



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienza Mediche e Farmaceutiche
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E
CHIRURGIA**

Tesi di Laurea

**“L'effetto di Cladribina rispetto a Fingolimod
sui criteri clinici e di risonanza magnetica nella
sclerosi multipla recidivante remittente”**

Relatrice

Prof.ssa Matilde Inglese

Correlatrice

Dott.ssa Caterina Lapucci

Candidato

Carlo Alberto Biale

Anno accademico 2021/2022

INDICE

1. Sclerosi Multipla	1
1.1 Introduzione	1
1.2 Epidemiologia	1
1.3 Eziologia	2
1.3.1 Fattori Genetici.....	2
1.3.2 Fattori Ambientali	3
1.4 Patogenesi	4
2. Presentazione Clinica e Fenotipi di Malattia	5
2.1 Sintomatologia	5
3. Diagnosi	8
4. Misure di Outcome radiologiche e cliniche	11
4.1 Risonanza Magnetica	11
4.1.1 NAWM.....	13
4.2 EDSS	14
4.3 NEDA.....	16
4.4 Multiple Sclerosis Functional Composite MSFC	17
4.4.1 Struttura e componenti del test MSFC	18
4.5 NIH Toolbox: Standing Balance Test.....	21
5. Terapie.....	23
5.1 Principi di Terapia	23
5.1.1 Terapie Sintomatiche.....	25
5.2 Fingolimod	29
5.2.1 Farmacocinetica	29
5.2.2 Meccanismo d'azione.....	30

5.2.3 Uso nella SM.....	31
5.2.4 Efficacia del trattamento con Fingolimod.....	31
5.2.5 Eventi avversi e profilo di sicurezza	32
5.3 Cladibrina.....	34
5.3.1 Farmacocinetica	34
5.3.2 Meccanismo d'azione.....	35
5.3.3 Uso nella SM.....	35
5.3.4 Efficacia del trattamento con Cladribina.....	36
5.3.5 Eventi avversi e profilo di sicurezza	37
6. Introduzione	39
6.1 Materiali e Metodi.....	39
6.2 Acquisizione MRI	40
6.3 Analisi dei dati MRI.....	41
7. Risultati	42
7.1 Dati Demografici e Clinici	42
8. Discussione	46
8.1 Conclusioni	47
Bibliografia	49

1. Sclerosi Multipla

1.1 Introduzione

La Sclerosi Multipla (SM) è una patologia infiammatoria autoimmune cronica del Sistema Nervoso Centrale, caratterizzata, sul piano neuropatologico dalla presenza di aree di demielinizzazione con perdita assonale e sul piano clinico dalla comparsa di segni di sofferenza focale, in genere inizialmente reversibili ma che conducono ad una progressione irreversibile della disabilità.

Venne descritta neuropatologicamente nel 1838 da Cruveilhier e Carswell ma venne poi dettagliatamente descritta come distinta entità nosografica da Charcot nel 1868, diventando conosciuta come “*sclérose en plaques*” anche se, a partire dal 1950, si impose il termine inglese “*Multiple Sclerosis*”, a seguito della pubblicazione negli USA del testo monografico di McAlpine e della nascita del NINDB (National Institute of Neurological Disease and Blindness) e della NMSS (National Multiple Sclerosis Society), la prima grande associazione di supporto per la malattia.

La SM è considerata una malattia autoimmune in cui fattori predisponenti genetici e fattori esterni ambientali contribuiscono a scatenare un processo infiammatorio portato avanti da cellule dell'immunità adattiva, i linfociti B e i linfociti T, diretto contro antigeni mielinici e neurali. Il processo infiammatorio coinvolge poi macrofagi infiltranti, microglia locale e anticorpi, nonché citochine e chemochine; tutte queste componenti concorrono anche alla cronicizzazione del danno assonale e alla degenerazione assonale che ne deriva.

1.2 Epidemiologia

La SM è una malattia la cui incidenza è in aumento a livello globale; l'*Atlas of MS 2020* [1] ha riscontrato l'incidenza di 2.1 casi su 100'000 (1 nuovo caso ogni 5 minuti) e la prevalenza di 36 casi per 100'000 persone. Questi dati variano molto a livello globale, infatti, in Europa e Nord America, con prevalenze che sono rispettivamente di 133 e 112 casi per 100'000 abitanti, con punte addirittura di 337 casi per 100'000 persone a San Marino. Ciò è in realtà allineato con i risultati di diversi studi che correlano la malattia alla latitudine [2] [3] e ai livelli di Vitamina D, anche se l'*Atlas of MS 2020* ha evidenziato

un raddoppio dell'incidenza rispetto alla versione del 2013 in diversi stati più vicini all'equatore come Cina, Egitto e Thailandia.

L'Italia è un paese a media-alta prevalenza di SM, con in media 176 casi per 100'000 abitanti per quanto riguarda le regioni continentali e la Sicilia; per quanto riguarda la Sardegna, la prevalenza media si attesta a 299 casi per 100'000 abitanti [4]. Questa differenza è probabilmente dovuta a fattori genetici e di popolazione intrinseci alla storia dell'isola [5][6], esemplificando ancora di più la multifattorialità della malattia.

La malattia è almeno due volte più frequente nel sesso femminile (F:M 2-3:1) e l'età media di insorgenza è di 32 anni, rendendo la SM la prima causa di disabilità neurologica nei giovani e giovani adulti. Anche l'incidenza nei bambini è aumentata rispetto all'Atlas del 2013, si stima infatti che delle 2,8 milioni di persone affette a livello globale, l'1.5%, ovvero circa 30'000 persone, siano soggetti sotto i 18 anni di età [7].

1.3 Eziologia

L'eziologia della SM rimane in gran parte non chiarita. L'ipotesi più accreditata è quella di una patologia multifattoriale, in cui diversi fattori di rischio, tra cui fattori genetici e fattori ambientali, causano l'innescamento e lo sviluppo della malattia.

1.3.1 Fattori Genetici

Nella genesi della SM, i fattori genetici svolgono sicuramente un ruolo. Questo è sostenuto da studi su gruppi familiari in cui si evidenzia un'ereditarietà riconoscibile; circa un paziente su 8 ha una storia familiare positiva e il rischio di sviluppare la malattia cresce con il grado di parentela. Infatti, nei gemelli omozigoti si ha una concordanza per la presenza di SM attorno al 15-25%, che scende nei gemelli dizigoti e nei parenti di primo grado al 2-5%[8].

Il principale rischio genetico sembra essere legato a geni riguardanti il complesso maggiore (*major histocompatibility complex* MHC) di istocompatibilità, in particolare il locus HLA-DRB1*15 [9], per i quali gli eterozigoti hanno un rischio >3 e gli omozigoti >6 [10], anche se il meccanismo non è stato chiarito.

Grazie a studi genetici come il *Genome-Wide Association Study* (GWAS) sono stati identificati anche polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) non correlati al MHC ma sempre legati a geni correlati a funzioni del sistema immunitario, come IL7R, IL2RA,

TNFR1, BAFF e CYP2R1 [11]. La predisposizione sembra essere quindi poligenica, e la somma di ogni allele associato alla Sclerosi Multipla pesato per il suo potenziale effetto definisce il “*genetic burden*” dell’individuo.

1.3.2 Fattori Ambientali

Epstein-Barr Virus, l’esposizione solare e i livelli di Vitamina D, nonché il fumo svolgono un ruolo importante nella genesi della SM. Uno studio sulle migrazioni ha evidenziato come i figli di persone provenienti da zone a basso rischio per SM nati in Europa abbiano un alto rischio di sviluppare la malattia; questo può essere spiegato col fatto che l’esposizione deve avvenire in giovane età.

Tra i fattori ambientali che possono avere importanza nello scatenamento della malattia troviamo:

- **Bassa esposizione solare e carenza di Vitamina D**
Studiando la prevalenza a livello globale della SM si nota un gradiente in cui la prevalenza è più elevata alle latitudini più lontane dall’equatore; questo viene in genere spiegato con una minore esposizione ai raggi solari UVB, importanti per la sintesi a livello cutaneo della Vitamina D [9]. Questa vitamina svolge importanti ruoli all’interno del nostro organismo, contribuisce tra l’altro alla proliferazione e al differenziamento cellulare, anche delle cellule del sistema immunitario. È responsabile dell’induzione dell’apoptosi dei linfociti B, la sintesi di IL-10 e il controllo negativo della sintesi delle citochine infiammatorie come INF-g e IL-2 [11].
- **Fumo**
Il fumo è risultato costituire un significativo, anche se modesto, fattore di rischio per l’insorgenza della SM [12].
- **Dieta**
Per quanto riguarda la dieta, sebbene non ci siano evidenze riguardante un regime alimentare specifico, evidenze cliniche e sperimentali hanno dimostrato come l’obesità in infanzia ed adolescenza può rappresentare un fattore di rischio per la SM. Anche una dieta ricca di sale è stata associata ad una aumentata attività di malattia.

- **Agenti Infettivi**

Infezioni ed esposizioni ad agenti batterici e virali, come EBV, HHV-6 e Mycoplasma pneumonia, potrebbero costituire importanti fattori di rischio [13].

In particolare, vi sono forti evidenze che l'infezione da EBV sia un fattore di rischio significativo per lo sviluppo della SM, soprattutto se contratto nell'adolescenza, come sembra suggerire il fatto che le aree a bassa prevalenza di SM coinciderebbero con zone in cui l'infezione è contratta in giovane età.

1.4 Patogenesi

La SM è considerata una malattia autoimmune organo-specifica del SNC. È probabile che uno stimolo ambientale porti, su un soggetto geneticamente predisposto, alla selezione di linfociti T autoreattivi che entrano nel SNC, attraversando la barriera ematoencefalica. Questi linfociti sembrano essere i linfociti Th1 e Th17 che creano un ambiente citochinico favorente il richiamo perivasale di altre cellule dell'immunità quali i linfociti T CD8+ citotossici, cellule B e plasmacellule. Nella cronicizzazione del processo infiammatorio intervengono anche le cellule dell'immunità adattativa, quali macrofagi e microglia, che agiscono mediante vari meccanismi di danno, tra cui il rilascio di radicali liberi dell'ossigeno e di citochine, le quali alimenteranno ancor di più il processo infiammatorio.

Il danno si esplica quindi come aree di demielinizzazione nella sostanza bianca che prendono il nome di placche. Istologicamente sono infiltrate da oligodendrociti ed è presente anche astrogliosi reattiva e infiltrato infiammatorio con T e B e macrofagi se sono precoci. Inizialmente gli oligodendrociti si moltiplicano per tentare di ricostruire la mielina, con parziale successo. Con l'avanzare della lesione, gli astrociti che proliferano formano un denso intreccio di processi fibrillari cicatriziali. Si ha infine la perdita assonale, la scomparsa di oligodendrociti e gliosi fibrillare. L'infiammazione recede con l'evoluzione della placca; le placche croniche sono poco infiammate, con infiltrato di microglia e macrofagi contenenti mielina, mentre le placche completamente demielinizzante ormai inattive non sono affatto infiammate e sono circondate da una cicatrice astrocitaria [14].

2. Presentazione Clinica e Fenotipi di Malattia

2.1 Sintomatologia

L'esordio della malattia è in genere subacuto. Il primo episodio si configura come *sindrome clinicamente isolata CIS (Clinically Isolated Syndrome)*; qualunque funzione del SNC può essere compromessa, isolatamente (esordio monosintomatico o monofocale) o in associazione (esordio polisintomatico o polifocale). In genere, questo primo episodio regredisce spontaneamente.

La sintomatologia è correlata alla sede della lesione demielinizzante.

