

Steven Pipe: Sono il dott. Steven Pipe. Sono un pediatra ed ematologo e professore di Pediatria e Patologia presso l'Università del Michigan. Oggi vi esporrò una relazione sul trattamento dell'emofilia, dalla terapia non sostitutiva alla terapia genica.

Gli obiettivi di apprendimento prevedono la descrizione degli attuali approcci emergenti per il trattamento dell'emofilia, tra cui le terapie non sostitutive e la terapia genica.

Questa diapositiva mostra la correlazione tra la gravità dell'emofilia, a seconda dei livelli basali di fattore 8 endogeno del paziente e del relativo rischio di emorragie delle articolazioni. Possiamo osservare che sono proprio i pazienti affetti da emofilia grave, con un'attività del fattore 8 inferiore all'1%, a manifestare il maggior numero di emorragie a livello articolare. Tuttavia, anche un livello minimo di fattore 8 pari ad appena l'1% o un fattore 8 residuo del 3% cambia in maniera significativa la patologia. Infatti, vediamo una riduzione del numero annuale di emorragie articolari.

Se i pazienti hanno livelli endogeni superiori al 5%, le emorragie articolari diventano meno frequenti; mentre con un livello di circa il 12-15%, il rischio di emorragie articolari diventa quasi del tutto nullo. Inoltre, la correlazione tra le emorragie articolari e i livelli endogeni dei pazienti è ciò che ha effettivamente promosso l'idea della profilassi, in cui la somministrazione regolare della proteina carente manterrebbe i livelli del fattore al di sopra della soglia di criticità per moderare, si spera, la patologia di base del paziente.

In questa diapositiva, affrontiamo la problematica della terapia sostitutiva con prodotti standard. Subito dopo l'infusione, il paziente raggiunge entro pochi minuti un picco del livello di fattore. Ma ogni minuto che passa dall'infusione, il livello del fattore diminuisce in base alla farmacocinetica della proteina, sia per il fattore 8 che per il fattore 9. Se puntiamo a un regime tipico di profilassi a giorni alterni, i pazienti avranno ugualmente un certo tempo al di sotto di un livello critico e continuano ad essere a rischio di emorragia, soprattutto nelle ore che precedono la dose successiva.

La metà della parte inferiore del grafico illustra l'impatto di un prodotto con proprietà farmacocinetiche con un'emivita estesa. Anche se in questo caso si modula la farmacocinetica del fattore, a seconda del momento in cui il paziente assume la dose successiva, può comunque trascorrere diverso tempo al di sotto delle soglie critiche e incorrere sempre nel rischio di emorragia.

Se consideriamo le terapie di profilassi con fattore 8, questo è un riepilogo dei risultati dei dati prospettici raccolti dagli studi di fase 3 per un numero di prodotti con fattore 8 con emivita standard e prodotti con fattore 8 con emivita



estesa. Se osserviamo i diversi valori di emorragie all'anno per il fattore 8 con emivita standard, sono compresi tra 1,6 e un massimo di 8,5 all'anno. Se osserviamo la percentuale di partecipanti senza emorragie durante il periodo di osservazione, questi valori sono compresi tra il 25% e poco più del 60%. Con gli studi sui prodotti ad emivita estesa, possiamo osservare che i valori annuali di emorragie sono compresi tra 2,9 e 4,7 e la percentuale di partecipanti in cui non si osservano emorragie è compresa tra il 38% e il 45%.

Quali sono le implicazioni per i pazienti che continuano ad avere emorragie, anche sporadiche, durante un regime di profilassi? Questi dati sono stati presentati all'HTC di Bonn, in Germania, in cui il dott. Oldenburg ha presentato uno schema dei risultati a lungo termine che ha osservato nella sua clinica negli ultimi 25-30 anni. Nella parte inferiore sono illustrati i decenni in ordine crescente in coorti di pazienti e a sinistra del grafico, sull'asse verticale, è presente il punteggio per le articolazioni, nonché i punteggi per le articolazioni che osserveremo, tra cui la metodologia di valutazione clinica e la metodologia di valutazione radiologica. Più basso è il punteggio dell'articolazione, minore sarà l'evidenza del danno a quest'ultima.

