disease-modifying* ad azione neuroprotettiva.

Al fine di caratterizzare al meglio i processi fisiopatologici alla base della MP per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici e il successivo sviluppo di terapie innovative, negli ultimi anni la ricerca si è focalizzata in particolare sullo studio del ruolo di una proteina denominata α -sinucleina nell'insorgenza della malattia. Infatti, in aggiunta alla perdita dei neuroni dopaminergici nigrostriatali, nel cervello dei soggetti parkinsoniani si riscontra tipicamente la presenza di inclusioni all'interno del corpo cellulare e dei processi dei neuroni, dette rispettivamente corpi di Lewy (CL) e neuriti di Lewy (NL). Queste sono costituite primariamente da aggregati insolubili fibrillari di α -sinucleina, la cui deposizione patologica sembra essere determinante per l'innescò del processo di degenerazione neuronale che sottende all'insorgenza delle forme sporadiche e di alcune forme genetiche della malattia. In linea con questa ipotesi, pionieristici studi *post-mortem* sul cervello di pazienti deceduti a diversi stadi di MP sembravano supportare che il tasso di diffusione dei CL e NL immunopositivi per α -sinucleina nel cervello correlasse con la progressione della malattia, osservazioni che sono state però confutate da successive evidenze. Nonostante questo, la centralità del ruolo di α -sinucleina nella patogenesi della MP è testimoniata dal fatto che quest'anno è stato delineato un nuovo modello di stadiazione biologica della malattia che è finalizzato a facilitare la

valutazione di approcci terapeutici *disease-modifying* che si basa primariamente sulla valutazione della presenza e delle caratteristiche di aggregati patologici di α -sinucleina a carico del liquido cefalorachidiano, in associazione alla valutazione del tasso di neurodegenerazione osservato mediante studi di *imaging* cerebrale ed allo *screening* di mutazioni associate alle forme familiari di MP.

Negli ultimi due decenni, la caratterizzazione di modelli sperimentali *in vivo* di MP e gli studi di *imaging* sui pazienti, hanno permesso di comprendere che i processi neurodegenerativi che portano alla perdita dei neuroni nella malattia iniziano a livello delle sinapsi, ossia i punti di contatto e di comunicazione tra le cellule nervose. Le sinapsi sono il sito dove l' α -sinucleina è più abbondante e svolge il suo ruolo fisiologico primario, che è il controllo della neurotrasmissione. Nelle sinapsi l' α -sinucleina inizia ad aggregarsi in maniera anomala determinando, solo dopo molto tempo, la deposizione dei CL e NL. Infatti, più recenti studi *post-mortem* hanno dimostrato che il quantitativo di α -sinucleina presente a carico degli aggregati sinaptici nel cervello dei soggetti parkinsoniani è di diversi ordini di grandezza superiore rispetto all'ammontare della proteina all'interno dei CL e NL, che ad oggi vengono ritenuti svolgere un ruolo secondario nel processo di neurodegenerazione. Inoltre, è stato osservato che gli aggregati patologici di α -sinucleina possono essere trasmessi dal neurone che ne è affetto ad uno sano proprio mediante le sinapsi, propagando così la patologia con un processo simil-prionico. Dalle sinapsi disfunzionali e degenerate il danno al neurone sembrerebbe procedere in via retrograda lungo i processi, per poi coinvolgere anche il soma, determinandone così la morte. La perdita di connessioni sinaptiche indotta dalla patologia di α -sinucleina è molto rilevante anche per l'insorgenza delle tipiche alterazioni di connettoma che sono state osservate nel cervello dei pazienti affetti da MP. Ricerche condotte su modelli sperimentali di MP familiare hanno dimostrato che anche nelle forme genetiche non correlate a mutazioni a carico di α -sinucleina, alterazioni a carico delle sinapsi sono alla base dell'insorgenza del danno cerebrale, supportando che la cosiddetta "sinaptopatia", ossia il danno sinaptico, rivesta un ruolo centrale nella patogenesi di questo disordine neurodegenerativo.

Su questa linea, diversi studi longitudinali su soggetti che presentano almeno due dei segni prodromici tipici della MP (più nello specifico disturbi del sonno REM in associazione ad iposmia o sintomi autonomici) sono ad oggi volti all'identificazione di marcatori di "sinaptopatia" che siano predittivi della conversione da stadio prodromico a stadio sintomatico. Di nota, uno dei più recenti ha dimostrato che l' α -sinucleina contenuta nelle vescicole extracellulari circolanti di origine neuronale può funzionare da marcatore prodromico per la MP con elevata sensibilità e specificità.

In parallelo all'identificazione di biomarcatori precoci per la diagnosi della MP, a oggi è altresì chiaro che lo sviluppo di strategie volte a curare la "sinaptopatia" risulta fondamentale al fine di contrastare la perdita neuronale e ritardare la progressione della MP. Svariate tipologie di approcci terapeutici volti a eliminare gli aggregati patologici di α -sinucleina dal cervello dei pazienti affetti da MP sono in sviluppo clinico. Questi includono vaccini, piccole molecole con attività antiaggregante, terapia genica volta al silenziamento dell' α -sinucleina e agenti in grado di promuovere i meccanismi di degradazione di questa proteina, che però presentano numerose limitazioni in termini di specificità e sicurezza.

Obiettivi del Simposio

Il simposio "Synaptic targets for Parkinson's disease" del 42° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia fornirà una panoramica dei principali meccanismi coinvolti nella "sinaptopatia" durante le fasi precoci della MP che possono essere studiati a livello clinico o sui modelli sperimentali. Verranno inoltre presentati i risultati di studi che identificano proteine sinaptiche diverse da α -sinucleina come bersagli

terapeutici innovativi per le forme sporadiche e genetiche di MP. Infine, si porterà in evidenza come l'utilizzo di nuovi farmaci attivi su bersagli sinaptici che possano sia esercitare un'azione *disease-modifying* che supportare la funzionalità dei neuroni, in aggiunta all'identificazione di marcatori prodromici di "sinaptopatia", potrebbe consentire di superare le principali problematiche che hanno ad oggi impedito lo sviluppo

di approcci terapeutici in grado di rallentare o bloccare la progressione di questa importante malattia neurodegenerativa. ■

TRANSLATIONAL PHARMACOLOGY IN ALZHEIMER'S DISEASE: SEARCHING FOR NEW TARGETS OR NEW DRUGS?

Simposio a cura del GdL Malattie Neurodegenerative

Introduzione — La malattia di Alzheimer è la forma di demenza più comune, caratterizzata da un progressivo declino cognitivo e perdita di memoria. Mentre l'eziologia precisa della malattia è sfuggente e multifattoriale, l'ipotesi dell'amiloide rappresenta la teoria più accreditata per spiegare la patogenesi, ovvero la cascata di eventi molecolari e cellulari che portano alla neurodegenerazione. L'ipotesi dell'amiloide presuppone che l'accumulo e l'aggregazione dei peptidi β -amiloide ($A\beta$) svolgano un ruolo centrale nell'insorgenza e nella progressione della malattia di Alzheimer. Uno squilibrio tra la produzione e l'eliminazione dell' $A\beta$ determina l'accumulo di oligomeri tossici di $A\beta$ e di fibrille insolubili.

Gli aggregati di $A\beta$ scatenano una cascata di eventi patologici, tra cui la disfunzione sinaptica e la perdita neuronale, che culminano infine nelle manifestazioni cliniche della malattia di Alzheimer. Una alterata funzionalità sinaptica, in particolare, rappresenta un evento critico e precoce nel processo patologico che precede la degenerazione neuronale e il declino cognitivo.

Diversi meccanismi contribuiscono alla disfunzione sinaptica nella malattia di Alzheimer, molti dei quali sono direttamente influenzati dalla presenza di aggregati $A\beta$. Ad esempio, è stato dimostrato che gli oligomeri di $A\beta$ compromettono la plasticità sinaptica, la capacità delle sinapsi glutamatergiche di subire modifiche strutturali e funzionali in risposta all'attività neuronale. Inoltre, gli oligomeri di $A\beta$ alterano il rilascio dei neurotrasmettitori e compromettono la funzione dei recettori postsinaptici, compromettendo ulteriormente la trasmissione e la connettività sinaptica. Ad aggiungere complessità al quadro patogenetico, la disfunzione sinaptica indotta da $A\beta$ può innescare una cascata di eventi neurotossici, tra cui la disfunzione mitocondriale, lo stress ossidativo, l'attivazione della microglia e i fenomeni di neuroinfiammazione che esacerbano la vulnerabilità neuronale e contribuiscono alla progressione della malattia. Inoltre, la perdita di sinapsi nella malattia di Alzheimer non è limitata a specifiche regioni del cervello ma colpisce reti neuronali diffuse, portando al progressivo deterioramento della funzione cognitiva. La degenerazione neuronale interessa diversi sistemi neurotrasmettitoriali, in particolare il sistema glutamatergico e colinergico per l'esordio dei deficit cognitivi e i sistemi serotonergico e noradrenergici per l'insorgenza dei sintomi neuropsichiatrici.

Nonostante le numerose evidenze sperimentali precliniche che implicano l'ipotesi dell'amiloide e l'alterata funzionalità sinaptica nella patogenesi della malattia di Alzheimer, gli interventi terapeutici mirati a ridurre i livelli di $A\beta$ hanno finora prodotto un successo limitato negli studi clinici. L'approccio basato sulla completa inibizione della sintesi di $A\beta$ è risultato fallimentare, poiché non era stato adeguatamente considerato il ruolo fisiologico dei monomeri di $A\beta$ che svolgono un ruolo essenziale nel mantenimento dell'omeostasi neuronale e della funzione sinaptica, laddove la transizione di $A\beta$ verso lo stato oligomerico determina la formazione di specie neurotossiche responsabili dei fenomeni neurodegenerativi. Ciò evidenzia la complessità della malattia di Alzheimer e sottolinea la necessità di un approccio multimodale che affronti i diversi meccanismi patologici alla base della patologia. I futuri sforzi di ricerca volti a chiarire l'intricata interazione tra accumulo di $A\beta$, formazione di oligomeri di $A\beta$, disfunzione sinaptica e perdita neuronale sono promettenti per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche.

Considerando l'ipotesi dell'amiloide, negli ultimi 25 anni sono state sviluppate diverse strategie terapeutiche per contrastare l'azione neurotossica di $A\beta$ e, quindi, modificare la traiettoria della patologia per rallentarne la progressione.

Diversi studi di farmacologia preclinica e clinica sono in corso per identificare nuovi farmaci detti ad azione *disease-modifying* in grado di agire sulle basi della patogenesi della malattia di Alzheimer, bloccando la progressione di malattia. Tra questi farmaci ad azione *disease-modifying* uno degli approcci maggiormente innovativi è la cosiddetta immunoterapia passiva. Il nuovo approccio adottato negli ultimi 10 anni è

stato quello di sviluppare farmaci in grado di promuovere l'eliminazione della proteina β -amiloide con la somministrazione di anticorpi che riconoscono diverse forme di aggregazione di $A\beta$ per ridurne al contempo i depositi a livello cerebrale. Gli anticorpi monoclonali contro $A\beta$, come lecanemab e donanemab, si sono mostrati promettenti negli studi clinici promuovendo l'eliminazione delle placche amiloidi dal cervello già a 12 mesi, con un successivo rallentamento del declino cognitivo osservabile a 18 e 24 mesi. Tuttavia, rimangono delle sfide ancora aperte, tra cui la necessità di una diagnosi precoce attraverso l'utilizzo di biomarcatori e un intervento precoce per poter valutare l'efficacia clinica, il rallentamento della progressione e la gestione dei potenziali effetti collaterali.

Oltre alle terapie anti-amiloide, vi è un crescente riconoscimento dell'importanza di affrontare altri meccanismi patologici implicati nella malattia di Alzheimer, tra cui la patologia della proteina tau, la neuroinfiammazione e la disfunzione sinaptica. Strategie terapeutiche mirate a ridurre l'aggregazione e la propagazione degli oligomeri della proteina tau, come gli inibitori dell'aggregazione della tau e l'immunoterapia, vengono attivamente studiate come potenziali trattamenti in grado di modificare il decorso della malattia.

Inoltre, gli interventi volti a preservare la funzione sinaptica e a promuovere la resilienza neuronale rappresentano strade promettenti per la terapia della malattia di Alzheimer.

Tuttavia, tradurre i promettenti risultati preclinici in trattamenti clinicamente efficaci rimane una sfida ardua. La complessa natura multifattoriale della malattia di Alzheimer richiede un approccio multimodale che affronti i diversi meccanismi patologici alla base della malattia. Inoltre, le strategie di medicina personalizzata basate sui profili genetici, molecolari e clinici individuali sono promettenti per ottimizzare l'efficacia del trattamento e ridurre al minimo gli effetti avversi.

Obiettivi del Simposio

Durante il simposio sarà discussa criticamente l'ipotesi dell'amiloide e saranno affrontate tematiche relative allo sviluppo dell'immunoterapia anti-amiloide e delle sfide poste in ambito clinico, considerando anche il panorama della ricerca preclinica che è in continua evoluzione, con una crescente enfasi su approcci multidimensionali mirati a diversi meccanismi patologici.

Nel simposio saranno inizialmente esaminate le attuali evidenze disponibili sulla disfunzione sinaptica nella malattia di Alzheimer e la ricerca di nuovi biomarcatori e nuovi *target* farmacologici. Successivamente sarà analizzato il ruolo fisiologico dei monomeri di $A\beta$ e le attuali evidenze sull'efficacia clinica e le tollerabilità dei nuovi anticorpi monoclonali contro $A\beta$. Il simposio rappresenterà la continua collaborazione tra ricerca preclinica e clinica, che è essenziale per far avanzare lo sviluppo di trattamenti efficaci per combattere questa devastante malattia neurodegenerativa. ■



Foto di Cassia Tofano, Unsplash

UNMET MEDICAL NEEDS IN THE MANAGEMENT OF TARDIVE DYSKINESIA

A cura di Filippo Caraci - Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università degli Studi Catania

Introduzione — La discinesia tardiva (TD) è un disordine cronico-persistente del movimento, di natura ipercinetica, caratterizzato da movimenti anomali, involontari, a carico di una o più regioni corporee. Nella maggioranza dei casi, la TD tende ad interessare la regione oro-buccale con movimenti anomali a carico della lingua, delle labbra e della mandibola, sebbene qualsiasi distretto corporeo come le estremità, il tronco, le spalle e la pelvi possa essere interessato da tale patologia, anche se con frequenza minore rispetto al distretto oro-buccale.