Tabella 2.1 - Sintomi e segni

Sintomi e segni

Sede del danno	Sintomi e Segni
Nervo Ottico	Calo dell'acuità visiva, annebbiamento della vista, dolore associato ai movimenti oculari
Cervelletto	Tremore intenzionale, disartria, atassia assiale e della marcia
Tronco encefalico	Diplopia (oftalmoplegia internucleare), disfagia
Midollo spinale	Mielite trasversa parziale. Disfunzioni vescicali, disturbi sessuali, costipazione, paraparesi/tetraparesi centrale (iperreflessia profonda, spasticità segno di Babinski positivo), disturbi sensitivi (ipoestesia, parestesie, discinesie superficiali, ipoestesia profonde e atassia sensitiva)
Encefalo	Disturbi depressivi, turbe cognitive, crisi epilettiche (rare), deficit sensitivi e motori

Altro

Disturbi dolorosi, fatica, intolleranza al caldo

Nel 1996 il *National Multiple Sclerosis Society (NMSS) Advisory Committee on Clinical Trials in Multiple Sclerosis* degli Stati Uniti ha definito i fenotipi clinici di malattia, riconoscendo tre possibili decorsi clinici:

- **Forma a ricadute e remissioni** (*Relapsing-Remitting, RR*): interessa la maggioranza dei pazienti [15]; il decorso di questa forma è caratterizzato da episodi acuti di peggioramento delle funzioni neurologiche a cui si accompagnano in genere nuovi sintomi, seguiti da un totale o parziale recupero in assenza di progressione di malattia. Caratterizza per la presenza di episodi acuti di peggioramento delle funzioni neurologiche, con la comparsa di nuovi sintomi, o il peggiorare di sintomi preesistenti, seguiti da un totale o parziale recupero in assenza di progressione di malattia;
- **Forma secondariamente progressiva** (*Secondary Progressive, SP*): questa forma segue un'iniziale fase di malattia a ricadute e remissioni; la malattia progredisce costantemente, si assiste a un decadimento delle funzioni neurologiche, con o senza episodi di ricadute;
- **Forma primariamente progressiva** (*Primary Progressive, PP*): è la forma di malattia con l'andamento più acuto; si caratterizza per un progressivo e costante peggioramento delle funzioni neurologiche fin dall'esordio dei sintomi, senza che sia riconoscibile un'iniziale fase a ricadute e remissioni;

Il lavoro del NMSS subì una revisione da Lublin et al. nel 2013 [16], che ha integrato il precedente lavoro e apportato alcune modifiche:

- **“Sindrome Clinicamente Isolata”** (*Clinically Isolated Syndrome, CIS*): è il primo episodio di comparsa di deficit neurologici che perdurano per almeno 24 ore, in assenza di febbre e infezione. Mostra caratteristiche di demielinizzazione infiammatoria ma non soddisfa i criteri diagnostici per la Sclerosi Multipla.
- Definizione di **“Sindrome Radiologicamente Isolata”** (*Radiologically Isolated Syndrome, RIS*): è il riscontro accidentale di alterazioni alla risonanza magnetica suggestive di demielinizzazione, senza sintomi o segni cliniche di malattia. La

RIS viene tenuta separata dalla SM poiché è una condizione eterogenea in cui confluiscono patologie diverse che vanno poi incontro ad evoluzioni eterogenee.

- Introduzione di **descrittori aggiuntivi**: i fenotipi clinici di malattia danno una descrizione statica della malattia, poco rappresentativo in realtà dell'andamento della malattia. Con descrittori quali l'attività di malattia e la progressione di malattia, si riesce a fare un inquadramento dinamico che riesce ad impattare sulla prognosi, sulle scelte terapeutiche e sull'inclusione in trials clinici.

L'attività di malattia riflette la presenza di infiammazione ed è definita da evidenza clinica di una ricaduta di malattia e/o comparsa alle immagini di risonanza magnetica di una nuova lesione nelle sequenze pesate in T2. Il descrittore di attività di malattia può essere applicato sia alle forme remittenti-ricidivante, sia a quelle progressive.

3. Diagnosi

In mancanza di test diagnostici di valore assoluto, la diagnosi di SM è una diagnosi clinica, fondata sulla valutazione dei sintomi e dei segni clinici, che si avvale anche di esami strumentali, quali RM, dell'analisi del liquido cefalorachidiano e dei potenziali evocati visivi.

Altri criteri diagnostici molto importanti sono il criterio di disseminazione temporale e il criterio di disseminazione spaziale.

- Disseminazione temporale: presenza di almeno due episodi di sofferenza focale del Sistema Nervoso Centrale separati nel tempo da almeno un mese; i sintomi devono perdurare per almeno 24 ore e non essere associati a febbre.
- Disseminazione spaziale: compromissione di due diverse aree del Sistema Nervoso.

Sempre maggior importanza nella diagnosi della SM è rivestita dalla RM. Già nel 2001 McDonald et al. [17] intuivano che le lesioni evidenziabili alla RM potessero fornire prove della disseminazione spaziale e temporale, come poi riaffermato da una revisione del 2017 [18]. In funzione di questi dati nel 2007 sono state pubblicate le linee guida per l'utilizzo della RM per la diagnosi, la prognosi e il monitoraggio della SM-RR (MAGNIMS) [19], incluse poi nei criteri di McDonald nella versione del 2010, poi aggiornate nel 2016 e nel 2021.

Secondo i criteri di McDonald nel 2010 [20]:

- La disseminazione nello spazio può essere dimostrata da un numero di lesioni ≥ 1 evidenziate alla risonanza magnetica nelle sequenze pesate in T2 in almeno due aree del Sistema Nervoso Centrale considerate caratteristiche di Sclerosi Multipla tra:
 - Periventricolare
 - Iuxtacorticale
 - Infratentoriale
 - Midollo Spinale

Nei pazienti con sindromi troncali o spinali è necessario escludere dal conteggio le lesioni localizzate nelle aree sintomatiche.

- La disseminazione nel tempo può essere dimostrata da:
 - Almeno una nuova lesione alla risonanza magnetica nelle sequenze pesate in T2 e/o captante il mezzo di contrasto al follow-up confrontata con una scansione al baseline, indipendentemente dal timing del baseline.
 - Presenza simultanea di lesioni captanti e non captanti il mezzo di contrasto asintomatiche

In numerosi pazienti con una sindrome clinicamente isolata, per mezzo di una singola risonanza fatta al momento dell'esordio dei sintomi, l'utilizzo di questi criteri per la dimostrazione della disseminazione spaziale e temporale spesso permette di porre diagnosi di Sclerosi Multipla.

Criteri di McDonald - 2017

Numero di episodi clinici	Numero di lesioni con evidenza clinica obiettiva	Dati aggiuntivi necessari per la diagnosi di Sclerosi Multipla
≥2	≥2	Nessuno
≥2	1 (o con anamnesi positiva per un precedente episodio riferibile a una lesione di una distinta sede anatomica)	Nessuno
≥2	1	Disseminazione nello spazio
1	≥2	Disseminazione nel tempo
1	1	Disseminazione nello spazio e nel tempo

Tabella 3.1 - Criteri di McDonald 2017

I criteri di McDonald sono stati revisionati nel 2017 [18] e sono state apportate alcune modifiche per la determinazione del criterio di disseminazione spaziale; sono state infatti anche incluse le lesioni al tronco encefalico e al midollo spinale, aumentando la sensibilità della diagnosi senza perdere troppa specificità.

Altro strumento utile nella diagnosi è l'analisi del liquido cefalorachidiano. Le alterazioni evidenziabili all'analisi del liquido sono:

- aumento della conta dei leucociti (solitamente >25 cellule per cm^3 , prevalentemente linfociti).
- Valori aumentati delle proteine (solitamente < 1 g/L).
- Aumento delle IgG riferibile alla produzione intratecale (calcolato attraverso l'indice di Link).
- La presenza di bande oligoclonali di IgG (evidenziate tramite tecniche di isoelectrofocusing e immunofissazione).

Secondo i criteri di McDonald del 2017, la diagnosi di Sclerosi Multipla Primariamente Progressiva può essere posta in un paziente che presenta progressione della disabilità da almeno un anno associata a due tra i seguenti criteri:

- Alla risonanza magnetica almeno una lesione ipercaptante evidenziata nelle sequenze pesate in T2 caratteristica per Sclerosi Multipla a livello di:
 - Periventricolari
 - Corticale o iuxtacorticale
 - Infratentoriale
- Alla risonanza magnetica almeno due lesioni ipercaptanti nelle sequenze pesate in T2 a livello del midollo spinale
- Presenza di bande oligoclonali specifiche nel liquido cefalorachidiano

4. Misure di Outcomes radiologiche e cliniche

4.1 Risonanza Magnetica

Dalla sua introduzione la RM si è rivelata un ottimo strumento per la diagnosi e il monitoraggio della progressione della malattia. Le diverse modalità di acquisizione di immagine rendono possibile evidenziare le lesioni tipiche della malattia, le placche, in diverse fasi della loro evoluzione e ha permesso di capire che la malattia è attiva anche quando clinicamente silente.

La comparsa nel parenchima nervoso di placche infiammatorie perivenose che inducono distruzione della mielina è alla base della SM. Queste lesioni della sostanza bianca, ben visibili alla RM, appaiono iperintense in sequenze di densità protonica (DP), T2 e FLAIR, con dimensioni variabili da pochi mm a qualche centimetro di diametro. Queste lesioni sono tipicamente periventricolari o sottocorticali e appaiono meglio evidenti nelle sequenze FLAIR per la sottrazione del segnale del liquor.

Nelle sequenze T1 è importante la somministrazione di contrasto paramagnetico al Gadolinio (Gd); le lesioni acute, con questa metodica, dimostrano un potenziamento del segnale per via dello stravasamento di MdC nello spazio perivasale causato dall'infiammazione

Mezzo di Contrasto

Nella RM l'uso di MdC, costituiti da sostanze paramagnetiche, è importante per la valutazione delle lesioni focali e lo studio di fenomeni dinamici fisiologici e patologici. Queste sostanze sono in grado di modificare i tempi di rilassamento dei nuclei di idrogeno, determinando un aumento del segnale nelle frequenze T1-pesate.

L'elemento chimico più utilizzato come MdC in RM è il Gadolinio (Gd^{3+}) che, per via del suo profilo tossicologico sfavorevole, deve essere utilizzato sotto forma di chelato.

Il MdC è escreto rapidamente per via renale (emivita 10-120 minuti), non si accumula in organi e tessuti ma impone comunque l'obbligo di screening della funzione renale; sono infatti stati segnalati casi di fibrosi nefrogenica sistemica (NSF, *Nephrogenic Systemic Sclerosis*) in seguito alla somministrazione di MdC paramagnetici in pazienti con insufficienza renale acuta o cronica severa.

Figura 4.1-MdC in RM

in atto che determina un danno alla barriera ematoencefalica. Sempre nelle sequenze T1 ma prima della somministrazione del MdC, si possono evidenziare aree ipointense dette “black holes” che rappresentano la perdita di tessuti per danno assonale; la maggior parte di queste aree ipointense, in realtà, inizialmente regredisce, per scomparsa dell’edema o per rimielinizzazione, per poi rimanere immutate quando si instaura il danno irreversibile alla matrice parenchimale.

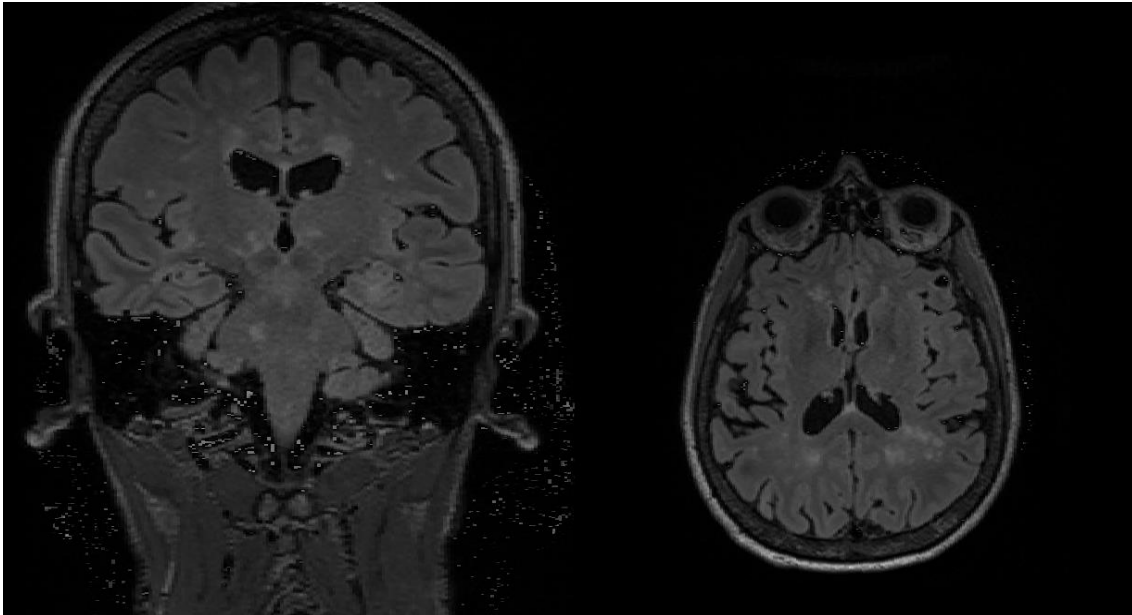


Figura 4.2-Risonanza Magnetica (FLAIR)

Il carico lesionale si fa più importante col progredire della malattia fino al coinvolgimento della sostanza grigia e alla comparsa di atrofia cerebrale, con ingrandimento ventricolare ed ampliamento degli spazi subaracnoidei, mentre sono ormai rare le aree attive potenziate da contrasto.

