

Cladribina: una scommessa contro la sclerosi multipla

Concetta Domenica Gargano

Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze e Organi di Senso, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro"

La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia demielinizzante e neurodegenerativa del Sistema Nervoso Centrale (SNC), caratterizzata dal coinvolgimento dell'infiammazione e da un attacco autoimmune diretto primariamente alla mielina. Le caratteristiche lesioni sono associate alla perdita di funzione della Barriera Emato-Encefalica (BEE) con conseguente infiammazione multifocale, demielinizzazione e perdita assonale. Oggi è disponibile un numero importante di terapie, definite *Disease-Modifying Therapies* (DM-Ts), in grado di agire sulla risposta immunitaria periferica e sui meccanismi associati alle risposte mediate dai linfociti B e T.

La prima manifestazione clinica della SM è la sindrome clinicamente isolata (CIS) che fa riferimento ad un episodio neurologico causato da infiammazione e demielinizzazione.

DaI momento che non in tutti pazienti la CIS evolve in SM clinicamente definita, è fondamentale rintracciare dei validi biomarcatori per predire le

ricadute cliniche e per identificare la progressione ai differenti sottotipi di malattia. La SM coinvolge una complessa rete di eventi con il contributo di differenti tipi cellulari del sistema immunitario adattativo; i linfociti T e B autoreattivi hanno un ruolo determinante nel processo fisiopatologico della fase attiva della malattia, reclutando cellule del sistema immunitario innato come i macrofagi⁽¹⁾. È noto il coinvolgimento delle cellule T nella patogenesi della malattia, in quanto sia i linfociti T CD4+ sia i CD8+ sono presenti negli infiltrati perivascolari delle lesioni, con una prevalenza dei CD4+ nelle lesioni acute e dei CD8+ nelle lesioni croniche⁽²⁾. Diversi studi negli ultimi anni stanno rivolgendo la loro attenzione al ruolo determinante dei linfociti B nella SM. Tali cellule possono presentare l'antigene riattivando i linfociti T autoreattivi nel SNC e, soprattutto, hanno la funzione di produrre anticorpi specifici contro la mielina quando si differenziano in plasmacellule, contribuendo

così alla degradazione della stessa. Il forte contributo delle cellule B nel processo patologico è ulteriormente confermato dalla presenza, nel siero e nel liquor dei pazienti, di citochine specifiche delle cellule B (BAFF; APRIL; CXCL13), ma soprattutto, dalla presenza di bande oligoclonali (OCBs) di immunoglobuline G (IgGs) nel liquor, ritenute il *gold standard* per la diagnosi di SM. La presenza di immunoglobuline nel liquor può essere attribuita sia all'alterazione della permeabilità della BEE che alla sintesi intratecale di immunoglobuline. I linfociti T e B autoreattivi possono attraversare la BEE alterata con meccanismi mediati da gradienti di concentrazione di chemochine che permettono loro di essere riattivati all'interno del SNC, dove agiscono in maniera combinata sulla demielinizzazione e sul danno assonale (Fig.1).

Cladribina

La cladribina (2-clorodeossiadeno-sina; 2-CdA) è una molecola recen-

temente approvata per il trattamento di pazienti adulti con SM recidivante ad elevata attività. È un analogo clorinato purinico che agisce attraverso la deplezione dei linfociti e risulta molto efficace nell'inibizione delle recidive. Identificata come terapia semi-selettiva, ha come *target* alcuni *subsets* del sistema immunitario adattativo, e risulta di rilievo tra le DMTs grazie alla sua attività immuno-ricostituente ⁽³⁾. Nel 2017 l'*European Medicines Agency* (EMA) ha approvato l'utilizzo di cladribina; la dose raccomandata cumulativa è di 3,5mg/kg di peso corporeo in 2 anni, somministrata come 1 ciclo di trattamento da 1,75mg/kg per anno. Ogni ciclo di trattamento consiste di 2 settimane di terapia, una all'inizio del primo mese e una all'inizio del secondo mese dell'anno di trattamento corrispondente. Ogni settimana di terapia consiste di 4 o 5 giorni in cui il paziente assume 10mg o 20mg (1 o 2 compresse) come singola dose giornaliera, in base al peso corporeo. Gli studi clinici hanno dimostrato una riduzione del 50% di probabilità di progressione della malattia e una riduzione del tasso medio annuale di recidive da 0,33 a 0,14 paragonato a pazienti che avevano assunto placebo. Inoltre, è stato dimostrato il mantenimento del beneficio della terapia fino ad altri due anni successivi al termine della stessa ⁽⁴⁾. La semi-selettività di cladribina può essere spiegata dai diversi livelli di espressione di alcuni enzimi coinvolti nel metabolismo delle purine. In particolar modo, l'enzima deossicitidina chinasi (dCK) è molto attivo nei linfociti e svolge un ruolo chiave nel meccanismo d'azione della 2-CdA. I linfociti sono cellule molto atti-