La TD è una patologia stigmatizzante e, soprattutto nelle forme più severe, invalidante, determinando un peggioramento della qualità di vita e, spesso, una compromissione delle attività quotidiane del paziente affetto e del proprio *caregiver*.

Nella stragrande maggioranza dei casi la TD si osserva in pazienti in trattamento prolungato con farmaci antipsicotici di prima generazione, ma anche con antipsicotici di seconda generazione. Sebbene molteplici studi in letteratura abbiano evidenziato più alti tassi di incidenza e prevalenza della TD in pazienti con patologia psichiatrica sottostante (es. schizofrenia), trattati con antipsicotici di prima generazione, tuttavia, anche l'esposizione prolungata ad antipsicotici di 2^a generazione risulta associata ad un rischio aumentato di insorgenza di TD.

Da un punto di vista fisiopatologico, sono state formulate alcune ipotesi/teorie, la più accreditata delle quali riguarda un'alterazione della neurotrasmissione dopaminergica a livello dei gangli della base. Nello specifico, si ritiene come un'esposizione prolungata ad antagonisti competitivi del recettore dopaminergico D₂ (es. antipsicotici) possa determinare, in soggetti geneticamente suscettibili, una *up-regulation* e un'ipersensibilità di tale recettore. Pertanto, un prolungato trattamento antipsicotico potrebbe favorire l'insorgenza di TD, attraverso un aumentato *turnover* della dopamina ed un incremento dello stress ossidativo determinando, in ultima analisi, un quadro neuro-infiammatorio e neuro-tossico a livello dei gangli della base. Studi recenti condotti nei modelli animali dimostrano, inoltre, una profonda alterazione del *signaling* intracellulare del recettore dopaminergico D₂ e in particolare una *down-regulation* della via della beta-arrestina.

La TD, soprattutto nelle forme moderate/severe, è responsabile di un'importante compromissione sia della qualità di vita che del funzionamento psico-sociale del paziente affetto, che presenta tassi più elevati di stigma, ritiro sociale, ridotta autostima, ansia e depressione, unitamente a difficoltà/alterazioni a carico di attività quotidiane/routinarie e di funzioni fisiologiche come l'alimentarsi, il parlare, il deambulare e, nei casi più severi/debilitanti, il respirare. Tali *impairment* si traducono spesso nella difficoltà del paziente psichiatrico con TD a trovare/mantenere l'attività lavorativa e a instaurare relazioni sociali. La letteratura scientifica ha, altresì, documentato come i pazienti con TD mostrino più alti tassi di utilizzo di risorse sanitarie, derivanti da una maggiore incidenza di accessi in Pronto Soccorso, ricoveri ospedalieri di maggiore durata e maggior numero di visite ambulatoriali non pianificate.

Nonostante il significativo *burden* della TD nei confronti dei pazienti (e dei *caregiver*), attualmente vi sono importanti *unmet needs* relativamente al riconoscimento e alla gestione clinica di tale condizione, sebbene sia disponibile un *tool* diagnostico quale la scala AIMS (*Abnormal Involuntary Movement Scale*) ampiamente utilizzata nei trial clinici, ma, ad oggi, scarsamente impiegata nella pratica clinica quotidiana per la diagnosi, la valutazione della gravità e il monitoraggio della TD.

Obiettivi del Simposio

Durante il simposio in oggetto verranno pertanto affrontate e discusse le basi neurobiologiche della TD e le tematiche inerenti alla TD nei suoi principali aspetti caratterizzanti quali l'inquadramento epidemiologico, sintomatologico, diagnostico, il *burden of disease* e la gestione clinica, unitamente all'analisi dei principali meccanismi fisiopatologici che sottendono la TD; al fine di individuare nuovi target farmacologici per il trattamento di tale patologia. ■



Foto di Rad Cyrus, Unsplash

NEW FRONTIERS IN TREATING MENTAL AND ADDICTIVE DISORDERS: UNVEILING THE THERAPEUTIC POTENTIAL AND MECHANISMS OF HALLUCINOGENS

Simposio a cura del GdL Malattie Neuropsicofarmacologia

Introduzione — Nell'ultimo decennio, il campo della psichiatria e della neuroscienza ha assistito a un crescente interesse per il potenziale terapeutico degli allucinogeni, tra cui LSD, psilocibina e ketamina. Questi composti, una volta associati principalmente all'abuso e all'utilizzo ricreativo, stanno emergendo come possibili trattamenti per una vasta gamma di disturbi mentali, dalla depressione, all'ansia e alla dipendenza da sostanze. Tale rinascita dell'interesse è supportata da una serie di studi clinici e preclinici che hanno evidenziato risultati promettenti, pur sollevando una serie di domande fondamentali sulla natura dei meccanismi d'azione di questi composti e sulle loro implicazioni terapeutiche.

In questo contesto, diventa evidente l'importanza di indagare e comprendere i meccanismi farmacologici e terapeutici degli allucinogeni. Gli studi finora condotti hanno evidenziato un coinvolgimento complesso di diversi sistemi neurobiologici nei loro effetti, che includono la modulazione della trasmissione della serotonina e del glutammato, insieme a molti altri meccanismi. La comprensione di questi processi richiede un approccio multidisciplinare che integri dati clinici, neurobiologici, comportamentali e molecolari. Recenti sviluppi tecnologici e metodologici hanno aperto nuove prospettive nella ricerca sugli allucinogeni. Approcci come l'elettrofisiologia *in vivo*, l'optogenetica, l'immunofluorescenza e l'*imaging* cerebrale ad alta risoluzione stanno consentendo agli scienziati di esaminare in modo più dettagliato i cambiamenti neurobiologici indotti da questi composti e di comprendere meglio come influenzano i circuiti cerebrali e il comportamento. Questi strumenti sono fondamentali per affrontare alcune delle principali sfide nella ricerca sugli allucinogeni, come la comprensione delle loro proprietà psicoattive e terapeutiche, nonché l'identificazione di potenziali effetti avversi e la ricerca di nuovi bersagli terapeutici.

Obiettivi del Simposio

In questo simposio presenteremo dati originali ottenuti nei nostri laboratori di ricerca riguardo ai meccanismi farmacologici di diversi allucinogeni e le loro implicazioni terapeutiche in diversi contesti patologici. L'obiettivo è di stimolare nuove idee, promuovere la condivisione delle conoscenze e fornire un quadro completo delle sfide e delle opportunità nella ricerca sugli allucinogeni.

A tal proposito, il Prof. Danilo De Gregorio (Università Vita-Salute San Raffaele ed IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano) presenterà dei dati inerenti all'efficacia dell'LSD nel trattamento dell'ansia e del disturbo da uso di alcol nei roditori. Utilizzando

paradigmi comportamentali, elettrofisiologia e optogenetica, descriverà il potenziale terapeutico di questo composto e i suoi meccanismi d'azione.

La Prof.ssa Laura Musazzi (Università Milano-Bicocca) illustrerà gli effetti della ketamina in un modello di depressione nel ratto basato sull'esposizione cronica a stress.

Lo studio si basa su un approccio multiomico volto all'identificazione dei cambiamenti molecolari e cellulari che sottendono agli effetti antidepressivi rapidi di ketamina.

Il Prof. Stefano Comai (Università degli Studi di Padova) esporrà gli effetti della psilocibina, quando somministrata

a dosi non-psichedeliche, in modelli preclinici di disturbi affettivi e cognitivi. Esplorerà come questo composto possa influenzare i circuiti cerebrali coinvolti in queste condizioni e le implicazioni terapeutiche che ne derivano.

Infine, il Prof. Nazzareno Cannella (Università degli Studi di Camerino) si concentrerà sul potenziale terapeutico della psilocibina e della ketamina sulla ricerca e sul consumo di alcol. Attraverso studi su modelli di consumo ricaduta, cercherà di comprendere in quali fasi del ciclo delle dipendenze gli psichedelici mostrano il maggior potenziale per aprire nuove strade per la terapia.

Il nostro simposio rappresenta

un'occasione unica per approfondire il mondo complesso, e allo stesso tempo affascinante, dei meccanismi farmacologici e terapeutici degli allucinogeni. Ogni presentazione e discussione è un tassello nel mosaico della nostra comprensione di questi composti, aprendo porte a nuove idee e collaborazioni. Sarà interessante notare che, nonostante tutte queste sostanze siano accomunate dalla capacità di indurre esperienze allucinatorie e alterazioni della coscienza, esse possano agire sui diversi circuiti cerebrali con meccanismi diversi. Di conseguenza, possono presentare potenzialità terapeutiche diverse per vari disturbi psichiatrici. Speriamo che gli argomenti trattati durante il simposio fungano da catalizzatori per la creatività e l'innovazione, spingendo i ricercatori a esplorare nuovi approcci e a mettere in atto sforzi di ricerca

mirati a sfruttare appieno il potenziale terapeutico di queste sostanze. Nonostante i loro limiti, gli allucinogeni mostrano un potenziale unico non solo per le loro dirette implicazioni terapeutiche, ma anche e soprattutto perchè possono essere impiegati come strumenti per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici per lo sviluppo di terapie innovative. La strada davanti a noi è affascinante e ricca di sfide, ma condividendo le nostre conoscenze e lavorando insieme, possiamo aprire nuove vie verso trattamenti più efficaci e mirati per i disturbi mentali. ■



Foto di Jaroslav Devia, Unsplash

IMPACT OF CHRONIC STRESS ON THE ONSET AND PROGRESSION OF MENTAL DISORDERS: SEARCHING FOR NOVEL PHARMACOLOGICAL TARGETS

Simposio a cura del GdL Neuropsicofarmacologia

Introduzione — È attualmente noto che l'esposizione ad eventi stressanti di lunga durata è in grado di indurre un'alterazione del funzionamento di diversi meccanismi neurobiologici, in particolare di quelli che modulano la risposta dell'organismo allo stress. È stato inoltre dimostrato che tali alterazioni contribuiscano significativamente allo sviluppo di un ampio spettro di patologie psichiatriche. Tuttavia, non tutti gli individui presentano suscettibilità ad uno stress cronico, in quanto alcuni di essi sviluppano resilienza. La ricerca scientifica, dunque, è sempre più interessata a studiare il legame esistente tra stress cronico e malattie psichiatriche e a identificare i meccanismi molecolari che lo sottendono, al fine di poter sviluppare nuove strategie terapeutiche per il trattamento di tali condizioni.

A tal riguardo, si deve tener presente che, nel corso della vita, esistono specifiche finestre temporali in cui l'organismo, in particolare il cervello, risulta essere maggiormente sensibile agli effetti negativi dello stress. Tra queste, sicuramente, va annoverato il periodo perinatale. Numerose evidenze indicano, infatti, che l'esposizione ad eventi negativi e stressanti durante la gravidanza e il periodo *post-partum* ha conseguenze importanti e durature sulla prole, tra cui l'insorgenza di alterazioni comportamentali sin dai primi anni di vita e che raggiungono, poi, il picco durante l'adolescenza.

Obiettivi del Simposio

Il presente simposio ha come scopo quello di mostrare e discutere i risultati provenienti dalle più recenti ricerche scientifiche, condotte mediante l'utilizzo di modelli animali di esposizione allo stress cronico e focalizzate sull'analisi di disfunzioni centrali e periferiche alla base della vulnerabilità.

Nel simposio, la Prof.ssa Annamaria Cattaneo del Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università di Milano e Responsabile del Laboratorio di Psichiatria Biologica presso l'Istituto IRCCS Centro Fatebenefratelli di Brescia, presenterà i risultati di un recente studio, realizzato utilizzando un modello animale di stress prenatale, nel quale è stato evidenziato come le alterazioni comportamentali non si osservino in tutti gli animali esposti allo stress, ma in un solo

sottogruppo di essi, il cui fenotipo è definito, dunque, vulnerabile. Verrà mostrato come gli animali vulnerabili presentino una specifica composizione del microbiota intestinale e delle componenti del sistema infiammatorio, non riscontrabile, invece, sia negli animali controllo che nel sottogruppo di animali che, sebbene esposti allo stesso stress prenatale, non hanno sviluppato alterazioni comportamentali e definiti, pertanto, resilienti. In particolare, gli animali con un fenotipo vulnerabile presentano una composizione del microbiota intestinale povera di specifici ceppi protettivi come, ad esempio, un noto ceppo batterico legato alla longevità, *Akkermansia*, e arricchita di ceppi con proprietà pro-infiammatorie. Anche a livello del Sistema Nervoso Centrale, gli animali vulnerabili mostrano un'attivazione della microglia e

della cascata pro-infiammatoria, particolarmente significativa nella corteccia prefrontale. Tali risultati suggeriscono che l'esposizione allo stress durante la vita prenatale è in grado di indurre alterazioni del sistema immunitario ed infiammatorio, anche a carico del microbiota intestinale, che potrebbero contribuire al successivo sviluppo di un'ampia gamma di disturbi comportamentali e psichiatrici. Pertanto, tali sistemi biologici potrebbero rappresentare *target* farmacologici che, se preventivamente modulati, potrebbero ridurre gli effetti negativi associati all'esposizione ad eventi avversi stressanti durante il periodo perinatale.