Nelle fasi avanzate della malattia gli aspetti neurodegenerativi predominano su quelli infiammatori, anche se continua ad esserci infiammazione, non più causata da cellule dell’immunità adattiva (linfociti) e dai monociti ma da cellule dell’immunità innata, soprattutto microglia.

È stato definitivamente dimostrato che la frequenza delle ricadute è correlata all’entità delle aree potenziate da contrasto o di nuove aree iperintense in T2, e che la loro riduzione indotta dalla terapia è predittiva di una riduzione di frequenza delle ricadute [21]. Ciò conferma l’importanza della RM nei trials di fase 2 volti ad identificare terapie in grado di arrestare l’evoluzione della SM.

In conclusione, la RM rappresenta oggi uno strumento irrinunciabile non solo per la diagnosi e lo studio clinico della SM, ma anche per valutare l'efficacia terapeutica delle strategie terapeutiche attuate, alla stregua di un end-point surrogato di malattia.

4.1.1 NAWM

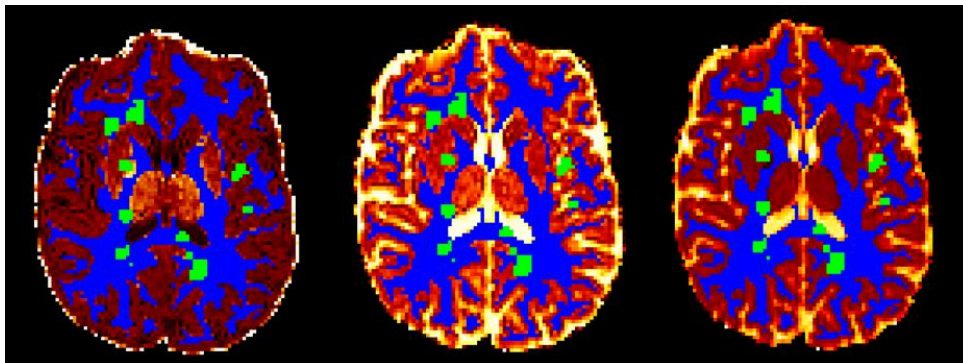


Figura 4.3-NAWM

L'utilizzo di tecniche di RM sempre più sofisticate ha permesso di rendersi conto che la sostanza bianca normale lo è solo all'apparenza. Quella che in inglese viene definita *Normal Appearing White Matter* (NAWM), priva di lesioni alle sequenze RM convenzionali, è in realtà altamente anormale e contiene microglia attivata cronicamente, assoni disfunzionali e degenerati, astrogliosi reattiva e la barriera emato-encefalica risulta compromessa.

Le sequenze utilizzate per l'analisi della NAWM sono sequenze *multishell diffusion* processate seguendo il modello SMT (*Spherical Mean Technique*) (immagine 4.3) in grado di fornire alcuni parametri espressione del contenuto di acqua libera, danno mielinico e danno assonale.

SMT utilizza un modello a due compartimenti che stima le caratteristiche microscopiche specifiche dei compartimenti intra- ed extra-cellulare. Questa tecnica riesce ad individuare la frazione di volume intra-neurite (INTRA), espressione indiretta del grado di danno assonale e distruzione delle fibre nervose, e una diffusività del compartimento extra-cellulare, inclusa la sua diffusività microscopica trasversale (EXTRA-TRANS), espressione indiretta del grado di demielinizzazione del tessuto cerebrale, e la diffusività media (EXTRA- MD), espressione indiretta del contenuto di acqua (da noi associata all'infiammazione) nel tessuto cerebrale.

4.2 EDSS

La scala EDSS (*Expanded Disability Status Scale*) venne sviluppata da John F. Kurtzke [22] come metodo per quantificare la disabilità nella SM. Viene utilizzato per descrivere la progressione della malattia e per valutare l'efficacia degli interventi terapeutici negli studi clinici [23].

La scala EDSS quantifica la disabilità analizzando otto sistemi funzionali (*Functional Systems, FS*) e assegnando a questi sistemi un punteggio di funzionalità (*Functional System Score, FSS*) che va da 0 (ovvero normale funzione neurologica) a 10 (morte per SM). I valori inferiori della scala EDSS misurano le menomazioni in base all'esame neurologico, mentre l'intervallo superiore della scala (EDSS>6) misura gli handicap deambulatori dei pazienti con SM.

La scala EDSS si basa su un esame neurologico effettuato da un medico. Tuttavia, diversi studi [24][25] hanno dimostrato una significativa variabilità sia inter che intra-esaminatore, con differenze tra 1.0 e 2.0 punti. Sono state sviluppate diverse versioni che consentono l'autosomministrazione da parte del paziente [26].

Questa scala ha molti aspetti critici, tra questi il fatto che offre una scarsa valutazione dell'arto superiore e della funzione cognitiva e manca di linearità tra la differenza di punteggio e la gravità clinica. Altra importante limitazione è che si basa fortemente sulla valutazione della funzione motoria e sulla capacità di camminare, tanto che un paziente non più in grado di camminare ma con ancora piena coordinazione agli arti superiori è classificato verso l'estremità grave della scala.

Functional Systems (FS)

- Piramidale
- Cerebellare
- Tronco Encefalico
- Sensorio
- Intestino e Vescica
- Vista
- Cerebrale
- Altri

EDSS

0.0	Esame neurologico normale
1.0	Nessuna disabilità, segni minimi in 1 FS

1.5	Nessuna disabilità, segni minimi in più di 1 FS
2.0	Disabilità minima in 1 FS
2.5	Disabilità lieve in 1 o Disabilità minima in 2 FS
3.0	Disabilità moderata in 1 FS o disabilità lieve in 3 - 4 FS, sebbene completamente deambulante
3.5	Completamente deambulante ma con moderata disabilità in 1 FS e lieve disabilità in 1 o 2 FS; o disabilità moderata in 2 FS; o lieve disabilità in 5 FS
4.0	Completamente deambulante senza aiuto, fino a circa 12 ore al giorno nonostante una disabilità relativamente grave. In grado di percorrere senza aiuto 500 metri
4.5	Completamente deambulante senza aiuto, sveglio per gran parte della giornata, in grado di lavorare un'intera giornata, può altrimenti avere alcune limitazioni della piena attività o richiedere assistenza minima. Disabilità relativamente grave. In grado di percorrere senza aiuto 300 metri
5.0	Deambulatorio senza aiuti per circa 200 metri. La disabilità compromette tutte le attività quotidiane
5.5	Ambulatorio per 100 metri, la disabilità preclude la piena attività quotidiana
6.0	Assistenza costante intermittente o unilaterale (bastone, stampella o tutore) necessaria per percorrere 100 metri con o senza riposo
6.5	Supporto bilaterale costante (bastone, stampella o tutori) necessario per percorrere 20 metri senza riposare
7.0	Incapace di camminare oltre i 5 metri anche con ausilio, essenzialmente limitato a sedia a rotelle, ruote autonome, trasferimenti da solo; attivo in sedia a rotelle circa 12 ore al giorno
7.5	Incapace di fare più di pochi passi, limitato alla sedia a rotelle, potrebbe aver bisogno di aiuto per il trasferimento; ruote autonome, ma potrebbe richiedere una sedia motorizzata per le attività di un'intera giornata
8.0	Essenzialmente limitato a letto, sedia o sedia a rotelle, ma può stare fuori dal letto gran parte della giornata; mantiene le funzioni di cura di sé, uso generalmente efficace delle armi
8.5	Essenzialmente limitato a letto per gran parte della giornata, uso efficace delle braccia, conserva alcune funzioni di cura di sé

9.0	Paziente a letto impotente, può comunicare e mangiare
9.5	Incapace di comunicare in modo efficace o di mangiare/deglutire
10	Morte per SM

Tabella 4.1-EDSS

4.3 NEDA

La disponibilità di nuove ed efficaci terapie per i pazienti con SM-RR ha promosso la rivalutazione di metodiche per la valutazione della risposta al trattamento, sia nei trials che nella pratica clinica. Infatti, piuttosto che concentrarsi sulla riduzione dei tassi di recidiva e sulla progressione della disabilità è emerso il “*No Evidence of Disease Activity*” (NEDA), una misurazione composita, ovvero che tiene conto di diversi parametri contemporaneamente, anche come nuovo potenziale obiettivo di trattamento. Questo poiché le nuove terapie consentono di porsi come obiettivo la completa quiescenza della malattia clinica e radiologica.

NEDA può essere considerato come:

No clinical relapses + no EDSS confirmed disability progression + no MRI activity.

In realtà, una definizione puntuale di NEDA non è possibile in quanto manca una definizione univoca e standardizzata; inoltre non è stato validato da nessuno studio e ciascuno dei componenti di NEDA ha dei limiti. Come rilevato da uno studio di Giovannoni et al., del 2015 [27], una potenziale fonte di bias di questo metodo risulterebbe dal fatto che mentre alcuni componenti possono esercitare un'influenza proporzionalmente maggiore sugli esiti della SM a lungo termine, ciascuno ha lo stesso peso nelle attuali formulazioni NEDA.

Nonostante ciò, in uno studio prospettico longitudinale di Rio et al., [28] la combinazione di misure cliniche dell'attività della malattia e la presenza di nuove lesioni attive alla risonanza magnetica avevano un valore prognostico per identificare l'attività della malattia dopo un anno di IFN-beta terapia. I pazienti con una combinazione di recidiva, progressione della disabilità confermata dall'EDSS e nuove lesioni T2 nel primo anno di trattamento con IFN-beta avevano maggiori probabilità di manifestare recidiva o progressione della disabilità nel secondo e terzo anno di terapia. NEDA è stato utilizzato

anche per confrontare le terapia modificanti la malattia o DMT (*Disease Modifying Therapies*) tradizionali con nuove terapie negli studi clinici testa a testa sulla SM [29].

Per l'applicazione di questa metodica in trails e nella pratica clinica, l'attività della malattia va monitorata con una risonanza magnetica di base seguita da studi di risonanza magnetica ripetuti almeno annualmente per monitorare l'attività subclinica della malattia.

Malgrado alcune limitazioni del metodo e la mancanza di uno standard assoluto, negli ultimi anni NEDA è stata una significativa misura di esito composito negli studi clinici sulla SM e sta iniziando a diventare una considerazione importante anche nella pratica clinica.

4.4 Multiple Sclerosis Functional Composite MSFC

Il *Multiple Sclerosis Functional Composite* (MSFC) è un test quantitativo, standardizzato e ripetibile che analizzasse il malato di SM nella sua complessità e totalità. Viene ormai comunemente utilizzato come test in molti studi sulla SM, con il vantaggio di riuscire a darci uno strumento per una valutazione dei pazienti uniforme e confrontabile tra i diversi studi, poiché i loro punteggi sono standardizzati rispetto a una popolazione comune [30][31].

Questo test riesce ad essere multidimensionale, andando ad analizzare varie arie motorie ma anche le capacità sensoriali nonché cognitive del probando e può quindi essere usato per evidenziare i cambiamenti dei livelli di disabilità nel tempo. Per riuscire nel suo intento, è importante cercare di standardizzare il più possibile anche l'esecuzione del test, sia dal punto di vista ambientale che dal punto di vista dell'operatore che somministra il test.

Il test MSFC è composto da tre componenti:

1. Timed 25-Foot Walk;
2. 9-Hole Peg Test (9-HPT);
3. Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT)

4.4.1 Struttura e componenti del test MSFC

Il test MSFC dovrebbe venire effettuato il più vicino possibile all'inizio dello studio e va somministrato con il seguente ordine:

1. Trial 1, Timed 25-Foot Walk
2. Trial 2, Timed 25-Foot Walk
3. Trial 1, Dominant Hand, 9-HPT
4. Trial 2, Dominant Hand, 9-HPT
5. Trial 1, Non-Dominant Hand, 9-HPT
6. Trial 2, Non-Dominant Hand, 9-HPT
7. PASAT-3''

Bisognerebbe cercare di effettuare il test sempre nella stessa stanza e far camminare al paziente sempre lo stesso percorso. L'esaminatore non deve assolutamente dare indicazioni al paziente riguardo all'andamento del suo test.