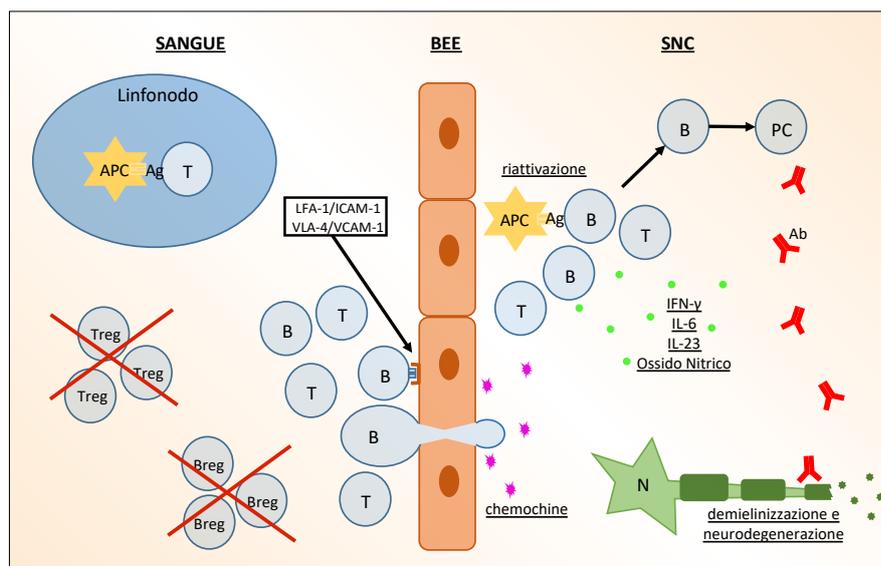


Figura 1. Possibili meccanismi coinvolti nella patogenesi della SM. Nel sistema periferico (SANGUE) i linfociti (T e B) vengono attivati contro un antigene self (Ag). La mancata o ridotta efficienza di soppressione da parte delle cellule regolatorie (B-Treg), accompagnata da un'alterazione nella permeabilità della barriera emato-encefalica (BEE), determina il passaggio dei linfociti autoreattivi nel sistema nervoso centrale (SNC). Tale meccanismo è esacerbato dall'aumentata espressione di recettori integrinici sulla superficie endoteliale della BEE che interagiscono con i loro ligandi sulla superficie dei linfociti, aumentando l'adesione degli stessi all'endotelio (LFA-1/ICAM-1; VLA-4/VCAM-1). Il passaggio è coadiuvato da un gradiente chemochinico che attira i linfociti nel SNC, dove vengono riattivati contro l'Ag producendo citochine pro-infiammatorie (IFN γ , IL-6, IL-23, ossido nitrico) che contribuiscono al processo citotossico. Inoltre, le plasmacellule (PC) producono auto-anticorpi che agiscono a livello neuronale (N), determinando demielinizzazione e neurodegenerazione.

ve dal punto di vista proliferativo e, dunque, i processi enzimatici coinvolti nel metabolismo di purine e pirimidine sono fondamentali per la sintesi di nucleotidi, per la formazione di nuovi acidi deossiribonucleici (DNA) e per la sintesi di proteine. In particolare, tra gli enzimi maggiormente coinvolti in questi meccanismi, l'enzima adenosina deaminasi (ADA) agisce andando a degradare l'adenosina, mentre l'enzima dCK aggiunge gruppi fosfato alla purina. Entrambi gli enzimi sono altamente espressi nei linfociti T e B. Cladribina entra nei linfociti attraverso trasportatori di membrana specifici, è resistente alla degradazione da parte di ADA e si accumula. La sua fosforilazione avviene ad opera di dCK determinando l'accumulo di cladribina trifosforilata che risulterà ci-

tossica, intervenendo nelle fasi di sintesi e riparazione del DNA, causando danno al DNA stesso, apoptosi e dunque la morte delle cellule interessate. Nei linfociti, in cui i livelli di espressione dell'enzima dCK sono elevati, si osserva una minore espressione dell'enzima 5' nucleotidasi (5NT) che è invece responsabile della defosforilazione dell'adenosina, mantenendo così un netto equilibrio a favore della fosforilazione ad opera di dCK ⁽⁵⁾. Sulla base del profilo di espressione dell'enzima dCK, sarebbe possibile identificare le sottopopolazioni linfocitarie maggiormente suscettibili alla terapia e, dunque, i linfociti T CD8+ e le plasmacellule dovrebbero essere un bersaglio meno suscettibile all'attacco di cladribina. A conferma di questo, gli studi clinici mostrano una deplezione del 30-40%

dei linfociti T CD8+ rispetto al 40-60% dei linfociti T CD4+, comparati ai valori all'inizio della terapia ⁽⁶⁾. Per quanto riguarda invece l'effetto di deplezione della cladribina sulle plasmacellule, sono necessari studi più approfonditi per definirne l'azione. L'efficacia della terapia completa, effettuata per 2 anni, è dimostrata dal fatto che l'effetto dura per almeno quattro anni successivi al trattamento e i primi benefici si possono osservare già dopo il primo anno di terapia ⁽⁷⁾.