Tra le maggiori forme di esposizione ad uno stress cronico, la privazione del sonno rappresenta sicuramente una delle più importanti. Infatti, secondo i dati dell'Associazione Italiana per

la Medicina del Sonno, nella nostra nazione, 12 milioni di persone hanno un sonno insufficiente, con una riduzione media di 2 ore per notte. Sebbene spesso sottovalutate, le ripercussioni socioeconomiche della privazione del sonno sono profonde e di vasta portata e includono errori professionali, incidenti e numerosi decessi. Inoltre, allo stato attuale la limitata conoscenza dei meccanismi alla base dei deficit cognitivi associati alla perdita di sonno ha limitato lo sviluppo di strategie di intervento efficaci. Il cervello è tra gli organi maggiormente suscettibili agli effetti avversi della privazione del sonno che può determinare marcati deficit nell'elaborazione delle informazioni e nelle relative funzioni esecutive. A tal riguardo, il Prof. Roberto Frau del Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Neuroscienze e Farmacologia Clinica, Università di Cagliari, presenterà i risultati di una recente ricerca scientifica, condotta utilizzando un modello animale di privazione del sonno, nella quale è stato evidenziato che questa tipologia di stress cronico è in grado di determinare un significativo aumento di un neurosteroido, l'allopregnanolone (AP), esclusivamente in una regione cerebrale, la corteccia prefrontale, che svolge un ruolo fondamentale per le funzioni cognitive. L'AP è un potente modulatore del recettore GABA-A che gioca un ruolo fondamentale nella regolazione dello stress e che, negli animali deprivati di sonno, subisce un cambiamento di polarità, da inibitorio a eccitatorio. Pertanto, mediante registrazioni *in vitro* e *in vivo*, analisi immunoistochimiche e comportamentali, è stato dimostrato, per la prima volta, che le alterazioni neurocomportamentali indotte negli animali dalla privazione del sonno sono mediate da specifiche disfunzioni dei meccanismi regolatori della polarità del recettore GABA-A, con particolare riferimento al trasporto per il cloro. I risultati di questo studio suggeriscono,

quindi, che regolatori chiave nella omeostasi del cloro a livello neuronale e della steroidogenesi cerebrale possono rappresentare nuovi *target* terapeutici per trattare condizioni patologiche indotte dalla privazione del sonno e disturbi psichiatrici ad esso associate.

Oltre alla privazione del sonno, anche quella dei contatti sociali, sperimentata, ad esempio, durante la quarantena causata dalla pandemia da COVID-19, rappresenta un'importante forma di esposizione allo stress cronico, in grado di indurre e/o slatentizzare un ampio spettro di disturbi mentali, quali disturbi dell'umore e psicosi. In questo contesto, l'esercizio fisico si è dimostrato particolarmente utile per prevenire gli effetti dannosi della privazione dei contatti sociali. L'irisina, una proteina prodotta dal muscolo scheletrico in conseguenza all'esercizio fisico, è stata identificata come uno dei possibili responsabili del suo effetto benefico sul Sistema Nervoso Centrale. A tal riguardo, la Prof.ssa Giulia Maria Camerino dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro" presenterà i risultati di un recente studio in cui, nel modello di isolamento sociale nel ratto, in grado di indurre disfunzioni comportamentali, neurochimiche, biomolecolari e metaboliche sovrapponibili a quelle presenti nei pazienti psicotici, sono state osservate alterazioni delle concentrazioni plasmatiche di irisina associate a disfunzioni dell'omeostasi dei muscoli scheletrici a contrazione veloce, quali modifiche dell'espressione di geni direttamente coinvolti nell'esercizio fisico, come *Pgc1 α* e *Fndc5*, e delle isoforme della catena pesante di miosina. Tali risultati evidenziano come l'esposizione allo stress cronico indotto dall'isolamento sociale, oltre a determinare alterazioni a livello del Sistema Nervoso Centrale e a contribuire all'insorgenza e/o alla progressione di malattie psichiatriche, impatti negativamente

anche su specifiche vie biologiche in distretti periferici, quali il muscolo scheletrico. I risultati di questo studio dimostrano, dunque, lo sviluppo di significative disfunzioni del *cross-talk* esistente tra distretti centrali e periferici dell'organismo in seguito all'esposizione allo stress cronico, che potrebbero favorire una maggiore vulnerabilità allo stress e rappresentare nuovi *target* farmacologici per lo sviluppo di innovativi approcci terapeutici per le condizioni psichiatriche stress-correlate. ■

UNRAVELLING SEX DIFFERENCES IN COGNITION AND BEHAVIOURS FOR BETTER PHARMACOLOGICAL TREATMENTS IN NEUROPSYCHIATRIC DISORDERS

Simposio a cura del GdL Neuropsicofarmacologia

Introduzione — Il sesso è una delle principali variabili biologiche che influenzano lo sviluppo e la maturazione del sistema nervoso centrale. È nota infatti l'esistenza di differenze significative, tra maschi e femmine, per quanto riguarda l'incidenza, l'età di insorgenza, i sintomi, l'efficacia del trattamento, la comparsa di effetti avversi e la progressione della maggior parte delle patologie psichiatriche. Ancora oggi, tuttavia, la ricerca preclinica e clinica tende ad avere un'impostazione androcentrica, trascurando di includere il sesso come variabile biologica nel disegno sperimentale degli studi. Nel caso degli studi preclinici, l'utilizzo dei maschi è infatti preferito per questioni di semplicità sperimentale in quanto l'inclusione della popolazione femminile comporta per lo sperimentatore un aumento nel numero di animali da testare, la valutazione dei fattori ormonali durante gli esperimenti, un aumento della mole di lavoro e costi più elevati da affrontare. Allo stesso modo, negli studi clinici un arruolamento bilanciato di maschi e femmine rende lo studio più complesso con costi enormi, quasi insostenibili se si considerano anche variabili legate al sesso femminile come età, menopausa e/o gravidanza. Come conseguenza, l'approccio androcentrico ha portato negli anni ad un *bias* sperimentale molto grave che ha fatto pensare che i risultati degli studi condotti soprattutto su soggetti maschi possano essere applicati *tout court* alle femmine.

L'importanza di includere la popolazione femminile, sia nella ricerca preclinica che clinica, è stata evidenziata ultimamente anche dal *National Institute of Health*, che nel 2015 ha pubblicato una politica volta ad integrare il sesso come variabile biologica nei disegni sperimentali, mirando a fornire nuove conoscenze sull'eziologia e il trattamento dei vari disturbi psichiatrici.

Le differenze biologiche tra maschi e femmine suggeriscono, infatti, l'esistenza di fattori sottostanti che contribuiscono a una vulnerabilità sesso-specifica. A livello cerebrale, differenze strutturali e funzionali tra maschi e femmine rivelano la presenza di un dimorfismo sessuale. Le influenze ormonali durante i periodi critici del neurosviluppo svolgono un ruolo fondamentale nella modulazione dei circuiti neuronali e dei sistemi neurotrasmettitoriali coinvolti nelle patologie neuropsichiatriche. Le fluttuazioni di estrogeni e progesterone nelle femmine, per esempio, sono associate ai disturbi dell'umore, mentre i livelli di testosterone nei maschi modulano i circuiti cerebrali legati all'impulsività e all'aggressività.

Oggi è quindi necessario superare il modello tradizionale *one-size-fits-all* per un approccio più personalizzato e centrato sul singolo paziente anche per il trattamento delle patologie psichiatriche.

Obiettivi del Simposio

Il simposio ha l'obiettivo di diffondere e discutere i principali risultati riguardanti le differenze di sesso nel contesto dei disturbi neuropsichiatrici. Miriam Melis, dell'Università di Cagliari, aprirà il simposio con una presentazione dal titolo "Sex-specific susceptible phenotypes induced by prenatal dysregulation of

endocannabinoid system", nella quale illustrerà l'importanza del sistema endocannabinoide nell'influencare in maniera sesso-specifica la traiettoria del sistema dopaminergico e nel ritardare il processo di maturazione del circuito mesolimbico. I dati che verranno presentati sottolineano la fondamentale importanza

del comprendere l'interazione, durante il neurosviluppo, dei segnali endocannabinoide e dopaminergico alla luce delle differenze di sesso, portando così all'identificazione di potenziali marcatori di vulnerabilità e, successivamente, a interventi terapeutici mirati.

L'importanza delle differenze di sesso nei meccanismi di suscettibilità e resilienza allo Stress Post Traumatico sarà trattata da Gian Marco Leggio dell'Università di Catania, nella presentazione dal titolo "Functional and structural adaptations underlying sex-biased susceptibility and resilience to traumatic stress". I dati presentati evidenzieranno l'importanza di considerare maschi e femmine in maniera differente per quanto riguarda la fisiopatologia e, quindi, il trattamento del PTSD. Approfondire i meccanismi che stanno alla base delle differenze di sesso potrebbe in definitiva portare ad individuare *target* specifici in maschi e femmine. L'approccio utilizzato mira a migliorare l'efficacia del trattamento, tramite l'utilizzo di farmaci e dosaggi diversi tra i due sessi, e la conseguente riduzione del rischio di effetti avversi.

Lo studio dei circuiti cerebrali relativi al comportamento sociale in maschi e femmine sarà l'argomento della presentazione di Diego Scheggia, dell'Università di Milano. La presentazione, dal titolo "Brain circuits for sexually-dimorphic social behaviors" illustrerà come i roditori possono apprendere ad eseguire azioni prosociali tramite l'osservazione dei propri conspecifici, in un paradigma di *social decision-making*. La variabilità interindividuale nella scelta tra decisioni prosociali o egoiste dipende non solo da fattori sociali e non sociali, tra cui il sesso, la familiarità e l'età, ma anche da fattori neurobiologici. I dati presentati indicano che differenze individuali nel funzionamento dei neuroni della regione CA1 dell'ippocampo hanno un ruolo fondamentale nell'apprendimento delle informazioni trasmesse socialmente che possono guidare comportamenti prosociali.

Infine, Francesco Papaleo, dall'Istituto Italiano di Tecnologia di Genova, mostrerà gli ultimi dati ottenuti dal suo gruppo di ricerca nella presentazione dal titolo "Sex differences in circuits

of emotion recognition" nella quale illustrerà la complessità dei processi socio-cognitivi alla luce delle differenze di sesso. Francesco Papaleo, nel corso della sua presentazione, mostrerà come le differenze interindividuali di tipo socio-cognitivo dipendano dal ciclo ovarico nelle femmine e dallo status di gerarchia sociale nei maschi. I dati presentati forniranno nuove informazioni sui meccanismi neuronali che controllano le *performance* socio-cognitive di ciascun individuo in base al proprio stato emozionale. Questi risultati rappresentano un'importante opportunità per comprendere i meccanismi poco esplorati della *social cognition*, supportando l'utilizzo di approcci sperimentali più traslazionali tra roditori ed esseri umani. ■

ENDOCANNABINOID SIGNALLING PERTURBATIONS AND NEURODEVELOPMENTAL TRAJECTORIES

Simposio a cura del GdL Dipendenze Patologiche

Introduzione — Dati allarmanti mostrano che i cannabinoidi sono le sostanze più abusate dalle donne in gravidanza, con una prevalenza che varia dal 10 al 16% negli Stati Uniti e in Europa. Il recente allentamento delle politiche sulla *marijuana* in diversi paesi si tradurrà verosimilmente in un uso materno ancora maggiore. Il principale ingrediente psicoattivo della *cannabis* è il Δ -9-tetraidrocannabinolo (THC), che può attraversare la barriera placentare esponendo il feto alla sua attività farmacologica. Il recettore dei cannabinoidi di tipo 1 (CB1R) è espresso precocemente durante lo sviluppo prenatale del cervello e, insieme agli endocannabinoidi anandamide e 2-AG, riveste, fin dall'epoca prenatale, un ruolo fondamentale nell'ontogenesi del sistema nervoso centrale. Nel cervello in via di sviluppo, invero, il sistema endocannabinoidergico modula la sinaptogenesi, la proliferazione, il differenziamento e la migrazione delle cellule neuronali, contribuendo alla definizione delle potenzialità del cervello maturo. Il cervello del feto è per sua natura particolarmente sensibile all'uso di sostanze da parte della madre: è stato infatti dimostrato che l'esposizione prenatale al THC (pTHC) possa alterare le traiettorie del neurosviluppo e causare alterazioni che investono la dimensione emozionale affettiva e cognitiva della progenie. Sebbene esistano studi recenti che dimostrano le conseguenze a lungo termine dell'esposizione pre e perinatale ai cannabinoidi, c'è, tuttavia, una relativa scarsità di letteratura rispetto ai meccanismi che mediano i deficit cognitivi che derivano dall'esposizione al pTHC.

Obiettivi del Simposio

Tra i diversi circuiti compromessi da alterazioni del segnale endocannabinoidergico durante lo sviluppo fetale, le modificazioni di quelli che sfruttano la dopamina come neurotrasmettitore possono avere un impatto nello sviluppo di traiettorie psicopatologiche in cui i deficit dell'elaborazione sensoriale rappresentano un tratto comune. La dopamina, inoltre, attraverso la modulazione di circuiti corticali e sottocorticali, influenza aspetti chiave del comportamento motivato, come le interazioni sociali e le azioni dirette ad un obiettivo specifico. Durante la sua relazione, Miriam Melis illustrerà come, interferendo con il segnale endocannabinoidergico durante la vita prenatale, nell'animale sperimentale, aumenti il rischio la suscettibilità a manifestare comportamenti anomali durante la preadolescenza. Queste

difficoltà comportamentali sono associate a un impatto sullo sviluppo del sistema dopaminergico e sulla maturazione della corteccia prefrontale (PFC).