TIMED 25-FOOT WALK

Il test della camminata di 25 piedi (7.62 m) è una misura quantitativa della funzione degli arti inferiori. È il componente del test MSFC da cui iniziare ogni volta che si somministra il test. Il paziente viene fatto camminare in linea retta per la distanza del test, cronometrando il tempo richiesto. In seguito gli viene chiesto di ripercorrere il percorso nell'altra direzione, cronometrando anche questa volta il tempo impiegato. Così il paziente avrà concluso i primi due trials del MSFC.

Bisogna chiedere al paziente di eseguire il test alla massima velocità ritenuta dallo stesso sicura; se il paziente ne ha la necessità può usare ausili alla camminata.

9-HOLE PEG TEST

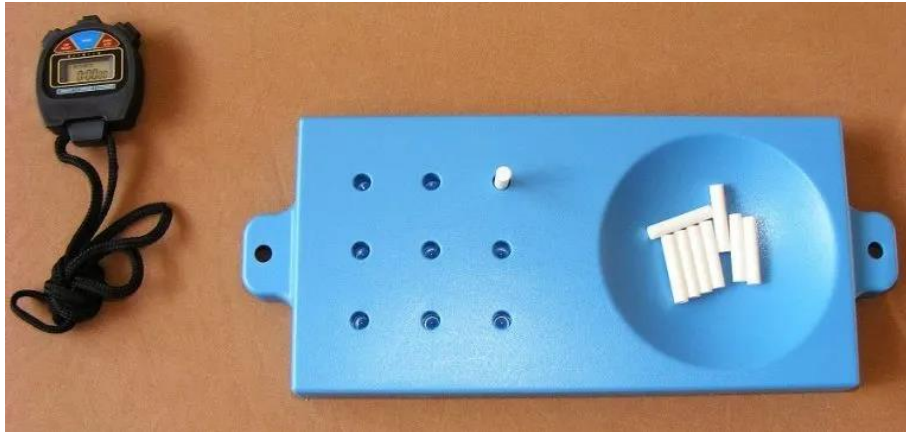


Figura 4.5-9-HPT

È un test quantitativo che ha come scopo misurare la funzione del braccio e della mano. È la seconda componente del MSFC e vengono esaminati due volte sia l'arto dominante che quello non dominante, prima due volte l'arto dominante e subito dopo due volte l'altro.

Lo strumento del 9-HPT è costituito da una tavoletta rettangolare con da un lato 9 pioli e dall'altra metà 9 fori; lo scopo del test è inserire i pioli uno alla volta, utilizzando una sola mano, nei 9 fori e poi ritirarli fuori, sempre uno alla volta, e riporre a posto i pioli. Anche in questo caso il tempo impiegato dal paziente viene cronometrato.

PACED AUDITORY SERIAL ADDITION TEST

Il Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) serve per misurare la funzione cognitiva. È una misura della funzione cognitiva che valuta in modo specifico la velocità e la flessibilità di elaborazione delle informazioni uditive, nonché la capacità di calcolo.

Al paziente viene fatta ascoltare una registrazione dove cifre singole vengono presentate ogni 3' secondi (o ogni 2 secondi per il PASAT-2") e il paziente deve aggiungere ogni nuova cifra a quella immediatamente precedente. Il punteggio del test è il numero di somme corrette date (su 60 possibili) in ogni prova. Per ridurre al minimo la familiarità che potrebbe crearsi facendo ascoltare sempre lo stesso test al paziente, sono state sviluppate due forme alternative; l'ordine di questi dovrebbe essere controbilanciato tra le sessioni di test. Il PASAT è l'ultima misura del MSFC che viene somministrato ad ogni visita.

Creazione del punteggio del MSFC

Per riunificare le tre variabili del test in un'unica variabile, che sia rappresentativa dei cambiamenti che possono avvenire nel tempo al paziente, viene creato un Z-score per ciascun componente e poi viene fatta una media tra questi ottenendo lo score MSFC. In questo modo sarà più evidente quali sono i pazienti che deterioreranno in tutti e tre i domini, poiché il deterioramento di un solo dominio verrà controbilanciato dalla media con gli altri due, mentre, appunto, un deterioramento magari anche più leggero ma diviso equamente tra le varie componenti del test risulterà più impattante nello score generale. MSFC rappresenta quindi una media della salute globale del paziente.

Gli Z-score sono variabili standardizzate, cioè il risultato del paziente viene confrontato e pesato sul risultato medio ottenuto da una popolazione di riferimento. Ciò comporta una decisione su quale popolazione utilizzare come riferimento per derivare le medie e le deviazioni standard per creare gli Z-score. Un metodo possibile per la creazione di Z-score consiste nell'utilizzare i risultati dei test della visita di riferimento di tutti i pazienti in una particolare coorte di studio. Un metodo alternativo consiste nell'utilizzare i risultati dati dal database NMSS Task Force, un database rappresentativo con un ampio spettro di pazienti affetti da sclerosi multipla.

Questo metodo consente un confronto della gravità della malattia nei pazienti che partecipano a diversi studi perché i loro punteggi sono standardizzati rispetto a una popolazione comune.

$$MSFC\text{Score} = \frac{Z_{braccio,media} + Z_{gambe,media} + Z_{cognitivo}}{3,0}$$

Lo Z-score rappresenta la vicinanza di un risultato del test alla media di una popolazione con cui viene confrontato il risultato; il punteggio Z è espresso in unità di deviazione standard. Viene ottenuto sottraendo la media della popolazione di riferimento dal risultato del test e poi dividendo per la deviazione standard della popolazione di riferimento. Poiché lo Z-score è una misura relativa, che non indica una grandezza o un tempo ma indica quanto è lontana l'osservazione che sto compiendo dalla media della popolazione di riferimento, possiamo confrontare misure diverse indipendentemente dalla scala di misurazione sottostante. Gli Z-score rendono quindi possibile combinare i risultati dei test che utilizzano metriche diverse utilizzando una metrica comune.

Come detto precedentemente, possiamo usare differenti coorti per la creazione dello Z-score. Così facendo avremo degli Z-score che possono variare a seconda di quale popolazione scegliamo da confrontare con la nostra coorte. Così facendo, sebbene si possano ottenere Z-score anche molto diversi tra di loro, il rapporto tra la media della variazione e la deviazione standard della variazione rimane costante. Questo permette, in caso di una situazione univariata, di trarre la stessa conclusione relativa al cambiamento indipendentemente dalla popolazione di riferimento.

Pertanto, per ogni singola variabile, la quantità di cambiamento nelle unità standardizzate può differire, ma la significatività statistica di tale cambiamento nel punteggio Z non è influenzata dalla scelta della popolazione standard. Tuttavia, quando diversi punteggi Z vengono combinati nel MSFC, i risultati della media di ciascun componente possono modificare i risultati complessivi, per questo è bene calcolare gli Z-score delle tre componenti del test sempre sulla stessa popolazione standard, così da avere risultati omogenei e soprattutto confrontabili.

4.5 NIH Toolbox: Standing Balance Test

Nell'ambito dello studio, si è deciso di utilizzare il NIH Toolbox: Standing Balance Test per la valutazione dell'equilibrio, un dominio cognitivo risultato dell'integrazione tra diversi sistemi funzionali, come il cervelletto, le vie somato-sensoriali e il sistema vestibolare. Purtroppo, soprattutto il cervelletto, viene colpito nella SM risultando grave fonte di disabilità per il paziente.

Il NIH Toolbox: Standing Balance Test fa parte di una suite di strumenti chiamata appunto NIH Toolbox, costituito da una serie di test utilizzati per la valutazione di diverse sfere neurologiche [32], tra cui quella cognitiva, emozionale, motoria e sensitiva. Viene utilizzato nel follow up dei pazienti e negli studi di ricerca per valutare l'evoluzione nel tempo di alcune malattie attraverso dei test standardizzati. Il Toolbox è diviso in quattro aree e in diversi sottodomini e vi sono test specifici per fasce d'età.

Per quanto concerne lo studio dell'equilibrio, il test specifico prevede il mantenimento di 5 diverse posizioni, per la durata di 50 secondi ciascuna. La sequenza delle diverse posizioni è la seguente

1. Piedi uniti e occhi aperti su una superficie solida

2. Piedi uniti e occhi chiusi su una superficie solida
3. Piedi uniti e occhi aperti su una superficie morbida (“foam”, un tappetino di gomma morbida)
4. Piedi uniti e occhi chiusi su una superficie morbida
5. Piedi in posizione “tandem” (ovvero un piede davanti all’altro toccando con la punta del piede posteriore il tallone del piede anteriore) occhi aperti su superficie solida.

Tutte le posizioni vanno mantenute con le braccia incrociate davanti al petto con le mani all’altezza delle spalle. Il paziente ha due tentativi per ciascuna posizione; il test viene considerato fallito quando il paziente deve lasciare la posizione per evitare la caduta. Nel caso in cui fallisca entrambi i tentativi, il risultato viene interpretandolo come un limite funzionale dato dalla disabilità del paziente.

Gli strumenti che registrano la performance del paziente sono costituiti da: un iPod Touch come rilevatore delle oscillazioni dello stesso e che viene agganciato tramite una apposita cintura direttamente in vita al paziente; e da un iPad che riceve i dati provenienti dall’iPod Touch e che attraverso un apposito software analizza, registra e modifica i dati a seconda dei vari parametri impostati dal somministratore del test.

Lo strumento fornisce come parametro principale il Theta Score, un punteggio grezzo espressione della generica capacità di mantenimento dell’equilibrio. Con questo punteggio il paziente può, a questo punto, venire confrontato con altre popolazioni da cui si estrapola un risultato medio, ottengo così l’Age-Adjusted Scale Score, risultato confrontato con quello di una popolazione della stessa età del paziente, o ancora il Fully-Adjusted Scale Score, questa volta confrontato con la media nazionale.

Nell’ambito della SM, NIH Toolbox: Standing Balance risulta ancora uno strumento sperimentale; nonostante sia confrontato con altri test validati [33] mancano studi longitudinali in popolazioni affette da SM. Ciò nonostante, studi preliminari sembrano suggerirne la validità e l’utilità in ambito di ricerca ma anche nella pratica clinica, data la semplicità e rapidità di utilizzo e l’identificazione precoce di pazienti con deficit cerebellare.

5. Terapie

5.1 Principi di Terapia

La fase iniziale della malattia, infiammatoria, è quella maggiormente controllabile e su cui si deve intervenire con maggior efficacia. La ratio è spegnere l'infiammazione e dare la possibilità alla guaina mielinica di rigenerarsi, prima che l'assone degeneri irreversibilmente. I farmaci utili a questo scopo sono terapie immunomodulanti o immunosoppressive, che riescono a ridurre la frequenza delle ricadute e a rallentare la progressione della disabilità; sono definiti DMT e DMD (*Disease Modifying Therapies o Drugs*) essendo capaci di modificare il decorso naturale della malattia, tanto più questo trattamento è precoce e continuato senza interruzioni [34]. Questi farmaci, seppur diversi tra loro, si concentrano tutti sulla riduzione dell'attività di malattia, intesa come:

- Numero di episodi di ricadute cliniche.
- Comparsa di nuove lesioni alla risonanza magnetica.
- Aumento della disabilità.

Purtroppo, una volta iniziata la fase di progressione, i farmaci attualmente disponibili perdono la loro efficacia; sono state trovate delle terapie sintomatiche in grado di migliorare alcuni sintomi. Risultano anche importanti le terapie riabilitative e le terapie di supporto psicologico, per la presa in carico globale del paziente.

Le DMT non sono approvate per tutte le forme di SM; sono approvati, infatti, per i fenotipi di malattia caratterizzati da una maggior componente infiammatoria, ovvero le forme RR e SP con attività. Nella forma PP, dove domina la componente neurodegenerativa, l'unico farmaco ad oggi approvato è l'Ocrelizumab, che sembrerebbe avere un'attività anche nel rallentare la progressione di malattia.

