

Se i protocolli "tollerogenici" sono ancora allo studio, molte sono le novità che riguardano la riduzione delle complicità della terapia immunosoppressiva e la possibilità di migliorare la compliance attraverso diverse combinazioni di molecole vecchie e innovative.

# Le nuove vie per migliorare la tolleranza ai trapianti

**Maria Rita Montebelli**

La scelta di un protocollo immunosoppressivo nella pratica clinica si basa su una serie di considerazioni che riguardano l'organo trapiantato, il pericolo del rigetto, la tossicità che ci si attende da una certa terapia, l'immunotossicità, la tolleranza che ci si attende dal paziente sul quale viene trapiantato l'organo. Oggi sono disponibili nuove molecole immunosoppressive dotate di diversi meccanismi d'azione, che consentono di mettere a punto protocolli con quantità minime di steroidi o che addirittura permettono di farne a meno. La possibilità di associare altri farmaci con gli anti-calcineurina (ciclosporina e tacrolimus) permette di ridurre gli effetti tossici degli uni e degli altri.

Ma l'obiettivo più inseguito rimane, al momento, quello di trapiantare organi che siano "tollerati" dal ricevente e che, come tali, non richiedano terapia immunosoppressiva. Il gruppo di Pittsburgh sta lavorando molto a questo progetto e ha di recente messo a punto un particolare protocollo a base di tacrolimus che permette di operare una

graduale e sostanziale riduzione della terapia immunosoppressiva. «I protocolli attualmente a disposizione», spiega il professor **Mario Regazzi**, Dipartimento di farmacologia, IRCCS policlinico S. Matteo di Pavia, «sfruttano i diversi meccanismi d'azione dei farmaci immunosoppressivi (possibilità di interagire con i recettori delle cellule, per attivare la reazione immunologica; la possibilità di alterare il traffico e l'arruolamento delle cellule che sono normalmente coinvolte nei processi di rigetto; interferenza con i meccanismi di segnale della reazione di rigetto). In questi ultimi anni la ciclosporina, pietra miliare della terapia immunosoppressiva, è stata via via sostituita dall'impiego di nuove molecole.

## Anticorpi monoclonali

Di recente, poi, sono stati introdotti nella pratica clinica gli anticorpi monoclonali, soprattutto nella fase di induzione, e lo sforzo della ricerca, che trova già un'applicazione pratica in molecole come gli anti CD-25, è teso verso la possibilità di passare da queste molecole ad anticorpi umanizzati, dotati di emivita più lunga, fatto che consenti-

rebbe di ridurre il numero di somministrazioni. Anche la possibilità di arrivare un domani a una tollerogenicità del trapianto, è legato al fatto di avere a disposizione questi anticorpi monoclonali». I protocolli immunosoppressivi che si utilizzano prevedono la combinazione di una serie di molecole, la cui scelta è determinata dalle scuole di pensiero, dalle condizioni del paziente

## LE NOVITÀ PRINCIPALI

- Nuovi agenti immunosoppressivi
- Protocolli senza steroidi
- Terapie di combinazione con inibitori della calcineurina
- Protocolli "tollerogenici"

e dell'organo trapiantato. Generalmente questi protocolli prevedono l'associazione di un antimetabolita (per es. azatioprina) con gli steroidi e la ciclosporina, oppure l'FK 506 con il micofenolato (MMF) e gli steroidi; i vari protocolli prevedono l'impiego di anticorpi monoclonali o di nuove molecole combinate. È possibile ottimizzare questi

## ENZIMI E GLICOPROTEINE POSSONO PREDIRE IL RIGETTO

Al momento attuale, al contrario di alcuni settori dell'oncologia, con gli immunosoppressivi non è ancora possibile prevedere se il paziente risponderà alla terapia. Non esiste ancora un test applicabile in clinica in grado di far prevedere se un paziente assorbirà molto o poco, metabolizzerà rapidamente o no. Ciononostante, negli studi di farmacogenetica, si sono acquisite importanti informazioni che probabilmente, nell'arco di qualche anno, porteranno a una selezione più specifica dei pazienti, non solo rispetto alla possibilità di rispondere alla terapia, ma anche in relazione al dosaggio da somministrare al singolo paziente. I target, per quanto riguarda la farmacocinetica, sono soprattutto due: il citocromo P450-3A e la P-glicoproteina. Il citocromo P450-3A ha un enzima epatico e uno intestinale. Una volta si pensava che il metabolismo 'importante' risiedesse solo a livello epatico, mentre negli ultimi anni si è scoperto che c'è un metabolismo altrettanto importante a livello intestinale. E' come se nell'intestino fosse schierata una truppa: sul fronte c'è la P-glicoproteina (la proteina di trasporto che espelle i tossici)