Oltre alla PFC, aree limbiche come l'ippocampo sono fortemente coinvolte nella definizione dei processi cognitivi e in virtù dell'alta concentrazione di recettori CB1, sono *target* dell'attività farmacologica dei cannabinoidi. Il gruppo di ricerca di Carla Cannizzaro ha recentemente messo in evidenza specifici deficit della memoria spaziale in ratti maschi adolescenti esposti *in-utero* ad una somministrazione moderata di cannabinoidi, che si accompagnano ad un sovertimento di *markers* di neuroplasticità nella sinapsi eccitatoria dopo l'esecuzione dei *task* cognitivi. Al simposio SIF verranno presentati dati originali che per la prima volta mostreranno come l'esposizione

in utero al THC induca conseguenze metaboliche che riguardano un deficit nella respirazione mitocondriale e nel consumo di ossigeno nell'ippocampo. Inoltre, alla luce delle differenze biologiche tra maschi e femmine nello sviluppo dei fenotipi neuropsichiatrici, verranno discusse le evidenze sugli effetti sessualmente dimorfici indotti *in-utero* dalla THC al fine di meglio decifrare i sistemi neurobiologici vulnerabili (e resilienti) nei due sessi e guidare in ultima analisi possibili trattamenti mirati. A rimarcare il ruolo giocato dagli endocannabinoidi nella definizione dei processi di affinamento e maturazione cerebrale, diverse evidenze sperimentali supportano un ruolo del sistema endocannabinoide nel disturbo dello spettro autistico (Autism Spectrum Disorder, ASD). Per prima cosa, è stata osservata un'attività endocannabinoide

alterata in pazienti affetti da autismo e in modelli animali di ASD; poi è stato osservato come gli endocannabinoidi modulino i tratti comportamentali chiave che sono tipicamente colpiti nell'ASD; infine, ci sono diversi rapporti aneddotici sull'efficacia dei composti cannabinoidi in pazienti affetti da ASD. Alla luce di queste evidenze, il gruppo di ricerca di Viviana Trezza ha utilizzato approcci farmacologici, immunoistochimici e biochimici per verificare l'ipotesi che le alterazioni del tono endocannabinoide contribuiscano al fenotipo alterato osservato in modelli preclinici genetici e ambientali di ASD, con particolare attenzione alle caratteristiche comportamentali che mimano i sintomi cardine della patologia. A tal fine, sono stati utilizzati due modelli validati di ratto che mostrano la maggior parte delle caratteristiche comportamentali tipiche dell'autismo: il modello ambientale di ratto basato sull'esposizione prenatale all'antiepilettico acido valproico (VPA) e il modello genetico basato sulla delezione della proteina FMR1 nei ratti. Nel corso dello sviluppo, i ratti esposti al VPA e i ratti FMR1 KO hanno mostrato profonde alterazioni comportamentali, confermando la validità del modello animale di ASD ed inoltre hanno mostrato cambiamenti specifici nell'attività endocannabinoide nel corso dello sviluppo. La manipolazione farmacologica della neurotrasmissione endocannabinoide ha mitigato i deficit comportamentali esibiti da questi modelli animali di ASD. Le analisi di *docking* hanno ulteriormente confermato il meccanismo d'azione dei composti cannabinoidi nell'ASD. Nel complesso, i risultati del lavoro del gruppo di ricerca di Viviana Trezza suggeriscono che anomalie nell'attività endocannabinoide cerebrale possano essere alla base dell'impatto deleterio che fattori di rischio ambientali e genetici hanno nel corso dello sviluppo, e che il sistema endocannabinoide possa rappresentare un interessante

bersaglio terapeutico nell'ASD. La cannabis è ora più ampiamente utilizzata dalle sigarette tra gli adolescenti, dato preoccupante visto che l'esposizione ai cannabinoidi esogeni è collegata a cambiamenti nella neurobiologia e nel comportamento degli adulti rilevanti per le malattie psichiatriche, in particolare disturbi psicotici. Invero, come il periodo perinatale così anche l'adolescenza rappresenta un'epoca di grandi cambiamenti per il cervello: sono infatti in atto processi di rimodellamento volti al miglioramento e affinamento del funzionamento dei circuiti cerebrali per arrivare ad un cervello adulto altamente performante. Da un punto di vista morfologico/strutturale, sono due i processi più importanti: il cosiddetto *pruning* sinaptico, che consiste nell'eliminazione delle sinapsi in eccesso, non attive, e l'incremento di sostanza bianca, mediato dal fenomeno della mielinizzazione. Diversi lavori presenti in letteratura indicano come il THC alteri il processo del *pruning* sinaptico, mentre non sono ancora presenti osservazioni sul suo effetto nella mielinizzazione del cervello adolescente. Al simposio del 42° Congresso SIF, Tiziana Rubino presenterà i risultati di studi volti a identificare il ruolo fisiologico del sistema degli endocannabinoidi nel processo di mielinizzazione osservato nella corteccia prefrontale di animali adolescenti e l'impatto dell'utilizzo del THC in adolescenza su tale processo. Inoltre, poiché studi condotti nell'uomo hanno dimostrato che un'attenuazione della mielinizzazione nel tratto frontostriatale è associato ad un aumento dell'impulsività, verrà discussa l'ipotesi di un legame tra ridotta mielinizzazione indotta dalla manipolazione del sistema degli endocannabinoidi e impulsività nel modello animale nonché i *pathway* intracellulari coinvolti in tali effetti. Identificare le relazioni tra un disordine nella trasmissione endocannabinoide, come quella prodotta dall'esposizione

cronica al THC, e alterazioni del neurosviluppo rappresenta una importante tappa nel percorso di conoscenza che potrà portare a nuovi *target* e strategie terapeutiche innovative e originali. ■

IMPACT OF DRUG ABUSE ON NEURODEVELOPMENT TRAJECTORY: FROM MOLECULAR MECHANISMS TO BEHAVIOR

Simposio a cura del GdL Dipendenze Patologiche

Introduzione — Il cervello in fase di sviluppo è particolarmente suscettibile agli effetti delle sostanze d'abuso. In particolare, durante l'adolescenza il cervello subisce notevoli cambiamenti strutturali e funzionali, inclusi cambiamenti nella plasticità sinaptica, nella mielinizzazione e nella maturazione delle regioni cerebrali coinvolte nel controllo delle emozioni, dell'autocontrollo e delle funzioni cognitive superiori. L'esposizione alle sostanze d'abuso può interferire con il normale neurosviluppo, alterando i processi di neurotrasmissione e di conseguenza influenzando negativamente il neurofunzionamento e la capacità di adattamento del cervello [1]. Le conseguenze dell'abuso di sostanze durante lo sviluppo cerebrale sono spesso irreversibili e, come ampiamente dimostrato, l'uso precoce di droghe aumenta significativamente il rischio di sviluppare disturbi neuropsichiatrici in età adulta [2, 3], tra i quali la dipendenza da sostanze [4]. È quindi fondamentale approfondire i meccanismi alla base degli effetti delle sostanze d'abuso durante il neurosviluppo, al fine di disegnare strategie preventive efficaci e interventi terapeutici mirati.

Obiettivi del Simposio

Lo scopo di questo simposio sarà quello di analizzare le alterazioni molecolari, funzionali e comportamentali indotte dall'esposizione a sostanze d'abuso come l'alcol, i cannabinoidi sintetici e l'ossicodone durante il neurosviluppo, utilizzando modelli preclinici ad alto valore traslazionale, con l'obiettivo di aprire nuove strade per lo sviluppo di terapie innovative.

Nella prima presentazione del simposio saranno analizzati i substrati molecolari e le alterazioni funzionali dei neuroni eccitatori indotti dall'esposizione prenatale all'etanolo (PAE) in un modello murino, associandoli al comportamento. Lo studio descriverà uno dei meccanismi patogenetici di disregolazione dei recettori per il glutammato AMPA indotti dalla PAE in ippocampo e corteccia, attraverso tecniche di elettrofisiologia, biologia molecolare e tecniche di *imaging*

a campo largo associate ad analisi comportamentale. I risultati di questo studio rappresentano un potenziale contributo alla comprensione dei meccanismi molecolari e funzionali delle alterazioni comportamentali legate all'apprendimento, alla memoria e alla socialità durante l'adolescenza e potrebbero fornire nuove informazioni utili per lo sviluppo di terapie per i disturbi neuro-comportamentali causati dalla PAE.

Nella seconda presentazione del simposio verranno esaminate le basi neurobiologiche della dipendenza all'alcol utilizzando un modello animale rilevante per l'uomo. Questo modello comprende le caratteristiche cliniche della dipendenza delineate nel DSM-5, replica la traiettoria della patologia e cattura la vulnerabilità interindividuale in una popolazione di ratti *outbred* che rispecchia l'eterogeneità della popolazione. La presentazione mette in evidenza

la disfunzione della trasmissione glutammatergica mediata dai recettori mGlu2/3 in un piccolo gruppo di animali (15%) che sviluppano i sintomi di dipendenza da alcol portando all'alterazione della trasmissione sinaptica eccitatoria nella corteccia prefrontale. L'obiettivo dello studio è enfatizzare le basi neurofisiologiche della vulnerabilità alla dipendenza da alcol nelle strutture cerebrali correlate alle funzioni esecutive, che potrebbero spiegare la perdita di controllo sul desiderio compulsivo nell'assunzione di alcol nelle persone affette da dipendenza.

La terza presentazione del simposio esaminerà le conseguenze indotte dall'assunzione per via inalatoria del cannabinoide sintetico (SC) JWH-018 durante l'adolescenza. In particolare, verranno descritte le alterazioni comportamentali e cognitive, nonché le disregolazioni della trasmissione dopaminergica mesocorticolimbica

che determinano un'alterazione del processo di attribuzione della salienza agli stimoli gratificanti che sta alla base di diversi disturbi psichiatrici. L'utilizzo di un modello murino di esposizione all'SC, tramite sigaretta elettronica, fornisce un alto valore traslazionale ai dati preclinici ottenuti da questo studio.

La quarta presentazione del simposio esaminerà l'influenza della gerarchia sociale sul consumo di oppiacei e sul comportamento sociale, utilizzando un modello operante che mette a confronto la scelta tra i due tipi di ricompense. Verranno analizzati in dettaglio l'impatto della gerarchia sociale, del sesso e dell'isolamento sociale sulla preferenza tra l'assunzione della droga e l'interazione sociale. I risultati evidenziano il ruolo predominante del sesso rispetto alla gerarchia sociale nella propensione

verso l'ossicodone, aprendo nuove prospettive per trattamenti personalizzati nella gestione della dipendenza da oppioidi. ■

Bibliografia

- 1 Thorpe *et al.*, 2023.
- 2 Schuckit MA, Hesselbrock V. *Alcohol dependence and anxiety disorders: what is the relationship?* Am J Psychiatry. 1994 Dec;151(12):1723-34. doi: 10.1176/ajp.151.12.1723.
- 3 Hellemans KG, Sliwowska JH, Verma P, Weinberg J. *Prenatal alcohol exposure: fetal programming and later life vulnerability to stress, depression and anxiety disorders.* Neurosci Biobehav Rev. 2010 May;34(6):791-807. doi: 10.1016/j.neubiorev.2009.06.004.
- 4 Chudley AE. *Diagnosis of fetal alcohol spectrum disorder: current practices and future considerations.* Biochem Cell Biol. 2018 Apr;96(2):231-236. doi: 10.1139/bcb-2017-0106.



Foto di Robina Weermeijer, Unsplash

EXPLORING NOVEL PHARMACOLOGICAL APPROACHES FOR CHRONIC PAIN MANAGEMENT

Simposio a cura del GdL Farmacologia del Dolore

Introduzione — Il dolore cronico costituisce una rilevante problematica socio-sanitaria e rappresenta una delle condizioni patologiche più diffuse. Sebbene i tassi di mortalità correlati alla condizione di dolore cronico siano inferiori rispetto a quelli riportati per altre patologie (es. infarto cardiaco e ictus, malattie infettive, cancro), è ben noto come il dolore cronico costituisca una delle principali fonti di sofferenza e disabilità umana.

Il dolore cronico si configura come un'esperienza sensoriale ed emotiva complessa che può variare ampiamente da persona a persona e che può essere fortemente influenzata dallo stato psicologico ed emotivo dell'individuo.

Sebbene siano stati proposte numerose strategie farmacologiche per garantire una efficace gestione del dolore cronico, ad oggi i trattamenti utilizzati risultano ancora poco soddisfacenti. Infatti, la complessa natura di questa condizione patologica e l'insorgenza di effetti collaterali associati all'uso cronico dei farmaci oggi impiegati (analgesici oppiacei, FANS, gabapentinoidi, paracetamolo) ne hanno spesso limitato il loro utilizzo. Pertanto, appare evidente come una più ampia comprensione dei meccanismi sottostanti lo sviluppo e il mantenimento del dolore cronico possa risultare utile per favorire l'identificazione di nuovi *target* farmacologici e per sviluppare approcci innovativi e più sicuri in grado di garantire un adeguato e soddisfacente trattamento del dolore.

Obiettivi del Simposio

Il simposio organizzato cercherà di mettere in luce alcune delle strategie farmacologiche che il mondo della ricerca propone per il trattamento del dolore cronico e cercherà di evidenziare come l'utilizzo e lo sviluppo di molecole specifiche per alcuni dei bersagli molecolari proposti possa fornire utili vantaggi per il superamento dei limiti delle attuali terapie.

Il simposio tratterà *in primis* l'importante problematica correlata al dolore neuropatico indotto da chemioterapici. Questa neuropatia, generata da un danno al sistema nervoso centrale e/o periferico, rappresenta un effetto collaterale di alcuni farmaci antitumorali che, oltre ad avere un impatto drastico sulla qualità della vita del paziente, causa spesso la sospensione e la interruzione del trattamento farmacologico. Nel tentativo, quindi, di porre l'attenzione

su nuovi bersagli farmacologici, nel corso del simposio verranno esaminate le potenzialità del recettore I1 dell'imidazolina (I1-R) come possibile *target* terapeutico nella gestione del dolore neuropatico indotto dal chemioterapico paclitaxel nel topo. In particolare, verranno presentate le proprietà antineuropatiche e anti-allodinicche di un nuovo agonista selettivo I₁-R, la carbofenilina, a seguito di trattamento acuto e cronico. Visto l'importante contributo della componente affettivo-emotiva nell'esperienza dolorosa, nel corso del simposio verranno esaminate le potenzialità del cannabidiolo (CBD) di migliorare alcune alterazioni cognitive e affettive associate alla condizione di dolore perdurante. Sebbene recenti studi abbiano evidenziato la capacità del CBD di ridurre l'allodinia meccanica e il comportamento

ansioso, principalmente attraverso l'attivazione dei recettori TRPV1 e serotoninergici (5-HT_{1A}), lo studio che verrà proposto nel corso del simposio cercherà di investigare il potenziale ruolo dei sistemi dinorfnergico e BDNFergico, noti per essere coinvolti nella modulazione del dolore cronico, negli effetti indotti da cannabidiolo. Mediante studi comportamentali e molecolari si cercherà di chiarire come la somministrazione ripetuta di CBD, modulando i sistemi endogeni indagati, possa contribuire a migliorare il trattamento del dolore neuropatico. Inoltre, poiché negli ultimi anni è stata suggerita una forte relazione tra il microbiota intestinale, i suoi metaboliti derivati, in particolare il butirrato, e il dolore cronico, un altro obiettivo del presente simposio sarà quello di evidenziare come la perturbazione del microbiota possa influenzare il dolore

e le condizioni di comorbidità ad esso associate. Inoltre, si esaminerà come il trattamento per via orale con butirrato possa avere effetti positivi nella riduzione del dolore cronico.

Infine, considerato l'interesse che negli ultimi anni hanno ricevuto le molecole dotate di agonismo *biased* nel trattamento del dolore cronico, questo simposio prenderà in esame anche questo importante aspetto. Nello specifico, verranno presentati dati relativi all'attività farmacologica *in vitro* e *in vivo*, di agonisti sia peptidici che non peptidici per il recettore oppioide μ . Negli studi *in vitro*, gli agonisti indagati hanno dimostrato caratteristiche di agonismo "biased" verso la proteina G, e l'entità del "bias" sembra essere fortemente influenzata dai livelli di espressione di chinasi denominate *G protein-coupled receptor kinase* (GRK). Inoltre, l'attivazione del recettore μ è

risultata di efficacia minore rispetto ad agonisti pieni di riferimento.