I DMT possono essere suddivisi in due categorie:

1. Farmaci di prima linea: prevalentemente ad azione immunomodulante, con migliore profilo di sicurezza;
 - Interferoni
 - Glatiramer acetato
 - Dimetilfumarato
 - Teriflunomide
 - Azatioprina
2. Farmaci di seconda linea: prevalentemente ad azione immunosoppressiva, maggiormente efficaci;
 - Fingolimod
 - Natalizumab
 - Alemtuzumab
 - Ocrelizumab
 - Mitoxantrone
 - Ciclofosfamide
 - Cladribina

Per valutare l'efficacia di queste terapie è stato introdotto il concetto di *No Evidence of Disease Activity* (NEDA); questo concetto nasce dalla comprensione che le ricadute clinicamente evidenziabili sono solo una piccola parte in termini di attività globale della malattia. NEDA è definito da:

- Parametri clinici: NEDA-1 e -2, assenza di ricadute e di progressione della malattia
- Parametri RM: NEDA-3, assenza di segni di infiammazione alla RM
- Atrofia alla RM e biomarcatori: NEDA-4 e -5

Altro strumento utile alla valutazione della disabilità e progressione della malattia è la scala EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), in cui si cerca di quantificare l'autonomia residua del paziente.

5.1.1 Terapie Sintomatiche

Con l'avanzare della malattia le ricadute non guariscono completamente e gli esiti di quelle precedenti tendono a sommarsi, pertanto si rende necessaria una terapia sintomatica per migliorare alcuni dei disturbi.

Fatica

La fatica non proporzionata agli sforzi effettuati è uno dei sintomi più frequenti in assoluto nella SM. Tra i farmaci disponibili abbiamo:

- Amantadina
- L-acetilcarnitina
- Modafinil
- Fampridina

Spasticità

La spasticità è una delle principali cause di disabilità, avendo un impatto negativo sulla motilità e più in generale sul sistema locomotore. Rappresenta un problema difficile da trattare, per il quale la terapia farmacologica da sola non basta; le attuali terapie antispastiche dovrebbero, infatti, essere sempre affiancate ad adeguate misure di fisioterapia, per prevenire e ridurre ogni eventuale peggioramento.

Farmaci	Principali effetti avversi
GABA _B -agonisti - Baclofen	Sonnolenza, astenia, vertigini, confusione mentale.
GABA _A -agonisti - Diazepam - Tiocolchicoside	Sedazione, dipendenza Nausea, gastralgie, diarrea

Agonisti α_2 -adrenergici	Sonnolenza, sedazione, xerostomia, ipotensione, aumento enzimi epatici
- Tizanidina	
- Clonidina	
Triciclici antistaminici/anti 5-HT ₂ /Ca ²⁺ -antagonisti	
- Ciclobenzaprina	Sonnolenza, sedazione, xerostomia
- Ciproeptadina	
- Amitriptilina	
Antagonisti Ca ²⁺ -rianodinici	Epatotossicità, ipostenia, faticabilità
- Dantrolene	
Antagonisti SP/Ca ²⁺ /Na ⁺ -antagonisti	Astenia
- Eperisone	
Antiepilettici	Sonnolenza, vertigini
- Gabapentin	
Cannabinoidi THC/CBD	Sonnolenza, vertigini, rallentamento motorio
- Sativex	
Botulinotossina	Ipostenia, produzione di anticorpi neutralizzanti
- Infiltrazioni muscolari	

Tabella 5.1-Farmaci Antispastici

Dolori muscolari e parestesie

Rispondono bene a farmaci antiepilettici in parte attivi anche sul dolore neuropatico come il gabapentin e il pregabalin, ma anche all'amitriptilina a dosi più basse (10 mgx3vv/die)

Disturbi vescicali, intestinali e sessuali

I disturbi vescicali sono dovuti a disfunzioni sfinteriche e risultano spesso difficili da trattare, richiedendo spesso accertamenti urodinamici.

Areflessia del detrusore

- Colinomimetici
- Autocateterizzazione intermittente (ACI)

Iperreflessia del m. detrusore con minzione imperiosa

- Anticolinergici: Tolterodina, Oxibutinina
- Infiltrazione del muscolo con tossina botulinica

Dissinergia detrusore-sfintere

- Anticolinergici: Terazosina
- ACI

Nicturia grave

- Desmopressina spray nasale prima di coricarsi

I disturbi intestinali, nella maggioranza dei casi dominati da stipsi, sono anche questi frequenti ma, rispetto ai sintomi vescicali, si caratterizzano per avere una minore gravità e una migliore risposta ai farmaci.

- Stipsi
 - Dieta ricca di scorie
 - Lassativi emollienti
 - Microclismi
- Incontinenza
 - Addensanti

Tra i disturbi sessuali, la disfunzione erettile trova rimedio nell'utilizzo degli inibitori della fosfodiesterasi-5 come sildenafil.

Terapia neuroriabilitativa

Una fisioterapia specifica è un importante presidio sintomatico e di supporto, utile anche a scopo preventivo. Un preciso programma riabilitativo mirato a precisi obiettivi da raggiungere sembra essere in grado di determinare riorganizzazione funzionale, come suggerito da studi come quello di Bonzano et al. 2014 [35].

Intolleranza al caldo

L'intolleranza al caldo è un tipico sintomo della SM. Non solo, uno dei primi metodi utilizzati per la diagnosi della SM era immergere i pazienti in acqua calda, pratica che consentiva di esacerbare la sintomatologia. Ciò è dovuto alle caratteristiche di demielinizzazione della malattia; infatti, l'aumento della temperatura nelle zone senza mielina causa squilibri elettrochimici, il che porta ad alterazioni della conduzione. Purtroppo non ci sono farmaci efficaci in questo senso ma bisogna istruire il paziente ad attuare dei comportamenti che possono portare a una miglior tolleranza al caldo, dall'applicazione di ghiaccio alle estremità all'utilizzo di vestiario traspirante.

5.2 Fingolimod

Fingolimod è un pro-farmaco ad azione immunosoppressiva approvato per la cura della SM-RR e fu il primo farmaco disponibile in somministrazione orale. È un modulatore del recettore della sfingosina-1-fosfato [36] ed esplica la sua azione sequestrando i linfociti nei linfonodi, impedendo ai linfociti autoreattivi causanti la malattia di migrare nel sistema nervoso ed attuare il danno.

Fingolimod deriva dal principio attivo naturale *myriocin*, isolato da funghi entomopatogeni (*Sinclairii isaria*) per la prima volta nel 1992 da gruppo di ricerca giapponese; da questo composto è stato ottenuto con modifiche chimiche il Fingolimod (FTY720), caratterizzato da migliore tollerabilità rispetto alla molecola naturale.

Nel 2010 il Fingolimod è diventato il primo farmaco orale approvato dalla Food and Drug Administration con il nome Gilenya e venne poi approvato dall'EMA l'anno successivo come terapia della sclerosi multipla recidivante-remittente nei soggetti resistenti all'interferon-beta o nei soggetti con forme di malattia recidivante-remittente grave a rapida evoluzione.

5.2.1 Farmacocinetica

Fingolimod viene efficacemente assorbito per via orale, con un assorbimento maggiore del 90% non influenzato dalla concomitanza tra assunzione e i pasti. Ha un'emivita compresa tra i 6 e i 9 giorni e lo stato stazionario viene raggiunto dopo circa 1-2 mesi di somministrazione giornaliera; ciò riflette il grande volume di distribuzione del farmaco (1200-1700 l) e la relativa lenta clearance (6-8 l/h). Studi sulla somministrazione del farmaco hanno costantemente mostrato come la concentrazione sanguigna di Fingolimod aumenti lentamente fino a raggiungere un plateau tra le 8 e 36 ore, con una C_{max} raggiunta generalmente dopo 12-16 ore, probabilmente a causa di una lenta assimilazione del farmaco dal tratto gastrointestinale [36].

Il farmaco è soggetto a numerose reazioni enzimatiche, tra cui reazioni di fosforilazione che portano alla formazione di Fingolimod-fosfato, il vero principio attivo. Altre reazioni importanti sono quelle legate alla clearance ad opera del citocromo P450 (CYP) 4F2; questo citocromo non è coinvolto nel metabolismo di altri farmaci, per cui sono riportate poche interazioni con Fingolimod. Una di queste avviene con il

ketoconazolo, antifungino imidazolico, che è un inibitore di CYP4F2 e la cosomministrazione causa un aumento delle concentrazioni plasmatiche di Fingolimod e Fingolimod-fosfato.

Dopo singola dose orale l'81% del farmaco viene escreto con le urine sotto forma di metaboliti inattivi, mentre il Fingolimod-fosfato viene interamente escreto con le feci. La farmacocinetica del farmaco non viene alterata in caso di insufficienza renale, mentre in caso di grave insufficienza epatica (Child-Pugh C) va sospesa la somministrazione del farmaco.

5.2.2 Meccanismo d'azione

Fingolimod è un analogo strutturale delle sfingosine e viene fosforilato nel suo principio attivo Fingolimod-fosfato dalla sfingosina chinasi 2 all'interno delle cellule. Il meccanismo di azione del farmaco sembra risiedere nella sua interazione con i recettori delle sfingosine S1PR (S1PR 1-5), presenti in tutto l'organismo. I recettori S1PR 1-3 si trovano nel sistema cardiovascolare, nel sistema nervoso centrale e nel sistema immunitario. L'attivazione di questi recettori sulla muscolatura liscia e nelle cellule endoteliali vascolari regola l'omeostasi della permeabilità cellulare delle cellule endoteliali. L'attivazione dei recettori S1PR 1 sui miociti atriali regola la frequenza cardiaca. Il recettore S1PR 4 è generalmente presente nei tessuti emopoietici e nei linfoidi, mentre il S1PR 5 si esprime nella sostanza bianca del SNC. L'azione del farmaco si esplica, nel particolare, su S1PR 1, altamente espresso dai linfociti sia B che T e dei quali regola l'uscita dagli organi linfoidi. Fingolimod-fosfato induce l'internalizzazione del recettore nelle cellule e porta alla down-regolazione dello stesso, portando a un sequestro dei linfociti nei linfonodi e impedendo così la loro migrazione nel SNC, senza però ridurre alcuna popolazione linfocitaria.

La forma non fosforilata di Fingolimod (FTY720), che è la forma principale del farmaco nell'organismo, è anch'essa una molecola attiva. FTY720 è infatti in grado di impedire ai linfociti T CD8⁺ di uccidere la loro cellula bersaglio agendo sulla via dell'acido arachidonico e non su S1PR, dando ragione dell'aumentata suscettibilità alle infezioni virali ma potrebbe anche essere un ulteriore effetto terapeutico nei riguardi della SM. È stato anche visto come Fingolimod sia in grado di promuovere la differenziazione dei

macrofagi verso il fenotipo M2, ad azione antinfiammatoria, e sembra anche stimolare il processo riparativo gliale dopo le lesioni.

5.2.3 Uso nella SM

Fingolimod è indicato come monoterapia in forme altamente attive di SM-RR per:

- Pazienti con malattia altamente attiva nonostante una terapia completa ed adeguata con un DMT.
- Pazienti con una forma rapidamente evolutiva di SM-RR definita come 2 o più ricadute di disabilità in un anno, e con 1 o più lesioni captanti gadolinio alla RM o un significativo aumento del numero di lesioni T2 rispetto a una RM precedente.

La dose raccomandata è di una pastiglia da 0.5 mg da prendere giornalmente. Bisogna porre attenzione alla prima somministrazione, che va effettuata in ambiente protetto, poiché l'inizio della terapia è associato ad una diminuzione della frequenza cardiaca e ritardi nella conduzione atrioventricolare. La diminuzione della frequenza inizia ad essere evidente un'ora dopo l'assunzione e raggiunge il nadir entro le 6 ore. Per questo motivo a tutti i pazienti deve essere almeno fatto un ECG e misurata la pressione arteriosa prima e dopo le 6 ore dalla prima somministrazione di Fingolimod, nel caso non fosse possibile il monitoraggio continuo di questi parametri per evidenziare la bradicardia.