Nel quadrato giallo è indicata l'esperienza nella prima infanzia nei pazienti sottoposti precocemente a profilassi primaria. Qui illustriamo un punteggio per le articolazioni arbitrario pari a 2, come marcatore per danni alle articolazioni clinicamente rilevanti. Non vi è realmente evidenza di grave deterioramento dello stato dell'articolazione di questi ragazzini. Inoltre, se ci affidiamo solo a strumenti di valutazione clinica, del tutto al di fuori del secondo e del terzo decennio, può essere difficile identificare qualsiasi evidenza di danni alle articolazioni in questi pazienti.

Tuttavia, se si utilizza uno strumento di valutazione radiologica più sensibile, è possibile dimostrare un'evidenza di danni alle articolazioni. Ora, non dimentichiamo che si tratta di una popolazione di pazienti che ha utilizzato una profilassi primaria durante tutto il periodo di raccolta dei dati e questo indica che, con il livello attuale di profilassi a cui i pazienti vengono sottoposti, osserviamo ancora dei rischi di progressione di disturbi alle articolazioni.

Quello che sto indicando qui è uno schema delle fasi che abbiamo attraversato nell'ambito del trattamento dell'emofilia. La terapia precedente a quella sostitutiva ci riporta completamente nella seconda metà degli anni '60, quando non avevamo davvero nessuna terapia disponibile per i pazienti. Il periodo della terapia sostitutiva è iniziato realmente con la disponibilità dei prodotti con fattore derivato dal plasma e poi, con prodotti ricombinanti che sono diventati disponibili negli anni '90. Quando i prodotti erano difficili da ottenere, i pazienti tendevano al trattamento a domanda. Ciò aveva un



impatto sugli esiti clinici per i pazienti, perché potevano curarsi a casa e risolvere in maniera abbastanza rapida l'emorragia.

Tuttavia, la profilassi offriva l'opportunità di evitare l'emorragia delle articolazioni, probabilmente in maniera completa. Inizialmente, veniva condotta con gli agenti con emivita standard ma di origine ricombinante. Successivamente grazie alla bioingegneria è stato possibile modificare i fattori ricombinanti della coagulazione in modo da estenderne la loro emivita.

Quella in cui siamo appena entrati è l'era della terapia non sostitutiva. Qui non facciamo più affidamento sulla sostituzione della proteina ma su un paio di diverse strategie che non coinvolgono la sostituzione del fattore 8 né del fattore 9. La terapia sostitutiva mira a imitare il sostituto dell'attività del fattore 8 della coagulazione e vi sono diversi altri agenti che puntano agli anticoagulanti naturali dell'emostasi, nel tentativo di riequilibrare il sistema emostatico.

Ci sono varie strategie che fanno parte dell'era della terapia non sostitutiva. Gli anticorpi bispecifici che funzionano come terapia sostitutiva, piccole molecole di RNA interferente in grado di bloccare gli anticoagulanti naturali, anticorpi monoclonali che possono inibire gli anticoagulanti naturali e persino le serpine create con metodologie di bioingegneria, possono avere un effetto sul riequilibrio del percorso emostatico. Tutti questi prodotti sono a stadi diversi dello sviluppo clinico.

Siamo sul punto di ottenere una potenziale terapia genica. Questa sarebbe la sostituzione della proteina definitiva ma non derivante dalle infusioni endovenose, bensì tramite produzione endogena, mediante l'inserimento di un gene o possibilmente una modifica di quest'ultimo, fino a tecniche di terapia cellulare.

In questa diapositiva sono illustrate le diverse proprietà della terapia sostitutiva e non-sostitutiva e della terapia genica, come abbiamo appena discusso. Quindi, nella parte inferiore sono elencati i livelli dei fattori ottenuti quando i pazienti sono sottoposti a regolare profilassi. Possiamo vedere i tipici picchi e le concentrazioni minime che sono stati illustrati in precedenza. Con i prodotti con emivita estesa, cambiano le proprietà farmacocinetiche e, in alcuni casi, questi possono consentirci di aumentare i livelli minimi che i pazienti mantengono durante tali regimi di profilassi .

Con le terapie senza fattore, tuttavia, non si ottengono fattori misurabili perché non li sostituiamo con la proteina ma manteniamo un livello emostatico stabile. Infine, con la terapia genica, otteniamo un mix di entrambe le tecniche in cui stiamo ottenendo un livello del fattore stabile per il paziente. Questo ha anche un effetto emostatico stabilizzante.