mentre nelle retrovie ci sono degli enzimi deputati al metabolismo. Questi due soggetti sono sincronizzati, cioè sono stimolati più o meno in modo sincrono. Dato che la quantità di farmaco che entra nell'organismo dipende da quanto farmaco riesce a passare queste barriere, allora, poter capire l'intensità della presenza di questi enzimi o delle P-glicoproteine, in un soggetto rispetto a un altro, è importantissimo. E la variabilità di questa presenza è dovuta soprattutto a fattori genetici. Le persone di colore, gli afro-americani ad esempio, hanno un'elevata presenza di queste proteine, per cui somministrando la stessa dose di ciclosporina a un soggetto di razza caucasica e a un afro-americano, si ha un'incidenza di rigetto elevatissima nei secondi. Questo aspetto della capacità di assorbire e di metabolizzare a livello intestinale è dunque importantissima e rappresenta la variabilità più ampia riscontrabile tra i vari soggetti. Riuscire a tipizzare i polimorfismi in ogni soggetto sarebbe una grossa conquista anche perché permetterebbe di raggiungere la concentrazione target del farmaco in un tempo più breve.

Oggi sono disponibili nuove molecole immunosoppressive dotate di diversi meccanismi di azione che consentono di mettere a punto protocolli con quantità minime di steroidi da associare o che addirittura consentono di farne a meno.

protocolli, migliorando l'utilizzo dei farmaci che abbiamo a disposizione. In questi anni si è assistito a un maggior impiego del tacrolimus e degli anticorpi monoclonali (daclizumab, basiliximab, e soprattutto timoglobuline) in trapiantologia ed è possibile individualizzare i regimi posologici di questi farmaci. Il prossimo traguardo è quello di affrontare i concetti di farmacogenetica nella pratica clinica e capire fin dove possiamo veramente applicarli nella cura del singolo paziente.

Per molti di questi farmaci è noto che il segreto della variabilità interindividuale è legato ai processi di assorbimento, del metabolismo e dell'interazione con proteine di trasporto, quali la P-glicoproteina. Per alcuni di questi farmaci sono stati già identificati dei polimorfismi, sia relativi al metabolismo, sia

ad alcuni geni come quelli responsabili della produzione di P-glicoproteina, che determinano la variabilità dell'assorbimento.

### Polimorfismi

Per quanto riguarda la P-glicoproteina, ad esempio, sono stati individuati almeno 4 polimorfismi (nell'esone 1, sostituzione di una guanidina con una citidina, o nell'esone 12 sostituzione di una guanidina con una timina, nell'esone 21 sostituzione di una guanidina con una timida, adenina e nell'esone 26). Di queste sostituzioni, che possono ritrovarsi anche tutte nello stesso paziente, una in particolare (il 2677) è in grado di modificare la struttura della P-glicoproteina e quindi la sua funzione. «La presenza di questo polimorfismo», spiega Ragazzi, «determina un maggior assorbimento del farma-

co, del quale è dunque possibile, e anzi opportuno, ridurre il dosaggio. Questa è una delle strategie che permette di conoscere a priori quali pazienti risponderanno alla terapia, in modo favorevole, alle dosi standard, e quali invece non risponderanno o andranno incontro a fenomeni di tossicità.

Un altro obiettivo è quello di migliorare la compliance dei pazienti, modificando i farmaci a disposizione. Per il tacrolimus, ad esempio, sta per essere immessa sul mercato una formulazione a rilascio modificato che ne consente la somministrazione una volta al giorno. «Si tratta di un fattore quanto mai importante», afferma Ragazzi, «perché in questo campo una scarsa compliance favorisce il rischio di rigetto dell'organo trapiantato. Anche la funzionalità renale dei pazienti che rispettano le indi-

cazioni di prescrizione è migliore di quelli meno complianti, così come pure la sopravvivenza. Questo vale per tutti i tipi di trapianti». Le statistiche parlano di percentuali oscillanti tra il 13 e il 27 per cento di perdita d'organo legata alla mancata compliance. L'obiettivo dello sviluppo di queste nuove formulazioni farmacologiche è quello di realizzare una somministrazione 'once a day'. Due studi clinici hanno già attestato l'efficacia del tacrolimus in questa formulazione ritardata. Il profilo farmacocinetico e la tollerabilità del farmaco, in particolare, sono risultati confrontabili a quelli della somministrazione tradizionale, due volte al giorno.