Negli esperimenti *in vivo*, la valutazione relativa dell'effetto analgesico in rapporto con l'effetto collaterale di tipo costipante ha messo in evidenza un miglioramento dell'indice terapeutico. Inoltre, è stata osservata una riduzione dell'entità di sviluppo del fenomeno di tolleranza all'effetto analgesico, suggerendo quindi i potenziali benefici dell'uso cronico di questi nuovi composti.

In conclusione, le tematiche trattate nel corso di questo simposio saranno utili a migliorare/perfezionare il trattamento farmacologico del dolore cronico, con approcci innovativi che mirano a ridurre i principali effetti collaterali e all'ottimizzazione della gestione della terapia per il dolore cronico. ■



Foto di Anni Sprat, Unsplash

GLYMPHATIC SYSTEM AS A BRIDGE CONNECTING PAIN, SLEEP DISRUPTION AND BRAIN (DYS)FUNCTION

Simposio a cura del GdL Farmacologia del Dolore

Introduzione — Il sistema glinfatico è un sistema di fluidi mediato dalle cellule gliali che contribuisce alla rimozione dei soluti e dei rifiuti interstiziali nel parenchima del sistema nervoso centrale, in modo simile al sistema linfatico. All'interno della via glinfatica, il liquido cerebrospinale entra nel cervello attraverso gli spazi periarteriosi e passa nell'interstizio tramite l'aquaporina-4 (AQP4), canale idrico presente sugli astrociti perivascolari che guida il drenaggio perivenoso del liquido interstiziale e del suo soluto. Il sistema glinfatico rappresenta quindi un sistema di "pulizia" adibito all'eliminazione di proteine e metaboliti solubili dal sistema nervoso centrale, la cui attività mostra un ritmo circadiano che è massimo durante il sonno non REM (*Rapid Eye Movement*). Tale ritmicità è supportata dall'AQP4, poichè mostra una maggiore polarizzazione ai piedi terminali degli astrociti durante la fase di riposo centrale.

A causa del legame inestricabile con il sonno, la funzione del sistema glinfatico è stata riscontrata alterata nei disturbi del sonno, che a loro volta sono riconosciuti come un fattore di rischio significativo per lo sviluppo del dolore, principalmente dolore cronico [1]. In questa prospettiva, la funzione del sistema glinfatico potrebbe essere associata, quando compromessa, allo sviluppo di dolore e ad alterazioni della neuroplasticità. Una vasta gamma di disturbi neurologici e diverse malattie neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson, sono state collegate a una soppressione della funzione del sistema glinfatico [2]. Questo sarà uno degli aspetti affrontati all'interno del simposio, assieme all'aspetto che un ruolo fondamentale in questo quadro è giocato dai processi infiammatori che influiscono sulla funzione del sistema glinfatico. È stato infatti stabilito un ruolo centrale dell'infiammazione nella patogenesi della demenza, coinvolgendo anche la comunicazione reciproca tra il sistema enterico e il sistema nervoso centrale in condizioni patologiche. In particolare, nonostante l'esistenza di prove crescenti che supportano una relazione bidirezionale tra disturbi neurologici e condizioni infiammatorie intestinali, una connessione diretta tra queste ultime e un'alterazione del sistema glinfatico non è stata ancora esplorata. Da notare, infatti, è come una condizione infiammatoria intestinale, caratterizzata da sintomi addominali (dolore viscerale, diarrea, stipsi, meteorismo, pienezza, nausea e vomito) legati a patologie organiche o a disturbi funzionali gastrointestinali, impatti anche profondamente sul sistema nervoso centrale di vie di trasduzione del segnale lungo l'asse intestino-cervello. Un danno a livello intestinale può ripercuotersi a livello del sistema nervoso centrale provocando alterazioni nel ritmo circadiano e nel ciclo sonno/veglia, che a loro volta determinano un peggioramento dell'infiammazione intestinale. Da notare che il sistema glinfatico è strettamente regolato dal *clockwork* circadiano, ma, ad oggi, l'impatto dell'alterazione circadiana su tale sistema è ancora molto poco studiata.

Obiettivi del Simposio

In base alla stretta relazione tra intestino e cervello, i temi affrontati in questo simposio evidenziano come i sintomi di una condizione infiammatoria intestinale influenzano le risposte emotive e comportamentali, nonché l'incidenza e la progressione di diversi disturbi neurologici.

Esplorare queste condizioni e, in particolare, la connessione tra dolore viscerale, addominale, disturbi del sonno, sistema glinfatico e le sue ripercussioni sulla funzionalità cerebrale è un campo di ricerca innovativo per identificare meccanismi fisiopatologici e nuovi bersagli

farmacologici. L'importanza risiede nel fatto che una riduzione e/o un'interruzione della funzionalità del sistema glinfatico potrebbe innescare eventi neurovascolari e neuroinfiammatori reattivi non necessariamente reversibili, tali da compromettere le performance e la

salute a lungo termine. In *setting* sperimentali su modelli animali sono stati provati trattamenti (come acidi grassi polinsaturi) in grado di correggere le disfunzioni indotte del sistema glinfatico e migliorare le funzioni cognitive deteriorate dalla procedura sperimentale. Un potenziale sviluppo potrebbe prevedere l'utilizzo iniziale di modelli animali nei quali studiare le alterazioni molecolari e funzionali del sistema glinfatico analizzando (i) componenti primari a livello astrocitario che coordinano funzionalmente il trasporto del liquido cerebrospinale e del liquido interstiziale; (ii) la dinamica della funzionalità del sistema glinfatico a livello cerebrale mediante tecnica di *imaging in vivo* (risonanza magnetica); (iii) il profilo trascrittomico al fine di identificare potenziali biomarcatori; (iv) l'effetto di trattamenti in grado di correggere le alterazioni del sistema glinfatico indotte dalla procedura. Contestualmente si potrebbero esplorare nel modello animale biomarcatori periferici della funzione glinfatica. Questi aspetti potranno inoltre essere anche studiati grazie alla messa a punto di modelli di *organ-on-a-chip* per modellare il sistema glinfatico. In questo ambito il sistema glinfatico costituisce uno dei nodi importanti e affrontabili in relazione al benessere del cervello. Le ricerche prospettate possono far luce sui primi eventi della genesi di alterazioni in senso neurodegenerativo a causa di un sistema glinfatico disfunzionale per via del concorrere di alterazioni del ritmo circadiano, del controllo neurovascolare e della dinamica dei fluidi interstiziali a livello encefalico. In questo contesto le ricadute scientifiche e tecnologiche consisteranno nella profilazione dei geni coinvolti nel fenomeno, nella individuazione, sulla base della mappatura genica effettuata, di biomarcatori liquorali e secondariamente ematici capaci di documentare la presenza/gravità del fenomeno, nello studio della reversibilità/soglia di irreversibilità

delle alterazioni osservate e, infine, nello studio di trattamenti (già presenti in letteratura e/o di nuova concezione) con sostanze capaci di correggere le alterazioni indotte del sistema glinfatico. ■

Bibliografia

- 1 Goldman N, Hablitz LM, Mori Y, Nedergaard M. The Glymphatic System and Pain. *Med Acupunct.* 2020;32(6):373-376. doi: 10.1089/acu.2020.1489.
- 2 Szlufik S, Kopeć K, Szleszkowski S, Kozirowski D. Glymphatic System Pathology and Neuroinflammation as Two Risk Factors of Neurodegeneration. *Cells.* 2024;13(3):286. doi: 10.3390/cells13030286.

PHARMACOLOGICAL BASES OF ANTICANCER DRUG THERAPIES

Simposio a cura del GdL Farmacologia Oncologica

Obiettivi del Simposio

Il trattamento farmacologico dei tumori si è notevolmente evoluto negli ultimi 25 anni, dagli agenti citotossici pionieristici a farmaci antitumorali più selettivi diretti nei confronti di proteine specifiche del tumore o del microambiente tumorale che inibiscono di conseguenza le vie di segnalazione responsabili della crescita e della progressione del tumore, della neoangiogenesi, dell'evasione dalla sorveglianza immunitaria e di altri meccanismi patogenetici rilevanti, che rappresentano gli *hallmarks* del cancro [1].

Farmaci bersaglio-specifici, ad esempio inibitori delle protein chinasi, anticorpi monoclonali (nudi, coniugati o bispecifici) e terapie cellulari adottive sono stati progettati, sviluppati e applicati in ambito clinico. Questi progressi sono stati guidati da scoperte scientifiche, tecnologie e metodologie che, si spera, porteranno in futuro ad un sempre maggiore successo nel trattamento dei tumori e ad una maggiore probabilità di cura. Negli Stati Uniti il tasso complessivo di mortalità per tumore è in costante calo a partire dagli anni '90 ad oggi e riduzioni simili sono state osservate in altri paesi occidentali durante lo stesso intervallo di tempo, determinate in gran parte dai miglioramenti nella prevenzione, nella diagnosi precoce e nei trattamenti. Su base mondiale, tuttavia, si prevede che nel 2050 l'incidenza globale del cancro aumenterà di circa il 77% rispetto ai 20 milioni di casi stimati nel 2022. Ciò sottolinea la necessità di continuare

a implementare campagne sanitarie e iniziative strategiche volte a ridurre i fattori di rischio modificabili e ad impiegare metodi di diagnosi precoce più efficaci. Anche le nuove terapie mediche possono rappresentare un volano per prolungare la sopravvivenza dei pazienti e ridurre la mortalità per cancro. Nel 2023 la *Food and Drug Administration* ha approvato 17 nuovi farmaci antitumorali e ha ampliato le indicazioni di molti altri precedentemente approvati. La scoperta del ruolo degli oncogeni nello sviluppo del cancro guidato da mutazioni genetiche somatiche ha indotto la comunità scientifica all'illusione di una relativa semplicità della patogenesi del cancro e, conseguentemente, delle modalità con le quali esso può essere curato. Invece, la funzione dei prodotti dei geni *driver* mutati del cancro dipende anche da molti fattori molecolari esterni, comprendenti ad esempio altre proteine e meccanismi di regolazione epigenetica all'interno di un complesso contesto cellulare e microambientale [2], che può rendere sfuggente la sua modulazione farmacologica. I farmaci antitumorali cosiddetti agnostici, il cui bersaglio sono le caratteristiche genetiche più che i tessuti di origine, hanno registrato alcuni importanti successi che potrebbero però rappresentare un'eccezione più che una regola. Nonostante gli indubbi successi nella scoperta di molti efficaci inibitori di chinasi oncogeniche, lo sviluppo di queste terapie antitumorali è stato molto più impegnativo di quanto si

pensasse inizialmente. Attualmente soltanto il 14% dei pazienti affetti da cancro viene trattato con farmaci di precisione e solo il 7% ne trae beneficio, sebbene la capacità di *targeting* clinico delle mutazioni oncogeniche (*actionability*) stia migliorando. I limiti sono rappresentati principalmente dal manifestarsi della resistenza tumorale intrinseca e acquisita nonché dal numero limitato di *driver* tumorali attualmente oggetto di trattamento farmacologico. Tra i numerosi geni (più di 1.100) considerati geni cancerogeni nel *database* OncoKB solo 45 sono stati ad oggi identificati come geni *druggable*, ovvero come bersagli di farmaci antitumorali. Tuttora il 95% dei farmaci antitumorali che raggiungono la sperimentazione clinica non vengono approvati a causa della loro tossicità o in seguito a dimostrazione di inefficacia o non superiorità rispetto alle terapie standard. Sono pertanto necessari approcci razionali per aumentare il successo clinico dei farmaci in via di sviluppo, nonché modalità per individuare farmaci in grado di agire nei confronti dei cosiddetti bersagli *undruggable*. Anche l'immunoterapia antitumorale rappresenta un trattamento farmacologico importante del cancro, essendo caratterizzata da una sostanziale efficacia in diversi tipi di tumore. Le strategie immunoterapiche innovative includono l'inibizione dei *checkpoint* immunitari da parte di anticorpi monoclonali che

interferiscono con i recettori di membrana delle cellule immunitarie o con i loro ligandi, anticorpi bispecifici e multispecifici e l'immunoterapia cellulare adottiva. Più recentemente, gli inibitori dei *checkpoint* immunitari sono stati utilizzati con successo clinico in associazione ad altre terapie antitumorali, compresi i vaccini antitumorali. Le cellule CAR T (recettore chimerico dell'antigene) ingegnerizzate hanno mostrato una grande efficacia nel trattamento di pazienti con tumori maligni delle cellule B o nel mieloma multiplo recidivante e/o refrattario, ma i tumori solidi rappresentano bersagli molto più difficili.