5.2.4 Efficacia del trattamento con Fingolimod

L'efficacia di Fingolimod nel trattamento della sclerosi multipla è stata dimostrata contro placebo grazie allo studio FREEDOMS (*FTY720 Research Evaluating Effects of Daily Oral therapy in Multiple Sclerosis*) [37] che ha investigato gli effetti del trattamento quotidiano con Fingolimod in formulazione orale per 24 mesi, andando ad analizzare gli effetti in termini di numero di ricadute, progressione di disabilità e lesioni alla RM. I partecipanti allo studio erano stati suddivisi in 3 gruppi col rapporto 1:1:1 tra chi riceveva una dose di 0.5 mg di Fingolimod, chi 1.25 mg e il gruppo placebo. Tutti i pazienti venivano valutati all'inizio dello studio da neurologi indipendenti che valutavano i pazienti attraverso lo score EDSS e il MSFC; lo score veniva poi ripetuto ogni 3 mesi mentre il MSFC ogni 6. Veniva anche eseguita una RM prima dell'inizio dello studio e

poi a 6, 12 e 24 mesi dall'inizio dello studio; anche le RM erano poi analizzate da radiologi indipendenti e non consapevoli dello studio in atto.

Lo studio ha riscontrato:

- Un tasso di recidiva annualizzato di 0.18 con 0.5 mg di Fingolimod, 0.16 con 1.25 mg di Fingolimod contro un tasso di 0.40 nel gruppo placebo ($p < 0.001$)
- Una diminuzione del rischio di progressione di disabilità per entrambe le formulazioni, con un HR di 0.70 e 0.68 per entrambe le formulazioni rispetto al placebo ($p < 0.02$)
- Una diminuzione dei segni di malattia alla RM, sia come numero di nuove lesioni o allargamento di vecchie lesioni nelle sequenze T2-pesate e lesioni captanti gadolinio.

Lo studio FREEDOMS, che ha portato all'approvazione del farmaco, è riuscito a dimostrare come il farmaco sia in grado di migliorare il tasso di recidiva, il rischio di progressione della disabilità e diminuire i segni alla RM.

5.2.5 Eventi avversi e profilo di sicurezza

Sempre lo studio FREEDOMS ha evidenziato effetti collaterali da leggeri a moderati nella maggioranza dei pazienti sottoposti al trattamento. Tra gli effetti collaterali più comuni riscontrati:

- Cefalea
- Incremento degli enzimi epatici
- Influenza
- Diarrea
- Mal di schiena
- Tosse

Eventi avversi maggiori sono stati riscontrati in meno del 1% dei partecipanti allo studio. Tra questi i più importanti riscontrati sono la bradicardia, fino al blocco atrioventricolare ma sempre risoltasi nelle 24h successive alla prima somministrazione

del farmaco e l'edema maculare. Durante lo studio sono anche state riportate delle neoplasie della cute (basalioma, melanoma e morbo di Bowen) ma con un'incidenza simile in tutti e tre i gruppi (3 casi con 0.5 mg di Fingolimod, 4 casi con 1.25 mg di Fingolimod e 4 casi nel gruppo placebo)

5.3 Cladribina

Cladribina è un farmaco che viene assunto oralmente ed è indicato nella cura di pazienti adulti affetti da forme attive di SM-RR. Dal punto di vista chimico è un analogo delle purine che agisce selettivamente sui linfociti. Cladribina, a differenza del nucleotide che va a sostituire, che è l'adenosina, resiste molto di più alla degradazione da parte dell'enzima adenosina-deamylasi, il che causa un accumulo del farmaco nelle cellule e blocca la loro capacità di processare il DNA.

Cladribina venne sintetizzata per la prima volta da Dennis A. Carson negli anni '80 a seguito dei suoi studi condotti insieme a E. Beutler sul legame tra deficit adenosina-deamylasi e ridotta sopravvivenza dei linfociti B. Originalmente Cladribina venne pensata e in primis approvata per la cura dei linfomi a cellule B, in particolare la tricoleucemia o leucemia a cellule capellute; successivamente, a seguito di un lungo processo di approvazione, ricevette nel 2017 l'approvazione da parte dell'EMA all'utilizzo nella SM-RR negli adulti.

5.3.1 Farmacocinetica

Cladribina è approvata nella formulazione orale per il trattamento della SM-RR. La sua biodisponibilità orale è compresa tra il 37 e il 51% e presenta un'emivita compresa tra le 5 e le 20 ore. Ha un'ottima distribuzione anche attraverso la BEE, infatti la sua concentrazione nel liquido cefalorachidiano è il 25% della concentrazione plasmatica; alcuni studi sembrano suggerire che la sua concentrazione nel liquido cefalorachidiano in caso di infiammazione meningea superi quella plasmatica.

Cladribina è un pro-farmaco che necessita di essere fosforilato all'interno delle cellule per essere attivato. Non sembra esserci alcuna correlazione tra i livelli circolanti di Cladribina e la concentrazione dei suoi metaboliti attivi nelle cellule bersaglio, anche se si è notato un aumento dei livelli plasmatici del suo catabolita 2-cloroadenina (CAde) nella somministrazione orale, probabilmente a causa della degradazione del farmaco da parte dell'acidità gastrica o per un effetto di primo passaggio epatico.

Metà della dose somministrata per via endovenosa viene escreta per via urinaria; di questa metà, il 20-35% viene escreto immodificato [38].

5.3.2 Meccanismo d'azione

Cladribina, una volta all'interno delle cellule, viene fosforilato dall'enzima deossicitidina chinasi (DCK) una prima e una seconda volta fino al raggiungimento del composto attivo, 2-clorodeossiadenosina 5'trifosfato (2-CdATP).

Cladribina attivata viene usata nelle vie di sintesi del DNA ma interagisce coi complessi enzimatici di sintesi e di riparazione del DNA stesso e causa blocco della sintesi. A questo punto si attivano i meccanismi di morte cellulare programmata, come l'attivazione di p53 e il rilascio dei citocromi mitocondriali, che portano infine all'apoptosi cellulare.

Un'altra famiglia di enzimi importanti legati al metabolismo di Cladribina è quella dei 5'-nucleotidasi (5'-NT), che sono in grado di defosforilare Cladribina e renderla inattiva. Il rapporto tra DCK e 5'-NT è ciò che determina in realtà la quantità di Cladribina attiva all'interno delle cellule. Si è visto come questo rapporto DCK:5'-NT vari a seconda delle popolazioni cellulari ed è particolarmente elevato nei linfociti T e B, risultando in un'attività mirata contro queste cellule. Questo rapporto è invece più basso in numerose altre linee cellulari, in particolare in quelle non ematologiche che vengono così risparmiate dall'effetto del farmaco. Le cellule col più alto rapporto DCK:5'-NT sono i linfociti B, specialmente quelli dei centri germinativi e naïve, il che rende conto della maggiore vulnerabilità di queste cellule all'apoptosi in seguito alla somministrazione del farmaco [39].

5.3.3 Uso nella SM

Cladribina è indicata nella cura di pazienti adulti con SM-RR altamente attiva, così definita:

- I. Pazienti con una ricaduta nell'anno precedente e al meno una lesione positiva al Gadolinio in sequenze T1 (T1 Gd+) oppure 9 o più lesioni in sequenze T2, mentre erano in terapia con un altro DMT
- II. Pazienti con due o più ricadute nell'anno precedente indipendentemente dal trattamento o anche in mancanza di trattamento.

Cladribina viene somministrata a in periodi di breve durata separati tra loro, poiché l'efficacia del farmaco si estende oltre il periodo di somministrazione. Viene infatti somministrata in due cicli separati da un anno, per un massimo di 20 giorni di trattamento a ciclo. La dose cumulativa consigliata è di 3,5 mg/kg nei due anni, o 1,75 mg/kg ogni anno per due anni. Ogni ciclo di trattamento consiste in 4 o 5 giorni di presa del farmaco al primo mese di trattamento, seguiti da altri 4 o 5 giorni all'inizio del secondo mese; il paziente dovrà poi ripetere il trattamento l'anno successivo, 4 o 5 giorni di trattamento al tredicesimo e al quattordicesimo mese dall'inizio della terapia. La dose che il paziente riceve sono 10 mg o 20 mg al giorno in base al peso.

Prima di iniziare il trattamento con Cladribina il paziente dovrà sottoporsi ad alcuni accertamenti, come esami del sangue, RM e screening per le infezioni, in particolare la ricerca degli anticorpi contro gli Herpesvirus. È apparso da alcuni studi che c'è un aumentato rischio di infezione da parte del virus varicella-zoster, perciò è raccomandata la vaccinazione dei pazienti con anticorpi negativi prima dell'inizio della terapia.

L'uso di Cladribina è controindicato nelle donne in gravidanza e si dovrebbe mantenere in atto una terapia anticoncezionale durante il periodo di trattamento; la gravidanza può essere ricercata a partire dai 6 mesi dopo l'ultima dose di farmaco

5.3.4 Efficacia del trattamento con Cladribina

Lo studio CLARITY (*Cladribine Tablets Treating Multiple Sclerosis Orally*) [40] concluso nel 2010, ha mostrato l'efficacia di Cladribina contro placebo in termini di riduzione di ricadute, disabilità e progressione radiologica, nelle forme altamente attive di SM-RR. I pazienti erano stati divisi in tre gruppi secondo il rapporto 1:1:1 tra chi riceveva Cladribina a 3.5 mg/kg, chi Cladribina a 5,25 mg/kg e chi placebo. La distribuzione del farmaco era a doppio cieco, e in caso di ricadute i pazienti venivano visitati da medici all'oscuro dello studio. La durata dello studio è stata di 96 settimane. È stato osservato:

- Una riduzione del tasso annualizzato di ricadute, rispettivamente 0.14 e 0.15 nei gruppi con Cladribina rispetto al tasso nel placebo di 0.33 ($p < 0.001$).

- La percentuale di pazienti che non hanno avuto ricadute per la durata dello studio è stata del 79.7% e del 78.9% per i gruppi Cladribina contro il 60.9% nel gruppo placebo ($p < 0.001$).
- Una relativa riduzione del rischio di progressione di disabilità a 3 mesi in entrambi i gruppi sotto Cladribina rispetto a placebo, rispettivamente del 33% nel gruppo con Cladribina a 3.5 mg/kg ($p = 0.02$) e del 31% per Cladribina a 5.25 mg/kg ($p = 0.03$).
- Una riduzione degli indici di attività alla RM, come del numero di lesioni per paziente per risonanza magnetica effettuata, con rispettivamente una media di 0.12 e 0.11 per i due gruppi con Cladribina contro 0.91 del placebo per quanto riguarda lesioni in T1 Gd+, e una media di 0.38 e 0.33 contro 1.72 per le lesioni attive in T2 ($p < 0.001$).

Un miglioramento clinico è stato osservato a partire dalla 24esima settimana e analisi a posteriori indicano che l'89% dei pazienti rimane libero da progressione a 2 anni dalla fine del trattamento.

5.3.5 Eventi avversi e profilo di sicurezza

Dallo studio CLARITY è emerso come nei pazienti in cura con Cladribina ci fosse una maggior frequenza di eventi avversi, in particolare linfocitopenia, 21,6% nel gruppo con 3,5 mg come dose di Cladribina e 31,5% nel gruppo a 5,25 mg contro l'1,8% del gruppo placebo, ed infezione da herpes zoster, con 8 e 12 casi rispettivamente contro nessun caso nel gruppo placebo.

La linfocitopenia è dovuta molto probabilmente al meccanismo d'azione del farmaco, che ha come target appunto i linfociti B e T e la riduzione della cascata di eventi immuni centrali. Nel corso di successivi studi clinici e retrospettivi, come la stessa estensione dello studio CLARITY e un nuovo studio chiamato CLARITY EXTENSION, si è cercato di quantificare i casi di linfocitopenia. È emerso che, sebbene una importante quota di pazienti sperimentasse linfocitopenia di grado 0 ($< 1000 \text{ cells/mm}^3$) e di grado 1 ($1000-800 \text{ cells/mm}^3$) con tempi di recupero di una conta normale intorno ai 20-30 giorni, solo 5 pazienti del gruppo a 3,5 mg/kg e 6 nel gruppo a 5,25 mg/kg, senza casi di linfocitopenia di grado 4 ($< 200 \text{ cells/mm}^3$).

Il 47.7% di pazienti in terapia con Cladribina a 3.5 mg e il 48.9% di pazienti con Cladribina al 5.25 mg hanno riportato almeno un evento infettivo durante il periodo dello studio, contro il 42.5% del gruppo placebo, con la maggior parte degli eventi classificati come lievi o moderati (il 99.6%, il 98.6% e il 99.0% rispettivamente). I pazienti che hanno avuto l'infezione da varicella-zoster hanno avuto infezione con principalmente espressione cutanea.