La maggior parte delle DMTs ha come bersaglio la risposta immunitaria periferica. Farmaci costituiti da anticorpi come alemtuzumab, rituximab e ocrelizumab non possono attraversare la BEE ⁽⁸⁾ e dunque, non possono arrivare al SNC dove persiste la presenza di immunoglobuline di sintesi intratecale. La cladribina è una molecola molto piccola rispetto agli anticorpi, e potenzialmente, dovrebbe avere una maggiore penetrazione tissutale ⁽⁹⁾ e una bassa immunogenicità, soprattutto rispetto a farmaci come natalizumab e interferone che inducono la formazione di anticorpi neutralizzanti in grado di inibire l'azione del farmaco. Al con-

trario di altre DMTs, cladribina può superare le strutture di BEE ed arrivare al SNC andando ad agire sui linfociti residenti e sugli equilibri citochinici che sostengono le nicchie di plasmacellule responsabili della sintesi intratecale di immunoglobuline. Alla luce di queste premesse, è possibile ipotizzare che cladribina possa avere un effetto sulla presenza delle bande oligoclonali nel liquor dei pazienti affetti da SM, apportando benefici alla progressione della malattia. Per queste ragioni, ad oggi molti studi sono rivolti ad approfondire proprio l'effetto di cladribina in questo ambito. Dati ottenuti da studi condotti su modelli animali, confermano l'importante coinvolgimento dei linfociti CD4+ nell'attacco al SNC, ma la presenza dei linfociti B nelle lesioni perivascolari e l'azione delle DMTs sulla deplezione dei linfociti B della memoria, rivelano l'importanza del coinvolgimento di questi ultimi nella patogenesi della malattia. Risulta così importante approfondire il ruolo di cladribina vista (a) la sua azione, non solo a livello periferico, ma anche a livello centrale e (b) la sua modalità di azione prevalente sui linfociti

B che hanno elevati livelli di espressione di dCK rispetto alle cellule T. Il punto cardine da approfondire nello studio di questa nuova terapia, è il ruolo delle diverse sottopopolazioni linfocitarie. Si sta rivolgendo particolare attenzione alle sottopopolazioni B e T regolatorie che hanno il compito di sopprimere la risposta immunitaria dannosa determinata dagli auto-antigeni; infatti vengono considerate lo strumento di controllo delle cellule autoreattive. Le cellule regolatorie hanno il compito di mantenere la tolleranza periferica e di proteggere contro i processi autoimmuni. Nell'ambito della SM, le cellule regolatorie hanno un deficit nella maturazione e sono funzionalmente alterate, determinando così una diminuita proprietà soppressiva nei pazienti. Il *goal* terapeutico per la SM sarebbe proprio quello di ristabilire la tolleranza immunologica fortemente alterata in questa patologia. Studi di *follow-up* terapeutici in corso stanno confermando la capacità immuno-ricostituente di cladribina ponendola come la candidata scommessa terapeutica nell'ampio scenario delle terapie ad oggi in uso nella SM ■

Bibliografia

1. Hemmer B, Cepok S, Zhou D, Sommer N. Multiple sclerosis - a coordinated immune attack across the blood brain barrier. *Curr Neurovasc Res.* 2004;1(2):141-50.
2. Chitnis T. The role of CD4 T cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol.* 2007;79:43-72.
3. Giovannoni, G. Cladribine to treat relapsing forms of multiple sclerosis. *Neurotherapeutics* 2017;14(4):874-887.
4. MAVENCLAD® European public assessment report, June 2017. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/mavenclad-epar-public-assessment-report_en.pdf
5. Ceronie B, Jacobs BM, Baker D, et al. Cladribine treatment of multiple sclerosis is associated with depletion of memory B cells. *J Neurol.* 2018; 265(5):199-209.
6. Baker D, Herrod SS, Alvarez-Gonzalez C, et al. Both cladribine and alemtuzumab may effect MS via B-cell depletion. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2017;4(4):e360.
7. Giovannoni G, Comi G, Cook S, et al; CLARITY Study Group. A placebo-controlled trial of oral cladribine for relapsing multiple sclerosis. *N Engl J Med.* 2010;362(5):416-26.
8. Hill-Cawthorne GA, Button T, Tuohy O, et al. Long term lymphocyte reconstitution after alemtuzumab treatment of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012;83(3):298-304.
9. Hermann R, Karlsson MO, Novakovic AM, et al. The clinical pharmacology of cladribine tablets for the treatment of relapsing multiple sclerosis. *Clin Pharmacokinet.* 2019;58(3):283-97.