Tuttavia, nonostante i benefici clinici ottenuti con le attuali immunoterapie antitumorali, ancora un gran numero di pazienti affetti da cancro non rispondono o rispondono scarsamente. Vari meccanismi di resistenza primaria e secondaria determinano la mancanza di risposta all'immunoterapia. L'identificazione di ulteriori biomarcatori, che potrebbero essere potenzialmente predittivi della sensibilità o della resistenza, è necessaria per indirizzare con maggiore precisione le attuali immunoterapie, in aggiunta a quei biomarcatori che sono attualmente impiegati, con successo variabile, in clinica. Anche la ricerca di nuovi bersagli immunitari per lo sviluppo di altri composti specifici potrebbe fornire un sostanziale contributo al miglioramento dell'efficacia dell'immunoterapia. I vaccini terapeutici contro il cancro rappresentano una nuova promettente strategia farmacologica per potenziare la sorveglianza immunitaria contro specifici antigeni associati al tumore. I vaccini contro il cancro, siano essi mirati a neoantigeni condivisi, che derivano da mutazioni *driver* in diversi tipi di tumore, o a neoantigeni personalizzati, ovvero specifici dei pazienti, derivanti principalmente da mutazioni *passenger*, sono in fase di studio in diversi tipi di cancro e fasi di malattia. Fino ad oggi la maggior parte

degli studi sono stati di fase I, ma nel prossimo futuro sono attesi studi di fase II e di fase III. I vaccini, in molti casi, sono più efficaci se somministrati come trattamento sequenziale con inibitori dei *checkpoint* immunitari. È possibile prevedere che tali strategie verranno perseguite frequentemente nel prossimo futuro. Inoltre, vaccini derivati dal microbioma possono modulare il sistema immunitario, promuovendo così l'attivazione delle cellule T reattive al neoantigene. Vaccini peptidici antitumorali terapeutici composti da peptidi batterici immunogenici derivati dal microbioma, altamente omologhi a specifici antigeni associati al tumore (*onco-mimics*), sono stati ottenuti e selezionati dal microbioma intestinale umano ed hanno manifestato risultati preliminari positivi in termini di attività immunomodulante e antineoplastica. Terapie combinate sono state valutate per combattere la resistenza farmacologica tumorale fin dagli anni '50 utilizzando vari modelli tumorali sperimentali *in vitro* e *in vivo*. Le basi farmacologiche per migliorare la risposta terapeutica con terapie combinate comprendono approcci meccanicistici di interazione farmacologica così come approcci combinatori. Più recentemente, l'intelligenza artificiale e la tecnologia del *machine learning* sono state applicate per prevedere il sinergismo delle associazioni di farmaci antitumorali. I progressi nell'abilità predittiva della selezione dei farmaci e nelle modalità della validazione sperimentale delle tecnologie di intelligenza artificiale sembrano poter contribuire ad una predizione personalizzata della risposta ai farmaci e ad una terapia di combinazione razionale. Il successo delle terapie di combinazione è stato originariamente spiegato in relazione al controllo dei meccanismi diversi di resistenza tumorale ai singoli farmaci utilizzati in combinazione. Più recentemente, è stato suggerito che l'effetto combinato

possa essere spiegato attraverso il *targeting* di diverse sottopopolazioni all'interno di un tumore eterogeneo di grandi dimensioni. In questi scenari, i farmaci combinati hanno una certa attività come singolo agente e l'effetto della loro combinazione è superiore all'azione dei singoli agenti (sinergismo). Terapie combinate così potenti hanno il potenziale di sopprimere la resistenza intrinseca e l'insorgenza della resistenza acquisita ai farmaci. Una particolare strategia di terapia farmacologica di combinazione è rappresentata inoltre dall'impiego di farmaci coniugati a *carrier* per il loro trasporto selettivo a livello delle cellule tumorali con conseguente sinergismo clinicamente rilevante (ad esempio farmaci anticorpo-coniugati). La combinazione di terapie antitumorali tradizionali con le nuove è impegnativa e richiede l'uso di modelli tumorali che riassumono la biologia eterogenea dei tumori, una solida conoscenza della farmacologia e della biologia molecolare del cancro nonché una valutazione critica dell'entità del beneficio clinico per i pazienti ottenuto negli studi clinici. Sono in corso tentativi di scegliere terapie combinate guidate dal genoma per sperimentazioni di medicina di precisione basate su piattaforme specifiche, volte a superare la resistenza ai farmaci aumentandone l'efficacia e supportate da forti evidenze precliniche *in vivo*. I risultati che la farmacologia del cancro e altre scienze hanno ottenuto in un lungo cammino dagli anni pionieristici ad oggi sono stati notevoli. Tuttavia, permangono numerose sfide nell'era post-genomica: l'obiettivo di porre fine alle numerose e diverse malattie conosciute come cancro non è stato ancora conseguito. La consapevolezza che soltanto sforzi coordinati tra un numero crescente di discipline scientifiche, che vanno dalla chirurgia alla radioterapia, un tempo le uniche cure per i tumori, alla farmacologia, alla biologia molecolare, alla genetica,

all'immunologia, alla proteomica e alle altre scienze omiche, nonché all'epidemiologia, alla biostatistica e alla bioinformatica, potranno portare a vincere la guerra contro il cancro è fondamentale per ulteriori progressi del sistema sanitario in questo campo. ■

Bibliografia

- 1 Swanton C, Bernard E, Abbosh C, André F, Auwerx J, Balmain A, Bar-Sagi D, Bernards R, Bullman S, DeGregori J, Elliott C, Erez A, Evan G, Febbraio MA, Hidalgo A, Jamal-Hanjani M, Joyce JA, Kaiser M, Lamia K, Locasale JW, Loi S, Malanchi I, Merad M, Musgrave K, Patel KJ, Quezada S, Wargo JA, Weeraratna A, White E, Winkler F, Wood JN, Vousden KH, Hanahan D. Embracing cancer complexity: Hallmarks of systemic disease. *Cell*. 2024 Mar 28;187(7):1589-1616. doi: 10.1016/j.cell.2024.02.009.
- 2 Yuan S, Almagro J, Fuchs E. Beyond genetics: driving cancer with the tumour microenvironment behind the wheel. *Nat Rev Cancer*. 2024 Apr;24(4):274-286. doi: 10.1038/s41568-023-00660-9.



Foto di Samantha Sophia, Unsplash

ANTICANCER DRUG DISCOVERY AND PRECLINICAL DEVELOPMENT: METHODS AND TARGETS

Simposio a cura del GdL Farmacologia Oncologica

Obiettivi del Simposio

La scoperta e lo sviluppo preclinico dei farmaci antitumorali rappresentano oggi le fasi iniziali più rilevanti nel processo di identificazione, ricerca e sviluppo di nuovi farmaci sicuri ed efficaci per uso clinico in oncologia. I paradigmi della metodologia e del *targeting* in farmacologia antitumorale sono notevolmente cambiati nel tempo. Negli anni pionieristici i primi antitumorali sistemici efficaci furono sviluppati per serendipità, ad esempio osservando che l'esposizione al gas mostarda causava leucopenia negli esseri umani. Ciò ha portato al primo trattamento farmacologico di successo di un paziente affetto da linfoma di Hodgkin ed il perfezionamento chimico ha prodotto una serie di agenti alchilanti la cui attività citotossica è stata rilevata su linee cellulari tumorali a rapida proliferazione adattate a crescere in coltura o come *graft* nei roditori.

Successivamente, i primi farmaci antitumorali di precisione (gli antimetaboliti classici) sono stati sviluppati sulla base della conoscenza della struttura e della composizione del DNA ed agiscono per inibizione specifica degli enzimi che sintetizzano questo acido nucleico, iperespressi nel cancro. Sono stati poi oggetto di ricerca anche composti di origine naturale a potenziale attività antitumorale utilizzando metodologie di *screening* su modelli tumorali rappresentati inizialmente da due linee cellulari di leucemia murina e successivamente da 60 linee cellulari derivate da tumori umani.

Gli agenti citotossici hanno registrato tassi di fallimento negli studi clinici tra i più elevati rispetto a qualsiasi altra area terapeutica e raramente sono stati in grado di fornire benefici clinici alla maggior parte dei pazienti con metastasi. Sebbene sia evidente che gli agenti citotossici contribuiscano soltanto marginalmente alla sopravvivenza nella maggior parte dei pazienti oncologici, essi sono tuttavia biologicamente curativi in alcuni particolari tipi di tumore caratterizzati da rapida crescita. Un cambiamento di paradigma in questo processo si è verificato successivamente con l'emergere del concetto di oncogene e con la ricerca e lo sviluppo di farmaci mirati alle proteine oncogeniche a partire dagli anni 2000. Il cancro veniva quindi visto come una malattia esclusivamente causata da oncogeni i cui prodotti proteici erano suscettibili di *targeting* da parte di farmaci mirati. Il paradigma dei modelli tumorali sperimentali non si è tuttavia altrettanto rapidamente modificato. Linee cellulari tumorali umane a rapida crescita in coltura e in xenotrapianti sono state sostituite soltanto successivamente da tessuto tumorale umano innestato in topi immunodeprivati [1]. Sono stati ottenuti successi importanti ed è stata sviluppata una serie di farmaci ad azione mirata, inibitori efficaci di oncoproteine per alcuni sottogruppi di neoplasie ematologiche e solide. È però necessario un ulteriore miglioramento nei modelli tumorali preclinici da utilizzare nello *screening*

di questo tipo di farmaci antitumorali [1]. Il 95% dei farmaci antitumorali testati negli studi clinici non giunge infatti ancora all'approvazione clinica, nonostante i promettenti dati preclinici. Uno dei motivi principali di questa evenienza è l'inadeguatezza dei modelli tumorali preclinici ancora oggi utilizzati. I modelli classici, rappresentati da linee cellulari tumorali *in vitro*, sono geneticamente omogenei e non catturano la complessità e la reciprocità tra un tumore e il suo microambiente. Anche le linee cellulari tumorali umane trapiantate nei topi geneticamente ingegnerizzati mancano della necessaria eterogeneità genetica. Gli xenotrapianti derivanti da tumori umani appaiono più realistici sotto diversi importanti aspetti e possono essere studiati come innesti nel topo o come modelli 3D *in vitro* [1].

Un tentativo di produrre modelli tumorali che catturino la cinetica di crescita nativa, la complessità, l'eterogeneità genetica e la reciprocità con il microambiente tumorale è stato effettuato ricorrendo alle *human tumor slice* o alla tecnologia *cancer on chip* [1]. Lo *zebrafish* rappresenta inoltre una recente aggiunta ai modelli animali portatori di tumori umani per la scoperta di nuovi farmaci antitumorali. Uno dei suoi principali vantaggi è la facilità di xenotrapianto, compreso quello derivante da paziente, poiché le larve sono prive di sistema immunitario adattativo, garantendo l'impossibilità di rigetto. Questo modello è sensibile ai farmaci e alle loro combinazioni nel *range* delle dosi fisiologicamente

rilevanti e l'attività farmacologica può essere studiata, con opportune metodologie, a livello della singola cellula, nella complessità dell'intero organismo o dei tessuti (ad esempio creazione di modelli ortotopici) per un intervallo di tempo prolungato. Queste caratteristiche consentono quindi uno *screening* ad alta resa di nuovi potenziali farmaci antitumorali. Una seconda sfida per la progettazione di farmaci in grado di inibire la funzione di proteine bersaglio prestabilite è riconoscere i limiti insiti nell'approccio mirato esclusivamente al *targeting* delle mutazioni oncogeniche, evidenziati dal manifestarsi della resistenza intrinseca ed acquisita. Il numero di oncoproteine che guidano la cancerogenesi del cancro attualmente trattabile con farmaci è inoltre ancora limitato e si cercano con grande determinazione modalità per scoprire agenti in grado di inibire selettivamente un maggior numero (*druggability*). Nonostante le molte difficoltà, la terapia mirata alle proteine oncogeniche "*undruggable*" diventerà una realtà nella maggioranza dei casi.

Le nuove tecnologie, comprese quelle chimiche e l'intelligenza artificiale, possono fornire risorse all'avanguardia per ampliare ed accelerare la scoperta di farmaci antitumorali. Tali tecnologie sono fondamentali per la comprensione delle strutture atomiche di proteine bersaglio vecchie e nuove, per prevedere le strutture delle proteine irrisolte e persino per risolvere le strutture di complessi proteici. Ciò potrebbe consentire una migliore comprensione dei processi cellulari bersaglio e l'identificazione più precisa di proteine bersaglio nonché la previsione del *binding* di ligandi potenziali precursori di farmaci. Questo approccio è reso più efficiente dall'impiego di sonde chimiche di piccole dimensioni e di alta qualità, in particolare inibitori covalenti e degradatori mirati di proteine, in grado di fornire informazioni più precise sulla funzione di proteine bersaglio in

malattie complesse come il cancro. Il ricorso alle tecnologie dell'intelligenza artificiale ha già ottenuto importanti risultati in vari processi propri della scoperta dei farmaci. I più recenti sviluppi di queste tecnologie, ad esempio il modello AlphaFold 3, promettono ulteriori miglioramenti nell'elaborazione e nella ricostruzione delle strutture di molecole cruciali in biomedicina, in termini di precisione e velocità di scoperta in campo biologico, fisiopatologico e farmacologico.

Nell'ambito dei bersagli farmacologici dei componenti cellulari del microambiente tumorale, il sistema vascolare tumorale rappresenta ancora un bersaglio rilevante delle strategie di inibizione farmacologica della crescita dei tumori. Un'ampia serie di inibitori dell'angiogenesi è oggi disponibile in clinica, i cui bersagli sono i recettori del fattore di crescita vascolare (VEGFR) e i loro ligandi (VEGF). Questi farmaci sono oggi oggetto di intensa ricerca soprattutto se associati ad altri farmaci antitumorali sulla base di specifici razionali. Tra le osservazioni più recenti, la capacità di questi farmaci di aumentare l'infiltrazione tissutale da parte delle cellule T CD8+, la loro attivazione mediante la normalizzazione della vascolarizzazione del tumore e la soppressione dei *checkpoint* immunitari inibitori. La terapia di combinazione tra inibitori dell'angiogenesi e inibitori del *checkpoint* immunitario PD-1 è stata approvata dalla FDA e dall'EMA in diversi tipi di tumore.

Tra le strategie farmacologiche emergenti per lo sviluppo di farmaci in area oncologica ed in altre aree terapeutiche è da menzionare quella della degradazione proteica mirata (TPD). Questa modalità sfrutta il naturale meccanismo di proteolisi intracellulare, ovvero il sistema ubiquitina-proteasoma, dirottandolo alla degradazione selettiva di proteine coinvolte nella patogenesi dei tumori. A tal fine, sono state ottenute

nuove classi di molecole, tra le quali le chimere mirate alla proteolisi (PROTAC), composti etero-bifunzionali formati da due unità funzionali, delle quali una lega la proteina *target* e l'altra ne guida l'interazione con il sistema ubiquitina-proteasoma mediante il legame con l'ubiquitina ligasi E3. I degradatori proteici presentano potenzialmente numerosi vantaggi rispetto ai più tradizionali composti chimici a basso peso molecolare inibitori di chinasi oncogeniche, i cui effetti farmacologici dipendono dall'occupazione di un sito legante che inibisce direttamente la funzione proteica e che, conseguentemente, non sono attivi nei confronti di proteine prive di questa caratteristica molecolare. Gli effetti farmacologici degli inibitori della degradazione proteica sono invece guidati dagli eventi, consentendo il raggiungimento di concentrazioni sub-stechiometriche per l'espletamento della loro attività, la loro capacità di agire in modo iterativo e di colpire copie multiple della proteina bersaglio, il loro potenziale di interagire con proteine non enzimatiche considerate *undruggable*, come ad esempio fattori di trascrizione, proteine *scaffold* e regolatorie. In funzione dei progressi nel disegno dei degradatori proteici e del rigoroso processo della loro valutazione nei modelli preclinici, questi composti sono stati introdotti nella sperimentazione clinica nel 2019 e ad oggi circa 20 sono oggetto di studi clinici di fase I, fase II o anche di fase III nel caso del vepdegestrant, un degradatore del recettore degli estrogeni.