Un altro modo per aiutarci a comprendere alcune delle terapie non sostitutive è utilizzare questa analogia dell'equilibrio. Ora, nel normale equilibrio emostatico, su un lato abbiamo i procoagulanti che cercano di far avanzare la coagulazione e dall'altro lato ci sono gli anticoagulanti naturali che controbilanciano. Inoltre, in condizioni normali, abbiamo un equilibrio emostatico senza emorragie né problemi trombotici. Tuttavia, con la perdita di alcuni procoagulanti, come potrebbe succedere con la carenza di un fattore, gli anticoagulanti naturali sono ancora completamente presenti e quindi vediamo uno spostamento del peso di questa bilancia verso un numero maggiore di emorragie: questo è il fenotipo che vedremo ad esempio nell'emofilia.

Ciò a cui stiamo lavorando negli ultimi decenni è la sostituzione dei procoagulanti mancanti per ripristinare l'emostasi. Quindi, nel contesto dell'emofilia A o B, possiamo sostituire le proteine del fattore 8 o del fattore 9. Tuttavia, se non è possibile utilizzare queste terapie di sostituzione, ad esempio, se il paziente ha sviluppato un inibitore, dobbiamo fare affidamento sugli agenti bypassanti. Questi includono il complesso protrombinico concentrato attivato e il fattore 7 attivato ricombinante.

Ciò che abbiamo introdotto di recente nella pratica clinica è una terapia di sostituzione, denominata emicizumab, che funge anche da terapia sostitutiva per migliorare l'emostasi promuovendo la coagulazione. Questa diapositiva illustra il meccanismo di azione di emicizumab. A sinistra possiamo vedere lo stato naturale in cui il fattore 9 attivato come proteasi è in stretta prossimità con il fattore 10 sulla superficie fosfolipidica. Ciò che consente loro di entrare in contatto reciproco come parte dell'assemblaggio di questo complesso è la disponibilità del cofattore, ossia il fattore 8 attivato. Quest'ultimo, in alcuni casi, funge da supporto per aiutare a portare il fattore 9 attivato nel giusto orientamento in prossimità della molecole del fattore 10, in modo che la reazione enzimatica possa avanzare ad un ritmo piuttosto elevato.

Ciò che si ottiene con l'anticorpo bispecifico è che tale anticorpo ha un braccio che ha un'affinità per il fattore 9 attivato e l'altro braccio ha un'affinità per il fattore 10. Quindi, la presenza dell'anticorpo bispecifico, permette al fattore 9 attivato di essere portato in prossimità del fattore 10 per assicurare che la reazione della coagulazione possa progredire in maniera più efficiente.

Emicizumab è un anticorpo monoclonale bispecifico umanizzato che collega il fattore 9 attivato e il fattore 10 per ripristinare la funzione della molecola del fattore 8 attivato mancante. Ora, non vi è alcuna omologia strutturale con il fattore 8, quindi non si prevede che possa indurre la formazione di inibitori del fattore 8 o sia influenzato dalla presenza degli inibitori del fattore 8. Ha il vantaggio di avere un'emivita molto estesa perché si tratta di un anticorpo. Infatti, può durare circa 30 giorni e può anche essere somministrato per via



sottocutanea grazie alla sua elevatissima biodisponibilità. Questo farmaco ora è stato approvato in diversi Paesi e prevede un trattamento di profilassi di una volta alla settimana, ogni due settimane o ogni quattro settimane in soggetti di qualsiasi età affetti da emofilia A con e senza inibitori.

Questa tabella mostra i dati derivanti dagli studi clinici, in questo caso i programmi degli studi clinici HAVEN sull' emicizumab. Inizialmente è stato testato negli adolescenti di sesso maschile con inibitori del fattore 8. Si trattava dello studio clinico HAVEN 1 e i dati più interessanti qui sono che i pazienti sottoposti a profilassi con emicizumab hanno ottenuto una riduzione dell'87% delle emorragie rispetto a coloro che non sono stati sottoposti a profilassi. Inoltre, se osserviamo la percentuale di pazienti in cui non si sono verificate emorragie durante il periodo di osservazione, il 63% di coloro che ricevevano una profilassi settimanale con emicizumab non hanno sofferto di emorragie rispetto al 6% dei soggetti che non sono stati sottoposti ad alcuna profilassi. Se osserviamo le emorragie trattate con profilassi utilizzando emicizumab rispetto a un gruppo di pazienti che in precedenza erano sottoposti a profilassi con agenti bypassanti in uno studio non interventistico, i pazienti che hanno ricevuto emicizumab una volta alla settimana dimostrano ancora una riduzione del 79% rispetto a coloro che erano stati sottoposti a profilassi con agenti bypassanti.