Sono state riportate neoplasie, di natura sia benigna che maligna, nel 1.4% dei pazienti con dose a 3.5 mg e nello 0,9% dei pazienti con Cladribina a 5.25 mg contro nessun caso riportato nel gruppo placebo. Tuttavia, successive comparazioni con una popolazione di riferimento corrispondente dal database del GLOBOCAN *Global Cancer Observatory*, non hanno mostrato un aumento del rischio di malignità nei dati reali a lungo termine.

6. Introduzione

Il decennio passato ha visto la nascita delle prime terapie orali per la SM. Tra queste, Fingolimod e Cladribina sono state estensivamente studiate nei loro effetti, nella loro capacità di bloccare l'insorgenza di nuove ricadute e segni radiologici di malattia. La quasi totalità degli studi condotti si è basata sul confronto tra questi farmaci contro placebo, mentre attualmente mancano studi di confronto diretto tra i due farmaci.

Una metanalisi compiuta da Lopez-Ruiz et al. nel 2021 è stata condotta con lo scopo di valutare l'efficacia e sicurezza di Cladribina rispetto alle altre terapie orali usate nel trattamento della SM-RR. Lo studio non ha evidenziato nessuna differenza significativa tra Cladribina e Fingolimod in termini di profilo di sicurezza, di diminuzione del tasso annualizzato di ricadute (ARR) e di lesioni captanti gadolinio in sequenze T1.

Pertanto l'obiettivo del nostro studio è stato proprio quello di comparare questi due farmaci, sia dal punto di vista clinico sia dal punto radiologico. Per fare ciò si è deciso di utilizzare metodiche convenzionali e avanzate, sia dal punto di vista clinico che radiologico. Altro aspetto importante e unico del nostro studio è stato quello di valutare l'effetto dei due farmaci in una popolazione real-life di pazienti affetti da SM-RR seguiti presso il nostro Centro della Clinica Neurologica di Genova.

Al momento è stata effettuata la comparazione ad 1 anno di follow-up. Siccome il ciclo di cura con Cladribina è considerato completo dopo due anni, questi dati non possono essere comunque considerati definitivi sebbene già indirizzino verso una similitudine negli outcomes per entrambi i farmaci.

6.1 Materiali e Metodi

Sono stati arruolati 23 pazienti in terapia con Cladribina e 20 pazienti in terapia con Fingolimod. Il gruppo in terapia con Cladribina aveva un'età media di 40 anni (con una deviazione standard di 13), mentre i pazienti in cura con Fingolimod avevano un'età media di 36 (deviazione standard 16). Le due popolazioni erano anche bilanciate dal punto di vista del sesso dei partecipanti, con la percentuale di pazienti femmine arruolate in terapia con Cladribina del 56% e una percentuale del 50% per i pazienti in trattamento con Fingolimod.

Dal punto di vista clinico, è stato deciso di utilizzare come parametri per il confronto tra i due farmaci le seguenti misure di esito clinico convenzionali:

- i. EDSS
- ii. T25FW e 9HPT (parte di MSFC)
- iii. ARR
- iv. Stato di nessuna evidenza di attività di malattia (NEDA-3)

Sono inoltre stati utilizzati misure di esito clinico sperimentali come il NIH Toolbox Balance per la valutazione dell'equilibrio.

Dal punto di vista radiologico, è stato deciso di utilizzare come parametri per il confronto tra i due farmaci le seguenti misure di RM convenzionale:

- i. Numero di nuove lesioni in T2/FLAIR
- ii. Numero di nuove lesioni gadolinio positive,
e di RM avanzata
- iii. Atrofia cerebrale globale
- iv. Numero di lesioni corticali
- v. Microstruttura della sostanza bianca apparentemente normale (NAWM).

6.2 Acquisizione MRI

Nello specifico, tutti i pazienti sono stati sottoposti a 3T-MRI Siemens MAGNETOM Prisma (Siemens Healthcare, Erlangen, Germania) al momento dell'inizio del trattamento e a 12 mesi di follow-up (FU).

Il protocollo MRI includeva:

- T2-FLAIR sagittale 3D ((TR/TI/TE): 5000 ms/1800 ms/393 ms; risoluzione 0,4 × 0,4 × 1 mm³);
- MPRAGGIO T1 sagittale 3D (TR/TI/TE: 2300 ms/919 ms/2,96 ms; risoluzione 1 × 1 × 1 mm³);

- Sequenza di imaging spin echo planare rifocalizzato due volte per immagini pesate in diffusione multi-shell (TR/TE: 4500 ms/75 ms; 107 direzioni di diffusione distribuite in 5 shell con b-valore fino a 3000s/mm² più 7 immagini non pesate acquisite con entrambe le direzioni di codifica di fase anteriore-posteriore e posteriore-anteriore; risoluzione spaziale 1,8 × 1,8 × 1,8 mm³).

6.3 Analisi dei dati MRI

Per ciascun paziente è stato effettuato il carico lesionale che ci ha permesso di ottenere il numero e volume delle lesioni della sostanza bianca iperintense in T2/FLAIR e in T1 mediante tecnica di segmentazione automatica mediante Synlab software.

Il calcolo del volume cerebrale globale nei singoli timepoints è stato eseguito mediante il software SIENAX mentre, per la valutazione longitudinale della variazione di volume cerebrale globale (vedi atrofia cerebrale globale) è stato utilizzato SIENA, in grado di fornire il parametro PBVC (*Percentage Brain Volume Change*).

Le lesioni corticali sono state segmentate e calcolate come numero da due differenti rater esperti in neuroimaging della SM ed un report finale è stato raggiunto per consensus.

Infine, per studiare la microstruttura della NAWM, è stato effettuato processing della sequenza multishell diffusion utilizzando il modello SMT (spherical mean technique), in grado di fornire i tre seguenti parametri:

- extraMD, espressione indiretta del contenuto di acqua (vd infiammazione) nel tessuto cerebrale
- extraTRANS, espressione indiretta del grado di demielinizzazione del tessuto cerebrale e
- INTRA, espressione indiretta del grado di danno assonale e distruzione delle fibre nervose.

Per l'analisi statistica è stato utilizzato un test per misure ripetute ANCOVA aggiustato per sesso, età, durata della malattia, EDSS al basale.

7. Risultati

7.1 Dati Demografici e Clinici

Abbiamo arruolato 20 pazienti che iniziavano terapia con Fingolimod con le seguenti caratteristiche demografiche e cliniche:

- età media di 36 anni e deviazione standard (DS) di 16
- prevalenza del sesso femminile del 50%
- EDSS baseline medio di 1.5, con un range che andava da 0 a 5
- Tasso di ricadute annualizzato (ARR) medio i 0.2 (DS 0.4)
- Durata della malattia media di 13 anni (DS 17)

Abbiamo arruolato 23 pazienti che iniziavano terapia con Cladribina con le seguenti caratteristiche demografiche e cliniche:

- età media di 40 anni e deviazione standard (DS) di 13
- prevalenza del sesso femminile del 53%
- EDSS baseline medio di 1.5, con un range che andava da 0 a 4.5
- Tasso di ricadute annualizzato (ARR) medio i 0.4 (DS 0.47)
- Durata della malattia media di 9 anni (DS 9)

Vedere Tabella 1 per i dati demografico-clinici a confronto delle due popolazioni.

Demographic characteristics and disease history			
	Cladribine N=23	Fingolimod N=20	P-value
Mean (SD) age y	40 (13)	36 (16)	<i>ns</i>
Female, n (%)	13 (56)	10 (50)	<i>ns</i>
Median (range) baseline EDSS	1.5 (0-4.5)	1.5 (0-5)	<i>ns</i>
Mean (SD) baseline ARR	0.4 (0.7)	0.2 (0.4)	<i>ns</i>
Mean (SD) disease duration, y	9 (9)	13 (17)	<i>ns</i>

Tabella 7.1-Demografia

Le due popolazioni oggetto di studio non presentavano differenze statisticamente significative al baseline per nessuno dei parametri demografico-clinici studiati, confermando la sostanziale omogeneità dei due gruppi di partenza prima dell'avvio della terapia specifica per ciascun gruppo.

Per quanto riguarda il parametro NEDA-3 a 1 anno di follow-up, 13 pazienti in terapia con Fingolimod hanno mostrato un NEDA-3 (65%), mentre 18 pazienti in terapia con Cladribina hanno mostrato un NEDA-3 (78%). Tale differenza non si è tuttavia mostrata statisticamente significativa.

Dettagliando le diverse componenti del NEDA, nel gruppo in trattamento con Fingolimod c'è stato 1 paziente (5%) che ha lamentato una ricaduta, in 7 pazienti (35%) sono stati trovati segni di attività alla RM e nessun paziente (0%) ha avuto un peggioramento della disabilità. Per quanto riguarda il gruppo in terapia con Cladribina, di questi 1 paziente (4%) ha lamentato ricadute, abbiamo avuto segni di attività di malattia

Clinical outcomes			
NEDA-3 patients at 1-year FU, n (%)	18 (78)	13 (65)	<i>ns</i>
- relapses, n (%)	1 (4)	1 (5)	<i>ns</i>
- MRI activity, n (%)	5 (21)	7 (35)	<i>ns</i>
- disability worsening, n (%)	1 (4)	0 (0)	<i>ns</i>

Tabella 7.2-NEDA-3

alla RM in 5 pazienti (21%) e c'è stato un peggioramento della disabilità per 1 paziente (4%).

Anche in questo caso, per nessuna delle variabili componenti il NEDA-3 è stata osservata una differenza significativa tra i pazienti in Fingolimod e i pazienti in Cladribina a 1 anno di FU. Vedere Tabella 2 per i dettagli.

Per quanto riguarda la variazione di volume cerebrale, anche in questo caso non si dimostra la superiorità di Fingolimod rispetto a Cladribina a 1 anno di FU (% vs %). Vedere Figura 7.1.

MRI OUTCOMES

Figure 1: differences in terms of PBVC during 1-year FU

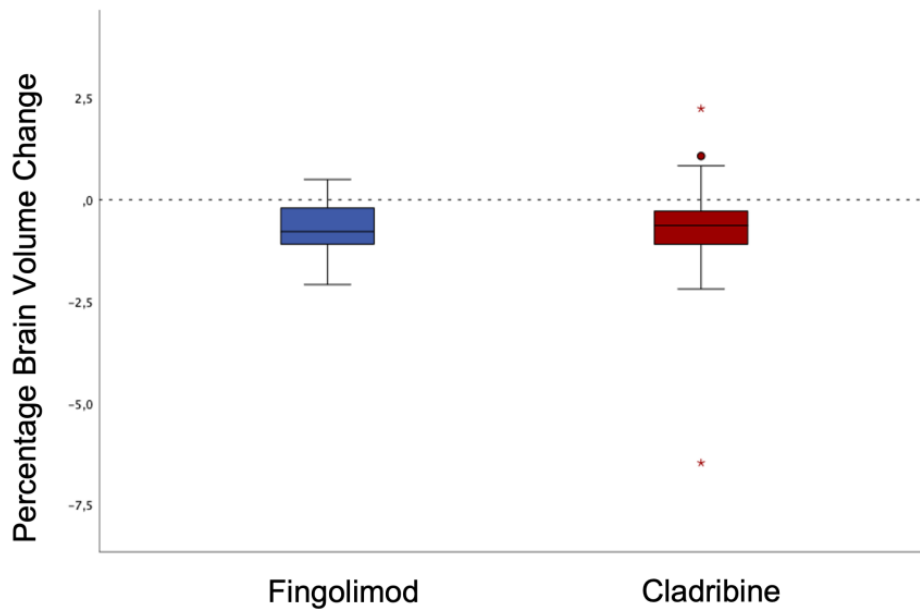


Figura 7.1 – Differenze PBVC

Per quanto riguarda la caratterizzazione microstrutturale della NAWM mediante SMT, per nessuno dei parametri indagati (extraMD, extraTRANS, INTRA) è stata trovata una differenza statisticamente significativa tra i pazienti in Fingolimod e i pazienti in Cladribina, suggerendo che i due farmaci presentano verosimilmente una simile azione sul tessuto cerebrale in termini di infiammazione, demielinizzazione e danno assonale. Vedere Tabella 7.3.