Tra le tecnologie innovative di TPD è emersa anche quella delle cosiddette "colle" molecolari monovalenti rappresentate da piccole molecole che agiscono legandosi ad una ligasi E3 alterandone la preferenza di substrato nei confronti della proteina *target*, oppure legandosi alla proteina *target* e convertendola in un neo-substrato per la ligasi E3. Più recentemente sono state descritte

“colle” intermolecolari bivalenti che consentono lo sviluppo di degradatori proteici potenti e selettivi, attivi nei sistemi sperimentali a concentrazioni picomolari e pertanto potenzialmente più efficaci di qualsiasi PROTAC [2]. Il nuovo meccanismo di *molecular glueing* rende possibile il legame a due siti della proteina bersaglio anziché ad uno solo, inducendo un riarrangiamento dell'intera proteina che ne facilita la complementarità superficiale con le ligasi E3 per una più efficiente ubiquitinazione e degradazione. ■

Bibliografia

- 1 Scannell JW, Bosley J, Hickman JA, Dawson GR, Truebel H, Ferreira GS, Richards D, Treherne JM. Predictive validity in drug discovery: what it is, why it matters and how to improve it. *Nat Rev Drug Discov.* 2022 Dec;21(12):915-931. doi: 10.1038/s41573-022-00552-x.
- 2 Hsia O, Hinterndorfer M, Cowan AD, Iso K, Ishida T, Sundaramoorthy R, Nakasone MA, Imrichova H, Schätz C, Rukavina A, Husnjak K, Wegner M, Correa-Sáez A, Craigon C, Casement R, Maniaci C, Testa A, Kaulich M, Dikic I, Winter GE, Ciulli A. Targeted protein degradation via intramolecular bivalent glues. *Nature.* 2024 Mar;627(8002):204-211. doi: 10.1038/s41586-024-07089-6.



Foto di Christian Rucinski, Unsplash

PHARMACOLOGICAL BIOMARKER RESEARCH AND TOOLS FOR THE IMPROVEMENT OF PRECISION MEDICINE IN ONCOLOGY

Simposio a cura del GdL Farmacologia Oncologica

Obiettivi del Simposio

La ricerca di biomarcatori farmacologici predittivi e l'implementazione di altre metodologie per la valutazione dei risultati terapeutici hanno contribuito notevolmente al miglioramento dell'attuale medicina di precisione in oncologia. Tra le tecnologie impiegate per la determinazione di biomarcatori di riconosciuto valore nel processo decisionale clinico nell'ambito della medicina personalizzata, la farmacogenetica costituzionale, il monitoraggio terapeutico dei farmaci (TDM) e l'analisi delle mutazioni somatiche attivanti predittive di sensibilità o di resistenza ai farmaci nei liquidi biologici (biopsia liquida) sono oggi sempre più applicate nella pratica clinica oncologica. È stato dimostrato che queste tecnologie possono contribuire alla predizione dell'esito del trattamento farmacologico, sia in termini di tossicità che di attività/efficacia, e di conseguenza alla scelta iniziale dei trattamenti, alle modifiche del dosaggio dei farmaci e alla scelta delle successive linee di trattamento farmacologico al momento dell'insorgenza della farmacoresistenza tumorale acquisita su base mutazionale genetica.

Altre scienze molecolari omiche all'avanguardia sono già allo studio per ottenere una caratterizzazione più approfondita delle cellule tumorali, delle altre componenti cellulari del microambiente tumorale, delle proteine, dei metaboliti e degli acidi nucleici diversi dal DNA. Le

tecnologie avanzate di *imaging* digitale e le conoscenze farmacologiche, potenziate dall'intelligenza artificiale, contribuiranno inoltre a una visione più completa delle interazioni tra cellule e strutture diverse a livello tissutale e a livello subcellulare. Ciò porterà all'identificazione, validazione, e implementazione di un numero ancora maggiore di biomarcatori molecolari, non solo per la valutazione della predisposizione ai tumori, per un migliore *screening*, per una diagnosi più precoce e per una prognosi e una tassonomia più precise di tutte le neoplasie, ma anche per la predizione della risposta ai farmaci. Diversi tipi di biomarcatori predittivi, derivati da alcune delle scienze omiche sopra menzionate, sono già disponibili per il trattamento del cancro.

In attesa della validazione di potenziali nuovi biomarcatori, l'implementazione della farmacogenetica germinale nella pratica clinica della terapia antitumorale rimane uno degli obiettivi principali per il miglioramento della medicina di precisione oncologica [1]. Per alcuni farmaci antitumorali (fluropirimidine, irinotecan e tiopurine) sono state formulate raccomandazioni precise da parte delle agenzie regolatorie dei farmaci e delle società scientifiche per l'individuazione pre-terapia di specifiche varianti genetiche deleterie, riconosciute responsabili dell'aumento della tossicità di tali farmaci. Queste varianti sono state identificate

principalmente mediante l'approccio del cosiddetto gene candidato sulla base della conoscenza del ruolo dello specifico gene nell'ADME dei farmaci in questione. In altri casi tali varianti sono state identificate mediante un approccio GWAS di tipo esplorativo e quindi validate con successo in coorti di replicazione. Un altro approccio importante per l'identificazione di varianti deleterie rare è rappresentato dal sequenziamento di un singolo gene coinvolto nella farmacodinamica o farmacocinetica degli agenti antitumorali, compresi gli immunoterapici. Ulteriori test fenotipici potrebbero essere utili nel determinare carenze/iperattività enzimatiche non rilevabili mediante analisi genetica, come nel caso degli enzimi del metabolismo delle pirimidine coinvolti nell'attivazione/detossificazione degli antimetaboliti fluoropirimidinici. Il livello pretrattamento delle concentrazioni sieriche di uracile è un fattore predittivo della tossicità grave associata alle fluoropirimidine. L'EMA ha raccomandato nel 2020 l'effettuazione di questo test fenotipico ematico in alternativa a quello genotipico per la diagnosi di deficit dell'enzima diidropirimidina deidrogenasi (DPD). Più recentemente i risultati di uno studio in un'ampia casistica di pazienti non sono stati in grado di confermare la correlazione tra i livelli plasmatici pretrattamento di uracile, l'attività della DPD nelle cellule mononucleate del sangue periferico e

la tossicità grave da fluoropirimidine. Questi risultati, dovuti a differenze nella determinazione di questo analita nel plasma presso i vari centri partecipanti allo studio, verosimilmente per condizioni preanalitiche, suggeriscono che un'ulteriore validazione clinica sia necessaria prima dell'impiego di questa metodologia nella pratica clinica.

L'esempio dell'implementazione della farmacogenetica preventiva del 5-fluorouracile è molto importante considerando che 2 milioni circa di pazienti ricevono ogni anno questo farmaco a basso indice terapeutico che rappresenta ancora il pilastro delle terapie antitumorali in numerosi tumori solidi epiteliali. Tale rilevanza clinica, sostanziata anche da analisi di farmacoeconomia (costo-beneficio), non è però ancora riconosciuta dall'*American Society of Clinical Oncology negli USA*, mentre in Europa, l'*European Society of Medical Oncology (ESMO)* ha approvato recentemente questo tipo di analisi per il carcinoma coloretale metastatico. Il trattamento con fluoropirimidine, tuttavia, non si limita al cancro del colon-retto metastatico. L'Associazione Italiana di Oncologia Medica è stata la prima società di oncologia, già nel gennaio 2015, ad affrontare adeguatamente questo problema pubblicando, insieme a rappresentanti del Gruppo di Lavoro di Farmacologia Oncologica della SIF, raccomandazioni per analisi farmacogenetiche che prevedevano la genotipizzazione preventiva del gene diidropirimidina deidrogenasi (DPYD), che codifica per il principale enzima responsabile della detossificazione del 5-fluorouracile e di altre fluoropirimidine. Alcune varianti deleterie note del gene DPYD sono responsabili di tossicità grave, a rischio di vita, e anche letale di questi farmaci e la loro determinazione pre-terapia è perciò essenziale per un trattamento più sicuro. I risultati delle attività di ricerca farmacogenetica conseguiti con gli approcci sopra

menzionati, se validati, dovrebbero contribuire all'aggiornamento rapido delle raccomandazioni da parte delle società scientifiche, come accaduto di recente per una nuova variante riconosciuta come deleteria dell'uridina difosfato glucuronosiltransferasi 1A1 (UGT1A1*6) che è stata introdotta nelle raccomandazioni del Dutch Pharmacogenetics Working Group sull'impiego dell'irinotecan. Nonostante sia rara nei caucasici, la variante UGT1A1*6 è piuttosto comune negli asiatici. L'indicazione di considerare questa variante nell'algoritmo diagnostico-terapeutico della pratica clinica è stata recentemente recepita da parte dell'Agenzia Italiana del Farmaco anche per l'Italia. Altre varianti rare di UGT e varianti di altri geni coinvolti nell'ADME dell'irinotecan potrebbero in futuro essere incluse nelle linee guida. Anche il TDM rappresenta un'opzione preziosa per migliorare l'efficacia e la sicurezza dei farmaci antitumorali [2]. L'esempio più noto di TDM è quello relativo al 5-fluorouracile, dove le concentrazioni plasmatiche superiori a quelle massime tollerate sono associate all'aumentata tossicità del farmaco e quelle inferiori alle concentrazioni efficaci minime a una sua diminuita attività terapeutica.

Stanno inoltre emergendo importanti informazioni sulla potenziale utilità del TDM per gli inibitori delle protein chinasi e per gli anticorpi monoclonali antitumorali. Progressi tecnologici e metodologici nella rilevazione delle concentrazioni dei farmaci nei liquidi biologici e nella raccolta dei campioni hanno permesso di determinare con maggiore sensibilità e accuratezza le concentrazioni del farmaco progenitore e dei suoi metaboliti. Metodologie di campionamento limitato e relativi algoritmi interpretativi hanno inoltre favorito l'applicazione del TDM sia in contesti di ricerca che nella pratica clinica. La biopsia liquida, rappresentata dal campionamento di liquidi corporei come il sangue

per l'analisi di biomarcatori che potrebbero contribuire alla definizione del trattamento, ha ampie applicazioni in oncologia. Tramite biopsia liquida è possibile, infatti, valutare vari biomarcatori tumorali, tra i quali il DNA tumorale circolante, le cellule tumorali circolanti, ed altri elementi solubili. Le sue applicazioni in oncologia riguardano non soltanto il monitoraggio e la valutazione del risultato della terapia farmacologica, ma anche la scelta stessa della terapia in relazione alle mutazioni genomiche somatiche riscontrate, oltre al monitoraggio della malattia residua, ed al rilevamento precoce della sua ripresa.

La biopsia liquida fornisce in particolare informazioni sulle variazioni delle mutazioni genetiche in corso di terapia più precocemente rispetto a quelle relative alla progressione della malattia ottenibili con le metodologie di diagnostica di immagine standard e consente pertanto un trattamento successivo più tempestivo, mirato al controllo dei cloni cellulari che manifestano farmacoresistenza su base mutazionale. Essa è inoltre caratterizzata da ridotta invasività e maggiore praticità per i pazienti rispetto alla biopsia tissutale, e dal potenziale di una profilazione più completa dell'eterogeneità tumorale che in prospettiva ne potrebbero consentire un più ampio impiego nel processo decisionale terapeutico, nell'ambito sia degli studi clinici che della pratica clinica.

Un importante contributo alla valutazione dell'entità del beneficio clinico dei nuovi farmaci antitumorali approvati dalle agenzie regolatorie è rappresentato dall'analisi dei risultati ottenuti con tali farmaci nella pratica clinica (studi di *real-world evidence*). Tale metodologia permette di valutare il beneficio clinico di tali farmaci in termini di attività, efficacia, sicurezza e qualità della vita in popolazioni di pazienti oncologici non selezionati in rapporto ai risultati osservati

negli studi clinici registrativi, che riguardano invece pazienti selezionati in base a specifici criteri di inclusione/esclusione. L'ESMO ed altre società oncologiche hanno formulato scale per valutare l'entità del beneficio clinico dei farmaci antitumorali e della qualità di vita dei pazienti trattati nell'ambito degli studi clinici registrativi, che prendono in considerazione i parametri sopra menzionati. A tali scale interpretative si è più recentemente aggiunta anche una scala ESMO per la valutazione dell'*actionability* clinica dei bersagli molecolari dei farmaci. Recentemente il valore clinico dei farmaci antitumorali innovativi è stato oggetto di analisi post-registrativa, sia in ambito statunitense che europeo. L'analisi degli studi clinici registrativi secondo i criteri sopra riferiti ha portato alla formulazione di giudizi non sempre positivi in rapporto all'effettivo

vantaggio in termini di beneficio clinico. Particolarmente interessante è quindi la possibilità di verifica di questi risultati anche nella popolazione oncologica generale tramite studi di *real-world evidence*, retrospettivi o prospettici, che rappresentano obiettivi prioritari della ricerca *post-marketing*. Gli studi finalizzati alla valutazione dei dati *real-world* associati ai nuovi farmaci antitumorali richiederanno tuttavia una qualità e un rigore metodologico maggiori rispetto a quelli finora effettuati. Le società scientifiche di settore si sono opportunamente attivate affinché tali futuri studi seguano precise linee guida. ■

Bibliografia

- 1 Shriver SP, Adams D, McKelvey BA, McCune JS, Miles D, Pratt VM, Ashcraft K, McLeod HL, Williams H, Fleury ME. Overcoming Barriers to Discovery and Implementation of Equitable Pharmacogenomic Testing in Oncology. *J Clin Oncol*. 2024 Apr 1;42(10):1181-1192. doi: 10.1200/JCO.23.01748.
- 2 Angelini S, Cecchin E, Conti V, Dal Piaz F, Filippelli A, Hrelia P, Landini I, Menna P, Mini E, Nobili S, Soledad Poetto A, Ravagnini G, Roncato R, Minotti G. Therapeutic drug monitoring for the cancer patient: challenges and opportunities. *Pharmadvances*, 2021 Sept;3(3): 592-600. doi: 10.36118/pharmadvances.2021.09.