Il disegno dello studio clinico HAVEN 1 prevedeva questo: i pazienti si recavano in ambulatorio per l'uso episodico di agenti bypassanti o per la profilassi sempre con agenti bypassanti. In caso di terapia a domanda, c'è stata una randomizzazione 2:1 per la somministrazione settimanale con emicizumab o una continuazione senza profilassi. Coloro che si presentavano in ambulatorio per la profilassi venivano trattati direttamente con emicizumab, ma c'era un gruppo di pazienti in profilassi con agenti bypassanti che faceva parte dello studio non interventistico. Pertanto, ciò ha permesso il confronto con quei pazienti che venivano in ambulatorio e sono passati alla somministrazione di emicizumab: questo era il braccio D di questo studio. Tutti i pazienti hanno iniziato con una dose di carico di 3 mg/kg una volta alla settimana per quattro settimane, cui è seguito il dosaggio di mantenimento di 1,5 mg/kg alla settimana.

Questa diapositiva mostra l'esito per questi gruppi di studio. Per i pazienti del gruppo A sottoposti a profilassi con emicizumab, possiamo vedere gli eventi di emorragia in blu, gli eventi di emorragia trattati con agenti bypassanti in giallo, gli eventi trattati per emorragia spontanea in rosso e gli eventi trattati per emorragia delle articolazioni in arancione. Possiamo confrontare questi dati con quelli del gruppo B, non sottoposto a profilassi con emicizumab, e notare il miglioramento per il gruppo in profilassi con emicizumab. I pazienti del gruppo C includono coloro che hanno avuto accesso allo studio clinico già in profilassi con agenti bypassanti e hanno continuato a mantenere un buon



controllo delle emorragie, in maniera simile ai soggetti che erano passati dal trattamento a domanda con agenti bypassanti alla profilassi con emicizumab.

Questa diapositiva mostra i miglioramenti osservati utilizzando dei parametri per quantificare la qualità di vita, il questionario Haem-A-QoL, ed è stato rilevato un significativo miglioramento nei pazienti che hanno mantenuto una profilassi con emicizumab. Ciò è particolarmente visibile nello stato di salute generale e in una serie di altri parametri dettagliati nella tabella a destra.

In seguito al successo delle osservazioni ottenute con lo studio clinico HAVEN1, è stato progettato lo studio clinico HAVEN 2 per analizzare la profilassi con emicizumab in pazienti pediatriche di età inferiore a 12 anni. Qui, il tasso annuale di emorragie nei pazienti che seguivano profilassi era vicino allo zero. Questo studio clinico non prevedeva confronti perché tutti i pazienti erano sottoposti a un regime di profilassi ma se osserviamo la percentuale di soggetti in cui non si è verificata neanche un'emorragia, vediamo che l'87% era in profilassi settimanale e poiché alcuni soggetti che hanno avuto accesso allo studio erano stati sottoposti in precedenza a profilassi con agenti bypassanti, è stato possibile fare un confronto: vi era ancora una riduzione del 99% delle emorragie trattate per il gruppo in trattamento con emicizumab.

Passando agli studi HAVEN 3, ci si concentra sull'osservazione dell'effetto di emicizumab negli adolescenti e negli adulti che non avevano inibitori del fattore 8. Questa diapositiva mostra il disegno di questo studio clinico. I pazienti potevano accedere allo studio clinico in caso di trattamento a domanda o profilassi con fattore 8. Per coloro che accedevano allo studio per il trattamento a domanda, c'è stata una randomizzazione 2:2:1 al gruppo con emicizumab settimanale, al gruppo con emicizumab ogni due settimane o al gruppo che proseguiva senza profilassi. I soggetti che accedevano allo studio per la profilassi sono passati a emicizumab con un regime di mantenimento settimanale.