Differences in terms of SMT metrics of NAWM, baseline vs 1-year FU			
	Cladribine N=22	Fingolimod N=18	P-value
EXTRAMD, 10⁻⁶mm²/s	-0.01 (0.04)	-0.01 (0.03)	<i>ns</i>
EXTRATRANS, 10⁻⁶mm²/s	-0.01 (0.06)	-0.01 (0.04)	<i>ns</i>
INTRA	0.01 (0.04)	0.01 (0.02)	<i>ns</i>

Tabella 7.3-NAWM

8. Discussione

L'introduzione delle terapie orali per la cura della SM ha rappresentato un netto miglioramento per la qualità di vita dei pazienti con forme di SM-RR, non solo per quanto riguarda la modalità di somministrazione del farmaco, decisamente più maneggevoli rispetto a una terapia parenterale, ma anche per quanto riguarda l'efficacia della terapia stessa nel controllo della malattia.

Sia Fingolimod che Cladribina sono nati come terapie di seconda linea, cioè pensati per intervenire quando le terapie di prima linea, come l'interferone-beta o il glatimer acetato, perdevano la loro efficacia. Studi sui nuovi farmaci ne hanno però dimostrato non solo l'efficacia nello spegnere la malattia, anche e soprattutto nelle sue forme più attive, ma anche la capacità di mantenerla silente a lungo. Per questo, ora si raccomanda l'uso di terapie modificanti la malattia altamente efficaci come opzioni di prima linea per la maggior parte dei pazienti con SM attiva. Questo approccio sostituisce il metodo tradizionale "*treat to target*" in cui viene utilizzato inizialmente un trattamento di efficacia modesta per poi utilizzare un farmaco più efficace quando si verifica un aggravamento della malattia.

Studi osservazionali suggeriscono che l'uso precoce di una terapia ad alta efficacia migliori i risultati a lungo termine ma sono rari studi che mettono direttamente a confronto direttamente queste nuove terapie. Nel nostro studio si è cercato di mettere a confronto due di questi nuovi farmaci DMT, Fingolimod e Cladribina appunto. Per fare ciò si è ricorso a diverse metodiche per analizzare tutti gli aspetti osservabili caratteristici della malattia. Abbiamo raccolto attraverso misure di esito clinico convenzionali, quali EDSS, MSFC, ARR, NEDA-3, e sperimentali, come il NIH Toolbox Standing Balance, valori baseline all'inizio dello studio da confrontare nel follow-up e a fine dello studio. Un simile approccio è stato utilizzato anche nell'utilizzo della RM, con metodiche di base e convalidate, come l'acquisizione di sequenze T2/FLAIR e sequenze per la valutazione dell'atrofia, ma anche avanzate e sperimentali, come l'analisi microstrutturale della NAWM, sia alla risonanza baseline all'inizio dello studio che nelle RM di follow-up.

L'utilizzo di misure standardizzate e validate risulta importante anche per la possibilità di usare i dati da noi raccolti in confronti con popolazioni provenienti da altri studi.

Altra particolarità del nostro studio è stata la scelta della popolazione. Sebbene la coorte di pazienti sia considerabile piccola, risulta essere, a nostra conoscenza, una delle prime coorti definibile “real-life”, ovvero costituita da pazienti non strettamente selezionati e quindi più indicativa della popolazione generale dei malati di SM.

8.1 Conclusioni

Questo studio risulta essere uno dei primi in cui vengono confrontati direttamente Fingolimod e Cladribina; in particolare l’obiettivo era confrontare l’efficacia di Cladribina con quella di Fingolimod, sul quale, essendo più vecchio, esistono più dati. Guardando tutti i parametri analizzati, non abbiamo osservato una superiorità di Fingolimod rispetto a Cladribina in termini di esiti clinici nella nostra coorte di pazienti con SM-RR. I tassi di atrofia cerebrale dopo 1 anno di FU non differivano significativamente tra i gruppi e i cambiamenti in termini di metrica SMT nel NAWM erano simili in tutta la FU tra Fingolimod e Cladribina.

Il nostro studio è stato anche uno dei primi studi real life che compari questi farmaci con tecniche cliniche e MRI avanzate e i risultati da noi ottenuti suggeriscono la validità di queste metodiche per lo studio e il FU della SM, sia in ambito sperimentale che soprattutto clinico.

Va sottolineato che questo studio non può considerarsi completo, poiché la coorte in trattamento con Cladribina è solo ad 1 anno di terapia; il trattamento con Cladribina viene, infatti, considerato completo dopo 2 anni, quando sono cioè stati eseguiti i due cicli di assunzione, per questo sarà importante vedere i risultati a 2 anni quando terapia si considera completa.

Altro limite da sottolineare è la dimensione delle due coorti, che risultano piuttosto piccole. Al momento queste due coorti sono in corso ampliamento.

Concludendo, non abbiamo osservato una superiorità di Fingolimod rispetto a Cladribina in termini di esiti clinici nella nostra coorte di pazienti con SM-RR real-life; la prosecuzione dello studio e l’ampliamento delle coorti permetteranno di avere dati più statisticamente rilevanti ma già ad oggi possiamo affermare che entrambi i farmaci, Fingolimod e Cladribina, possono entrambi costituire un’ottima opzione terapeutica seppure agendo con meccanismi diversi capace di dare migliori risultati a lungo termine.

Bibliografia

1. *Atlas of Multiple Sclerosis 3rd edition, MSIA, 2020*
2. Simpson, Steve et al. "Latitude Is Significantly Associated with the Prevalence of Multiple Sclerosis: a Meta-Analysis." *Journal of neurology, neurosurgery and psychiatry* 82.10 (2011): 1132–1141.
3. Sabel, Clive E et al. "The Latitude Gradient for Multiple Sclerosis Prevalence Is Established in the Early Life Course." *Brain (London, England : 1878)* 144.7 (2021): 2038–2046.
4. Battaglia, Mario Alberto, and Daiana Bezzini. "Estimated Prevalence of Multiple Sclerosis in Italy in 2015." *Neurological sciences* 38.3 (2017): 473–479.
5. Urru, Silvana AM, Antonello Antonelli, and Giuseppe M Sechi. "Prevalence of Multiple Sclerosis in Sardinia: A Systematic Cross-Sectional Multi-Source Survey." *Multiple sclerosis* 26.3 (2020): 372–380.
6. Chiang, Charleston W K et al. "Genomic History of the Sardinian Population." *Nature genetics* 50.10 (2018): 1426–1434.
7. Coetzee T, Thompson AJ. *Atlas of MS 2020: Informing global policy change. Multiple Sclerosis Journal.* 2020;26(14):1807-1808.
doi:10.1177/1352458520968811
8. Ristori, Giovanni et al. "Multiple Sclerosis in Twins from Continental Italy and Sardinia: A Nationwide Study." *Annals of neurology* 59.1 (2006): 27–34.
9. Dobson, R., and G. Giovannoni. "Multiple Sclerosis – a Review." *European journal of neurology* 26.1 (2019): 27–40.
10. Hollenbach, Jill A, and Jorge R Oksenberg. "The Immunogenetics of Multiple Sclerosis: A Comprehensive Review." *Journal of autoimmunity* 64 (2015): 13–25.
11. Ghasemi, Nazem et al. *Multiple Sclerosis: Pathogenesis, Symptoms, Diagnoses and Cell-Based Therapy. Cell Journal.* 2017, Vol. 19.
12. Hernán, Miguel A. et al. *Cigarette Smoking and Incidence of Multiple Sclerosis. American Journal of Epidemiology.* 2001, Vol. 154.
13. Bjornevik e Ascherio, et al. *Longitudinal analysis reveals high prevalence of Epstein-Barr virus associated with multiple sclerosis. Science.* 2022, Vol. 375.
14. Rizvi, Syed A., Jonathan F. Cahill, and Patricia K. Coyle. *Clinical Neuroimmunology Multiple Sclerosis and Related Disorders.* Ed. Syed A. Rizvi,

- Jonathan F. Cahill, and Patricia K. Coyle. 2nd ed. 2020. Cham: Springer International Publishing, 2020.
15. Klineova, Sylvia et al. *Clinical Course of Multiple Sclerosis. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2018-9, Vol. 8.
 16. Lublin, Fred D. et al. *Defining the clinical course of multiple sclerosis. Neurology*. 2014, Vol. 83.
 17. McDonald, W. Ian et al. *Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: Guidelines from the international panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Annals of Neurology*. 2001, Vol. 50.
 18. Thompson, Alan J. et al. *Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. The Lancet Neurology*. 2018, Vol. 17.
 19. Montalban, X. et al. *MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. Neurology*. 2010, Vol. 74.
 20. Polman, Chris H. et al. *Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria. Annals of Neurology*. 2011, Vol. 69.
 21. Bonzano, L et al. "Gadolinium-Enhancing or Active T2 Magnetic Resonance Imaging Lesions in Multiple Sclerosis Clinical Trials?" *Multiple sclerosis* 15.9 (2009): 1043–1047.
 22. Kurtzke, John F. "Rating neurologic impairment in multiple sclerosis." *Neurology* 33.11 (1983): 1444.
 23. Meyer-Moock, Sandra et al. "Systematic Literature Review and Validity Evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in Patients with Multiple Sclerosis." *BMC neurology* 14.1 (2014): 58–58.
 24. Weinstock-Guttman, B et al. "Additional Efficacy Endpoints from Pivotal Natalizumab Trials in Relapsing-Remitting MS." *Journal of neurology* 259.5 (2012): 898–905. Web.
 25. Goodkin, Donald E., et al. "Inter-and intrarater scoring agreement using grades 1.0 to 3.5 of the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS)." *Neurology* 42.4 (1992): 859-859.
 26. Kaufmann, Marco et al. "Development and Validation of the Self-Reported Disability Status Scale (SRDSS) to Estimate EDSS-Categories." *Multiple sclerosis and related disorders* 42 (2020): 102148–102148. Web.
 27. Giovannoni, Gavin et al. "Is It Time to Target No Evident Disease Activity (NEDA) in Multiple Sclerosis?" *Multiple sclerosis and related disorders* 4.4 (2015): 329–333.

28. Montalban, Xavier, Jordi Río, and Manuel Comabella. "Predicting Responders to Therapies for Multiple Sclerosis." *Nature reviews. Neurology* 5.10 (2009): 553–560.
29. Kalincik, Tomas et al. "Defining Reliable Disability Outcomes in Multiple Sclerosis." *Brain (London, England : 1878)* 138.11 (2015): 3287–3298.
30. Meyer-Moock, Sandra et al. "Systematic Literature Review and Validity Evaluation of the Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) in Patients with Multiple Sclerosis." *BMC neurology* 14.1 (2014): 58–58.
31. Fischer, J S et al. "The Multiple Sclerosis Functional Composite Measure (MSFC): An Integrated Approach to MS Clinical Outcome Assessment." *Multiple sclerosis* 5.4 (1999): 244–250.
32. Reuben, David B et al. "Motor Assessment Using the NIH Toolbox." *Neurology* 80.11 Suppl 3 (2013): S65–S75.
33. Peller A, Garib R, Garbe E, Komforti D, Joffe C, Magras A, Trapuzzano A, Stock MS, Dawson NT. Validity and reliability of the NIH Toolbox® Standing Balance Test As compared to the Biodex Balance System SD. *Physiother Theory Pract.* 2022 Jan 23:1-7. doi: 10.1080/09593985.2022.2027584. Epub ahead of print. PMID: 35068342.
34. Chalmer, T. A. et al. "Early Versus Later Treatment Start in Multiple Sclerosis: a Register-based Cohort Study." *European journal of neurology* 25.10 (2018): 1262–e110.
35. Bonzano, Laura et al. "Upper Limb Motor Rehabilitation Impacts White Matter Microstructure in Multiple Sclerosis." *NeuroImage (Orlando, Fla.)* 90 (2014): 107–116.
36. David, Olivier J., John M. Kovarik, and Robert L. Schmouder. "Clinical Pharmacokinetics of Fingolimod." *Clinical pharmacokinetics* 51.1 (2012): 15–28.
37. Kappos, Ludwig et al. "A Placebo-Controlled Trial of Oral Fingolimod in Relapsing Multiple Sclerosis." *The New England journal of medicine* 362.5 (2010): 387–401.
38. Liliemark, Jan. "The Clinical Pharmacokinetics of Cladribine." *Clinical pharmacokinetics* 32.2 (1997): 120–131.
39. Leist, Thomas P., and Robert Weissert. "Cladribine: Mode of Action and Implications for Treatment of Multiple Sclerosis." *Clinical neuropharmacology* 34.1 (2011): 28–35.

40. Giovannoni, Gavin et al. "A Placebo-Controlled Trial of Oral Cladribine for Relapsing Multiple Sclerosis." *The New England journal of medicine* 362.5 (2010): 416–426.