Un altro filone di ricerca riguarda

#### POSSIBILI VANTAGGI DELL'FK778 NELLA TERAPIA ANTIRIGETTO

- **Nuovo meccanismo d'azione**
- **Inibizione della via della sintesi delle pirimidine**
- **Inibizione del recettore della tirosin-chinasi**
- **Blocco della risposta immune umorale e cellulare**
- **Prevenzione del rigetto acuto**
- **Può prevenire/invertire la progressione del rigetto cronico**
- **Effetti additivi/sinergici con le CNI/potenziale combinazione con vari agenti immunosoppressivi**
- **Moderato effetto anti-virale contro il CMV e il poliomavirus**

la possibilità di somministrare farmaci immunosoppressivi in condizioni diverse da quelle del trapianto di rene o fegato. «Spesso nella pratica clinica», continua Regazzi, «ci ritroviamo a usare farmaci fuori indicazione. E' necessario, dunque, che vengano impostate ricerche anche in questa direzione. Uno studio condotto sul trapianto di cuore, ad esempio, ha consentito di estendere l'indicazione alla terapia con tacrolimus nei pazienti sottoposti a questo tipo di trapianto; nei soggetti trattati con tacroli-

#### TACROLIMUS 'MR-4'

Il tacrolimus a rilascio ritardato (MR-4), in somministrazione orale once a day sarà disponibile in Italia solo tra qualche anno. È ampiamente dimostrato che maggiori sono le somministrazioni di un farmaco durante la giornata, più bassa è la compliance del paziente. La possibilità di avere un farmaco somministrabile once a day, garantisce di ridurre quella percentuale di perdita degli organi trapiantati, legata alla scarsa compliance del paziente che subentra dopo qualche mese dal trapianto. Dagli studi riportati, il farmaco in questa formulazione, sia nel trapianto di rene sia in quello di fegato, garantisce un'equivalenza equivalente a quando viene somministrato due volte al giorno, rappresentando quindi un grosso vantaggio per il paziente.

mus è stata peraltro rilevata un'incidenza di ipertensione e di dislipidemia più bassa, accanto a una più elevata di diabete, rispetto al gruppo trattato con ciclosporina.

Si trattava del primo studio di confronto tra il tacrolimus e la ciclosporina nel trapianto cardiaco all'interno di un regime a tre farmaci. Il tacrolimus ha prodotto risultati migliori in termini di prevenzione del rigetto, sia di basso sia di alto grado, senza aumentare allo stesso tempo il tasso di infezioni. Successivamente, grazie a una maggiore confidenza con la molecola, è stato possibile ridurre le concentrazioni plasmatiche, riducendo così anche l'incidenza dell'effetto diabetogeno degli anticalcineurina.

#### Minore tossicità

Si ripropone dunque, anche in questo caso, la necessità di mettere a punto dei protocolli che riducano al minimo la tossicità dei farmaci immunosoppressivi. Un obiettivo prioritario, ampiamente condiviso, è quello di arrivare a eliminare appena possibile gli steroidi, visto il loro importante effetto diabetogeno. Lo studio Carmen che ha confrontato il protocollo TAC/MMF/daclizumab con quello TAC/MMF/steroidi ha rilevato la comparsa di diabete rispettivamente nel 2,5 e nel 7,9 per cento dei pazienti. Analogamente lo studio Master, che ha confrontato TAC/daclizumab versus TAC/steroidi ha rilevato una comparsa di

diabete nel 5,7 per cento dei pazienti del primo gruppo, contro il 15,3 per cento del secondo gruppo. Questi studi, dunque, dimostrano come il ridurre o eliminare gli steroidi non aumenti l'incidenza di rigetto, non comprometta la funzionalità dell'organo e consenta di ridurre al minimo l'insorgenza di diabete. Non sappiamo però ancora, per la breve durata dei follow up, se l'eliminazione degli steroidi da questi protocolli possa configurare un rischio a lungo termine per l'organo trapiantato.

#### EFFETTI TOSSICI DELLE TERAPIE IMMUNOSOPPRESSIVE

- **CORTICOSTEROIDI:** cataratta, ipertensione, iperglicemia, osteoporosi, habitus cushingoide, ritardo di accrescimento
- **CICLOSPORINA:** nefrotossicità, ipertensione, neurotossicità, epatotossicità, iperlipemia, irsutismo, iperplasia gengivale, iperglicemia
- **TACROLIMUS:** nefrotossicità, ipertensione, neurotossicità, epatotossicità, iperlipidemia, iperglicemia, alopecia
- **MICOFENOLATO:** mielosoppressione, nausea, diarrea
- **SIROLIMUS:** trombocitopenia, ipercolesterolemia, ipertrigliceridemia