I dati più importanti mostrano che il tasso di emorragie annuali era ancora abbastanza basso, con una mediana di 1,5 e 1,3 per il dosaggio settimanale o per il dosaggio ogni due settimane, rispettivamente. Rispetto ai soggetti che in precedenza non erano stati sottoposti a profilassi con fattore 8, è stata rilevata una riduzione del 96% e del 97% delle emorragie trattate con i regimi di profilassi una volta alla settimana e ogni due settimane. Osserviamo la percentuale di pazienti in cui non si è verificata alcuna emorragia: il 56% e il 60% del gruppo con trattamento settimanale e del gruppo con trattamento ogni due settimane rispettivamente, rispetto a zero per il gruppo che non era stato sottoposto ad alcuna profilassi. Per i soggetti che accedevano allo studio con un'anamnesi precedente di profilassi con fattore 8, vi era ancora



una riduzione del 68% con passaggio alla profilassi con emicizumab settimanale.

Dal punto di vista della sicurezza, le reazioni avverse più comuni riguardavano reazioni nel sito di iniezione, cefalea e artralgia. È stata riscontrata qualche significativa complicanza trombotica, sia tromboembolica che di microangiopatia trombotica. Questi episodi sono stati osservati solo nello studio HAVEN 1. La microangiopatia trombotica è stata riportata nello 0,8% dei pazienti e nell'8% dei pazienti che hanno ricevuto almeno una dose dei concentrati complessi di protrombina attivata. Gli eventi trombotici sono stati riportati nello 0,5% dei pazienti e nel 5,4% dei pazienti che hanno ricevuto almeno una dose di concentrati complessi di protrombina attivata.

Con un'analisi più approfondita di questi pazienti, è chiaro che coloro in cui sono insorte tali complicanze trombotiche, utilizzavano dei concentrati del complesso protrombinico attivato per ben più di 24 ore, a dosi superiori a 100 unità per chilogrammo al giorno. Quindi, sulla base di questa osservazione, una strategia precauzionale dei rischi è stata imposta per tutti gli altri studi HAVEN per evitare l'uso di concentrati di complesso protrombinico attivato o per sforzarsi di utilizzare il dosaggio e una durata inferiore a queste soglie di rischio. Da quando questa politica di precauzione dei rischi è stata istituita, non vi sono stati altri eventi nei pazienti che vi hanno aderito. E questa è stata integrata nell'etichetta per assicurare che i pazienti conoscessero tale possibile interazione.

Tornando alla nostra analogia della bilancia, anche qui presentiamo lo stato emofilico laddove c'è stata una riduzione dei procoagulanti ma la presenza dell'attività completa degli anticoagulanti naturali contribuisce al sanguinamento. Quindi, l'altra possibilità che abbiamo di intervenire qui, anziché aggiungere procoagulanti, è rimuovere o inibire in qualche modo gli anticoagulanti sull'altro lato della bilancia e, quindi, ripristinare l'emostasi.

Questa diapositiva mostra lo schema classico della via estrinseca della coagulazione attraverso la generazione di trombina e, infine, la formazione di fibrina, grazie alla via intrinseca per amplificare la generazione di trombina. Ciascun componente di questo percorso ha un anticoagulante naturale che regola l'emostasi. L'inibitore della via del fattore tissutale attenua la via estrinseca, l'antitrombina attenua il fattore 10 attivato e la trombina all'interno della via comune, mentre la proteina C attivata funge da attenuatore della via intrinseca da parte dei cofattori del fattore 8 attivato e del fattore 5 attivato.

I risultati di ciò che abbiamo esplorato finora sono questi: emicizumab può funzionare come sostituto del fattore 8 attivato, ma per le altre strategie per il riequilibrio emostatico, attualmente ci sono programmi di sperimentazione clinica che stanno analizzando metodi per inibire ciascuno di questi anticoagulanti naturali. Come è già stato detto, fitusiran è una



piccola molecola di RNA interferente che agisce riducendo i livelli di antitrombina nel tentativo di ripristinare una normale emostasi. Ci sono anticorpi monoclonali che sono stati sviluppati per agire sull'inibitore della via del fattore tissutale ed è disponibile una proteasi sierica che è stata creata con metodologie di bioingegneria per inibire la proteina C attivata.