Foto di Diana Polekhina, Unsplash

ONCOLOGY 3.0: NEW DRUGS AND TECHNOLOGIES IN ONCOGENE-ADDICTED SOLID TUMORS

A cura di Giuseppe Cirino, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Obiettivi del Simposio

Gli oncogeni sono forme mutate di geni normali che promuovono la crescita e la divisione cellulare. Nei tumori solidi, come quelli del polmone, della mammella e del colon-retto, oncogeni specifici (ad esempio EGFR, ALK, KRAS) spesso guidano la malattia. Quindi, mirare a questi oncogeni può portare a una significativa regressione del tumore e a una sopravvivenza prolungata nei pazienti. I tumori umani di solito si evolvono attraverso un processo a più fasi che può estendersi per decenni. Questo processo è guidato dal progressivo accumulo di mutazioni e anomalie epigenetiche nell'espressione di più geni che hanno funzioni altamente diverse. Nonostante questa estesa alterazione del genoma delle cellule tumorali, ci sono molti esempi in cui l'inversione di solo una o alcune di queste anomalie può inibire profondamente la crescita delle cellule tumorali e, in alcuni casi, portare a miglioramenti nella sopravvivenza del paziente. Un ruolo fondamentale è giocato dagli oncogeni. Questo fenomeno è conosciuto come "dipendenza da oncogeni" enfatizzando questa dipendenza di alcuni tumori da uno o pochi geni per il mantenimento del fenotipo maligno. È stato proposto che il fenomeno della dipendenza da oncogeni sia una conseguenza del fatto che il processo multistadio della carcinogenesi non è semplicemente una somma degli effetti individuali dell'attivazione di più oncogeni e dell'inattivazione di più geni oncosoppressori. Questo perché le proteine codificate da questi geni

spesso hanno molteplici ruoli in reti complesse e interagenti. Pertanto, nelle cellule tumorali, un dato oncogene può svolgere un ruolo più essenziale e qualitativamente diverso in un dato percorso rispetto al suo ruolo nelle cellule normali. Anche il concetto di "letalità sintetica", derivato da studi su organismi inferiori, può essere rilevante. Due geni sono definiti come portatori di letalità sintetica se la mutazione di uno dei due geni è compatibile con la sopravvivenza ma la mutazione di entrambi i geni provoca la morte cellulare. Ad esempio, alcune cellule tumorali potrebbero essere fortemente dipendenti da un determinato oncogene perché durante il loro sviluppo hanno perso la funzione di un altro gene che normalmente svolge una funzione simile. In un contesto più ampio, le cellule tumorali possono essere più dipendenti da uno specifico oncogene rispetto alle cellule normali poiché sono meno adattabili perché portano diversi geni inattivati. Essenzialmente, sono stati proposti tre modelli per chiarire i meccanismi della dipendenza da oncogeni a livello molecolare. Tutti tengono conto delle proprietà autonome della cella cancerosa e sono noti come (i) razionalizzazione genetica, (ii) shock oncogenico e (iii) letalità sintetica (SL). Inizialmente speculative, queste teorie sono state validate sperimentalmente e possono spiegare aspetti diversi ma complementari di questo fenomeno. L'efficacia di questa strategia basata sull'individuazione di nuovi metodi, tra cui la genomica integrativa e la

biologia dei sistemi, per identificare lo stato di dipendenza da oncogeni in tumori specifici. La terapia combinata può anche essere necessaria per prevenire la fuga di tumori da un dato stato di dipendenza da oncogeni. In questo simposio, due letture saranno specificamente dedicate ad affrontare due aspetti di fondamentale importanza in questa tematica scientifica di così grandi attualità ed interesse: la prima, dal titolo "Acquired Resistance Mutations: New Diagnostic and Therapeutic Solutions in the Pathway of HR+ HER2- Metastatic Breast Cancer" sarà curata dalla Dr.ssa Rossana Roncato e la seconda sarà invece presentata dalla Prof.ssa Marzia Del Re e verterà sull'argomento "HER-2 as predictive biomarker and drug target across solid tumor". Una sintesi delle due letture è riportata nei due articoli finali di questo numero di Quaderni della SIF dedicato ai simposi del 42° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia. ■

ACQUIRED RESISTANCE MUTATIONS: NEW DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC SOLUTIONS IN THE PATHWAY OF HR+ HER2- METASTATIC BREAST CANCER

A cura di Rossana Roncato – Università degli Studi di Udine

Obiettivi del Simposio

L'evoluzione delle terapie oncologiche sta progredendo rapidamente, grazie allo sviluppo di nuovi farmaci mirati e tecnologie diagnostiche avanzate che hanno significativamente migliorato la gestione dei tumori solidi *oncogene-addicted*. I progressi nella farmacologia oncologica, tra cui inibitori delle chinasi, anticorpi bispecifici e degradatori selettivi, stanno modificando radicalmente il paradigma terapeutico di molte neoplasie. Parallelamente, strumenti diagnostici come il *Next Generation Sequencing* (NGS) e la biopsia liquida permettono una caratterizzazione molecolare dettagliata dei tumori, facilitando l'identificazione precoce delle mutazioni oncogene e delle resistenze acquisite, aprendo così la strada a trattamenti più personalizzati ed efficaci. L'intervento dal titolo "Acquired Resistance Mutations: New Diagnostic and Therapeutic Solutions in the Pathway of HR+ HER2- Metastatic Breast Cancer" affronta una delle principali sfide nella gestione del carcinoma mammario metastatico HR+ HER2- (recettori ormonali positivi, HER2 negativo): la resistenza acquisita alle terapie endocrine evidenziando le soluzioni diagnostiche e terapeutiche emergenti. Il carcinoma mammario HR+ HER2- rappresenta il sottotipo più frequente di tumore alla mammella ed è caratterizzato dalla dipendenza dai recettori ormonali per la crescita tumorale. La terapia endocrina standard, basata

su inibitori dell'aromatasi (ad es. letrozolo, anastrozolo, exemestane) e antagonisti del recettore degli estrogeni come fulvestrant, viene solitamente combinata con inibitori delle chinasi ciclina-dipendenti 4 e 6 (CDK4/6), migliorando significativamente la sopravvivenza libera da progressione e, in alcuni casi, la sopravvivenza globale. Tuttavia, la resistenza acquisita, che spesso si sviluppa durante il trattamento prolungato, rappresenta una sfida critica. Un meccanismo chiave della resistenza acquisita alla prima linea di trattamento è rappresentato dalle mutazioni del gene ESR1, che codifica per il recettore degli estrogeni. Queste mutazioni conferiscono al recettore la capacità di attivarsi autonomamente, anche in assenza del ligando, promuovendo la progressione tumorale indipendentemente dall'inibizione ormonale e riducendo l'efficacia della terapia endocrina. Le mutazioni di ESR1 emergono come risposta alla pressione selettiva esercitata dalle terapie endocrine, causando una perdita di efficacia delle stesse. Sebbene le mutazioni di ESR1 siano riconosciuti fattori prognostici negativi, rappresentano a oggi un importante *target* terapeutico. In questo contesto, sono emersi nuovi farmaci della classe dei degradatori selettivi del recettore degli estrogeni (SERD) orali che non solo bloccano l'attività del recettore ma ne promuovono anche la degradazione. Tra questi, elacestrant,

il capostipite di questa classe, ha dimostrato di ridurre significativamente il rischio di progressione della malattia in pazienti con mutazioni di ESR1 precedentemente trattate con endocrinoterapia. Elacestrant ha inoltre mostrato un profilo di tollerabilità favorevole, risultando più efficace nelle pazienti con mutazioni resistenti rispetto alle terapie endocrine esistenti. Oltre a elacestrant, altri SERD orali in fase di sviluppo, come imlunestrant, camizestrant e giredestrant, stanno mostrando risultati promettenti negli studi clinici, aprendo nuove prospettive per il trattamento delle pazienti con mutazioni di ESR1 e ampliando l'arsenale terapeutico disponibile. Le mutazioni di ESR1 non sono l'unico meccanismo di resistenza che complica il trattamento di seconda linea del carcinoma mammario metastatico HR+ HER2-. Le alterazioni della via di segnalazione di PI3K/AKT/mTOR sono comunemente associate alla resistenza endocrina, con mutazioni in PIK3CA, AKT1 e alterazioni a carico di PTEN che si verificano in circa il 50% delle pazienti con carcinoma mammario HR+ HER2-. Queste mutazioni attivano vie di segnalazione pro-proliferative che contribuiscono alla progressione tumorale e alla resistenza alle terapie ormonali. Per affrontare queste alterazioni, sono stati sviluppati farmaci mirati come alpelisib, un inibitore di PI3K, che ha mostrato benefici significativi in combinazione con fulvestrant nelle

pazienti con mutazioni di PIK3CA, migliorando la sopravvivenza libera da progressione rispetto alla sola endocrinoterapia. Questa combinazione rappresenta oggi una delle opzioni terapeutiche approvate per le pazienti con questa mutazione specifica. Un altro farmaco promettente è capivasertib, un potente inibitore delle tre isoforme di AKT (AKT1/2/3). Studi clinici hanno dimostrato che capivasertib, in combinazione con fulvestrant, migliora significativamente la sopravvivenza libera da progressione nelle pazienti con alterazioni della via PIK3CA/AKT1/PTEN. Questo risultato ha portato all'approvazione della combinazione capivasertib-fulvestrant per il trattamento del carcinoma mammario HR+ HER2- localmente avanzato o metastatico, con mutazioni in queste vie di segnalazione. Oltre ai progressi farmacologici, l'evoluzione

delle tecnologie diagnostiche ha giocato un ruolo cruciale. La biopsia liquida, che permette l'analisi del DNA tumorale circolante, sta emergendo come una tecnologia essenziale per monitorare le mutazioni acquisite durante il trattamento in modo non invasivo. Questo approccio consente di rilevare precocemente l'insorgenza di resistenze, come le mutazioni di ESR1 o PIK3CA, consentendo ai clinici di anticipare la progressione radiologica e personalizzare tempestivamente le strategie di trattamento. La biopsia liquida rappresenta un progresso significativo nel monitoraggio molecolare continuo del carcinoma mammario metastatico, offrendo un intervento terapeutico rapido e mirato. Le mutazioni di resistenza costituiscono una sfida critica nella gestione del carcinoma mammario metastatico HR+

HER2-. Tuttavia, grazie ai recenti sviluppi nella comprensione dei meccanismi molecolari di resistenza e all'introduzione di nuove terapie mirate come i SERD orali, gli inibitori di PI3K e AKT, e l'uso di tecnologie avanzate come la biopsia liquida, nuove prospettive terapeutiche si stanno delineando. Queste innovazioni promettono di migliorare le opzioni di trattamento, prolungare la sopravvivenza e migliorare la qualità della vita delle pazienti con carcinoma mammario metastatico HR+ HER2-. ■



Foto di Angiola Harry, Unsplash

HER-2 AS PREDICTIVE BIOMARKER AND DRUG TARGET ACROSS SOLID TUMOR

A cura di Marzia del Re – Saint Camillus International University of Health and Medical Sciences (UniCamillus)

Obiettivi del Simposio

L'armamentario terapeutico a disposizione per il trattamento dei tumori è in rapida evoluzione e le terapie *target* stanno entrando nel paradigma terapeutico della maggior parte dei tumori solidi. Lo sviluppo di nuovi farmaci a bersaglio molecolare si sta inoltre accompagnando ad un costante avanzamento sia in campo farmaceutico (es. sviluppo di anticorpi bispecifici, ADC) che tecnologico (*Next Generation Sequencing*, biopsia liquida), permettendo una miglior comprensione della biologia dei tumori e delle strategie per una miglior personalizzazione delle cure. A questo riguardo, l'intervento "HER-2 as predictive biomarker and drug *target* across solid tumor" è volto ad una panoramica sullo sviluppo di farmaci anti-HER2 in diverse patologie e come il ruolo di uno stesso biomarcatore possa variare a seconda della biologia della malattia oggetto del trattamento. HER-2 è un *driver* molecolare che può avere diversi tipi di alterazioni ed è *target* di terapia in diversi tumori solidi tra cui quello della mammella, gastrico o il tumore del polmone. HER-2 è un gene *driver* nel tumore della mammella quando è iper-espresso a livello della membrana delle cellule tumorali. La sua iper-espressione (classificata secondo criteri di positività immunohistochimica crescenti che vanno da 0 a 3) rende il tumore sensibile a trattamenti anti-HER-2 specifici che includono anticorpi monoclonali come trastuzumab o pertuzumab e a farmaci di nuova generazione come gli anticorpi coniugati a chemioterapici (ADC) come

trastuzumab deruxtecan.

Anche il tumore gastrico si caratterizza in alcuni casi di una elevata espressione di HER-2, e in questa patologia si stanno sviluppando nuove generazioni di anticorpi monoclonali, tra cui gli anticorpi bi-specifici, caratterizzati dal fatto di avere una elevata specificità per più bersagli. Anche il tumore del polmone si caratterizza, in alcuni casi, per la presenza di HER-2 come *driver*, ma in questa patologia HER-2 non è iper-espresso, ma ha delle mutazioni attivanti, che rendono il tumore sensibile a farmaci come trastuzumab-deruxtecan. Benché alcuni farmaci siano gli stessi, se pur rivolti verso alterazioni diverse dello stesso bersaglio, sono molteplici i meccanismi di resistenza acquisita alla terapia, che dipende *in primis* dalla biologia della malattia, ma in secondo luogo anche del tipo di trattamento effettuato. Nel caso della terapia con ADC infatti, i meccanismi di resistenza possono essere identificati come *target*-dipendenti (riduzione dell'espressione di HER-2), chemioterapico dipendenti (acquisizione di mutazioni secondarie nel sito di legame tra farmaco e bersaglio) oppure meccanismi che coinvolgono l'estruzione del farmaco dalla cellula tumorale. In uno scenario in cui l'introduzione nella pratica clinica di molti nuovi farmaci prolunga la sopravvivenza dei pazienti, individuare i meccanismi di resistenza alle terapie diventa sempre più rilevante nell'ottica di una migliore strategia per una sequenza terapeutica personalizzata.

PUBBLICAZIONE REALIZZATA GRAZIE AL CONTRIBUTO INCONDIZIONATO DI





SOCIETÀ ITALIANA
DI FARMACOLOGIA