Una delle strategie efficaci, nel frattempo, può essere quella di ridurre il dosaggio degli anti-calci- neurina, associandoli ad altre molecole, quali micofenolato e rapamicina (sirolimus). Questo è strettamente dipendente dalla disponibilità di un'induzione molto più marcata, ottenuta prevalentemente attraverso molecole come gli anticorpi monoclonali (gli anti-CD 25, ad esempio) che hanno reso possibile ridurre le dosi di anticalci- neurina del 50 per cento rispetto a quelle normalmente utilizzate, senza avere ricadute negative sulla percentuale di rigetti. La revisio-

sui vasi e non determina proteinuria, riduce la produzione anticorpale e influenza in diversi modi la funzione delle citochine, fatto importante sia nel rigetto acuto sia in quello cronico. Un effetto 'ancillare' interessante di questa molecola è quello di avere attività anti-virale diretta, in particolare contro il citomegalovirus (CMV), oltre che contro il poliomavirus. Quindi, oltre all'attività immunosoppressiva, la molecola presenta anche un'attività anti-retrovirale, diversa da quella del ganciclovir (interferisce con l'assemblaggio del virione e quindi con la sintesi delle proteine)».

zione. E' vero, infatti, che l'incidenza di rigetti acuti si è oggi ridotta ormai a meno del 20 per cento, ma non bisogna dimenticare l'importante quota di complicanze derivanti della terapia immunosoppressiva. Inoltre si riscontrano ancora importanti percentuali di perdita dell'organo trapiantato a lungo termine e di tossicità a lungo termine, anch'essa conseguente alla terapia immunosoppressiva. «L'obiettivo più inseguito dalla comunità scientifica internazionale», afferma Regazzi, «è quello di riuscire a indurre la tolleranza dell'organo trapiantato. Per quanto ri-

## STUDIO CLINICO DI FASE III CONDOTTO SULL'FK-778

Si è appena concluso uno studio clinico multicentrico europeo sui trapiantati di reni. In questo trial l'FK-778 è stato utilizzato insieme al tacrolimus a basse dosi, ad alte dosi e versus placebo. Il dosaggio della molecola è stato progressivamente scalato nel tempo, fino a raggiungere i target di concentrazione. Il farmaco ha determinato un trend di riduzione del rigetto sia nelle biopsie effettuate localmente sia in quel-

le centralizzate, anche se la differenza non è risultata statisticamente significativa. Una differenza significativa è invece emersa selezionando i pazienti che avevano raggiunto il target di concentrazione già nelle prime due settimane dal trapianto. Il trattamento con FK-778 è, dunque, efficace nel ridurre i rigetti e ha come effetto tossico la comparsa in alcuni pazienti di un'anemia reversibile.

ne dei protocolli di questi ultimi anni, ha evidenziato un grande aumento dell'associazione del micofenolato con i farmaci anticalci- neurina. Allo stesso tempo è stato dato grande impulso alla ricerca di altri farmaci da poter associare agli anticalci- neurina. «Uno di questi», prosegue Regazzi, «è l'FK-778, una malononitrilamide, derivato della leflunomide. Il farmaco interviene sulla sintesi delle pirimidine, inibendo in particolare l'attività della diidro-orotato deidrogenasi (DHODH) e bloccando, quindi, la sintesi dell'uridina monofosfato (UMP). La molecola ha diversi meccanismi d'azione, tra i quali anche quello di inibire il recettore della tirosin-kinasi, importante nella prevenzione del rigetto acuto. L'FK-778 è metabolizzato soprattutto dal citocromo P450. Il farmaco presenta un effetto protettivo

Il futuro delle strategie terapeutiche anti-rigetto si basa dunque sulla possibilità di combinare diverse molecole; il percorso delle strategie di protocollo fino ad oggi adottate vede il passaggio, lento ma costante, da una terapia immunosoppressiva ad alte dosi, al tentativo di applicare protocolli tollerogenici, cioè che rendano l'organo trapiantato 'tollerato' dal ricevente. E questo utilizzando il minor numero di farmaci possibile o eliminandoli addirittura.