A questo punto arriviamo alla terapia genica come l'era successiva in cui stiamo potenzialmente entrando. Il concetto qui è che invece di affrontare le problematiche relative alla sostituzione della proteina, con le complessità della farmacocinetica di cui abbiamo parlato, si tratta di inserire regolarmente una proteina, mediante l'inserimento del transgene terapeutico in un organo bersaglio, in questo caso il fegato. Tale transgene deve essere inserito in una sorta di veicolo di consegna. Finora sono stati i vettori virali ad essere utilizzati a tale scopo. Quest'ultimo può essere iniettato nel paziente. Questi vettori virali possono arrivare all'organo bersaglio, come il fegato, per poi essere inglobati dai singoli epatociti. La rimozione dei componenti del capside virale consente al transgene di avere accesso al nucleo e di rimanere là, dove può usufruire del normale meccanismo di replicazione della cellula. La cellula inizia a sintetizzare il fattore 8 o il fattore 9 per ripristinare l'emostasi.

Esistono anche le terapie cellulari ex vivo che possono essere utilizzate come metodo per trattare l'emofilia. Infatti sono oggetto di analisi in alcuni studi clinici innovativi.

Pensiamo a questi nuovi paradigmi di terapie di sostituzione e riequilibrio emostatico. Come si confrontano con la terapia genica sperimentale attualmente in corso? In che modo possiamo confrontarli con la terapia genica sperimentale attualmente in corso? Ebbene, se osserviamo i lati positivi forniti dalle terapie sostitutive e di riequilibrio emostatico, possiamo citare: somministrazione sottocutanea, numero di infusioni molto basso per il paziente, consentono ai pazienti di ottenere un'emostasi stabile, possono essere somministrate sia ad adulti sia a bambini e sembrano avere un'ottima efficacia sia nei pazienti con inibitori sia senza inibitori.

Vi sono anche alcuni aspetti negativi. È probabile che queste terapie non consentano di ottenere un'emostasi normale ma comunque risultino efficaci rispetto al rischio di ripetute emorragie alle articolazioni. Abbiamo menzionato che alcune di queste possono comportare un rischio trombotico e spesso devono essere utilizzate strategie di precauzione del rischio per l'uso sicuro di questi prodotti. Oggi non abbiamo avuto il tempo di parlarne, ma queste nuove terapie presentano problemi in relazione al modo in cui dosiamo l'effetto emostatico. Questi pazienti potrebbero ugualmente avere degli episodi emorragici e, quindi, devono avere accesso alle terapie tradizionali





per trattare l'evento. Inoltre, in ragione della costante necessità di profilassi, con queste terapie è ancora presente una spesa annuale per il paziente.

Se osserviamo le terapie geniche sperimentali, alcuni dei vantaggi riguardano la possibilità di un trattamento "unico e risolutivo". Invece di una regolare profilassi, quando sarà disponibile una trasduzione definitiva della cellula epatica, prevediamo che i pazienti continuino a esprimere quella proteina terapeutica per molti anni. Questo risultato può favorire un'emostasi stabile ed è possibile che si ottengano livelli curativi con la terapia genica ma potremmo anche mantenere i pazienti nel range di normalità. In ragione del trattamento "unico e risolutivo", si tratta della prima terapia che offre l'opportunità di risparmiare sui costi annuali.

Ci sono anche molti lati negativi che sono oggetto di analisi negli studi clinici sulla terapia genica. Esistono alcuni problemi con l'idoneità. Non disponiamo ancora di terapie da offrire ai pazienti pediatrici o a quelli con inibitori e un numero significativo di pazienti non è idoneo a queste terapie a causa dell'immunità preesistente ai vettori virali. Inoltre, questa terapia comporta diversi rischi noti e sconosciuti. Sono presenti problematiche di tipo immunologico, problemi che potrebbero essere correlati allo stress cellulare dalla sovraespressione di queste proteine nella cellula e vi sono anche dei rischi sconosciuti relativi ai potenziali eventi di integrazione della genotossicità. Non siamo certi della durata di queste terapie o della capacità di rieposizione dei pazienti se dovessero perdere la loro espressione per un lungo periodo di tempo. E quasi certamente, queste terapie hanno dei costi iniziali molto elevati, anche se comportano un risparmio del costo annuale per gli anni successivi.