### Nuovi protocolli

Se fino a ieri i protocolli immunosoppressivi miravano a ottenere una marcata immunosoppressione, la tendenza attuale è quella di ridurre al minimo il grado di immunosoppressione, sfruttando una combinazione dei diversi meccanismi d'azione dei farmaci a dispo-

guarda i protocolli tollerogenici, l'impostazione di Pittsburgh è ancora molto discussa, nel senso che non abbiamo ancora degli strumenti per identificare quei pazienti che potrebbero, anche dopo un breve periodo di induzione, fare a meno dei farmaci. Il protocollo di Pittsburgh prevede per esempio di scalare la somministrazione di inibitori della calcineurina da due volte al giorno, a una volta al giorno, a una volta a giorni alterni, fino a una volta la settimana; in questo modo si pensa di stimolare il chimerismo, cioè l'adattamento tra il graft e il paziente, cosa che è soggetta a numerosi distinguo: se parlo di fegato o di intestino, infatti, trapianto anche molti linfonodi, cioè cellule del donatore che si distribuiscono nell'organismo del ricevente e quindi determinano il chimerismo; ma se trapianto cuore

INFEZIONI VIRALI LEGATE AGLI IMMUNOSOPPRESSORI

La terapia immunosoppressiva attuale sta valicando la linea di sicurezza sul fronte del rischio infettivo. Mentre infatti il rischio relativo di sviluppare un tumore nei trapiantati è oggi pari a 1,8, la prevalenza a 5 anni delle infezioni virali in questa popolazione di pazienti è pari al 30-40 per cento secondo alcune stime. Queste infezioni sono sostenute prevalentemente da citomegalovirus (CMV), virus della varicella-zoster, herpes, poliomavirus, HBV e HCV. Il poliomavirus può dare problemi gravi anche nel 70 per cento dei trapiantati di rene.

o polmone non possono indurre il chimerismo».

Un obiettivo più a portata di mano è quello di ridurre le complicanze della terapia immunosoppressiva e la percentuale di rigetti cronici (che in alcuni casi porta anche al 40 per cento di re-trapianti). Il problema che si pone con i nuovi farmaci immunosoppressivi è che i protocolli clinici possono verificare l'efficacia dei farmaci solo nel breve termine, ovvero sul rigetto acuto. Ma i rigetti acuti, ormai, sono ridotti al minimo anche con i farmaci attualmente a disposizione; non sarà quindi facile individuare nuovi farmaci dotati di un'efficacia superiore a quelli attuali perché l'endpoint rigetto acuto è già ridotto come percentuale a una quota molto bassa. A lungo termine, gli endpoint sono la riduzione delle complicanze cardio-vascolari determinate dalla terapia immunosoppressiva (ipertensione, ipercolesterolemia), in particolare dagli steroidi che sono farmaci diabetogeni. Un altro modo per diminuire le complicanze è quello di ridurre il dosaggio dei farmaci pietra miliare della terapia immunosoppressiva,

STEROIDI: TENDENZA ALLA RIDUZIONE

Un passo importante fatto in questi ultimi anni è stato quello di ridurre al minimo gli steroidi nei protocolli immunosoppressivi. L'eliminazione degli steroidi dai protocolli terapeutici rappresenta probabilmente un obiettivo che si raggiungerà in futuro ma non c'è ancora un follow up sufficientemente lungo che garantisca la presenza di una reale utilità nel lungo termine, derivante dalla loro eliminazione. Ma allora perché esporre il paziente al rischio di complicanze a lungo termine, togliendogli gli steroidi e trattandolo magari con una terapia immunosoppressiva più marcata, se non sappiamo ancora quali saranno le ricadute a lungo termine sul funzionamento dell'organo trapiantato? Finché non saranno disponibili studi di follow up a lungo termine che dimostrino il vantaggio di eliminare gli steroidi, la tendenza è quella di limitarsi a ridurre al massimo la loro somministrazione, senza eliminarli del tutto.

ovvero gli inibitori della calcineurina, (ciclosporina o tacrolimus) e associarli ad altri farmaci (micofenolato, FK-778 - attualmente in fase III di sperimentazione) che non hanno gli stessi effetti collaterali, in particolare la nefrotossicità. Sia gli steroidi che un'importante immunosoppressione comportano inoltre un importante rischio di infezione. Nei trapiantati, per esempio, si hanno importanti tassi di infezione da CMV, correlati a un'immunosoppressione troppo spinta. Una caratteristica particolare dell'FK-778, è che questa molecola, oltre all'effetto immunosoppressivo

presenta anche un'importante azione contro il CMV, una delle infezioni più frequenti nei trapiantati. L'infezione da CMV viene normalmente trattata con farmaci quali ganciclovir, foscarnet, cidofovir che, tra l'altro, presentano tutti effetti tossici additivi con la terapia immunosoppressiva.

Avere a disposizione un farmaco con attività immunosoppressiva e anti-CMV sarebbe importante anche perché permetterebbe di risparmiare, o almeno ridurre, la somministrazione dei farmaci utilizzati nella profilassi e nel trattamento del CMV.

