



Università degli Studi di Cagliari

DOTTORATO DI RICERCA

Terapia Pediatrica e Farmacologia dello sviluppo

Ciclo XXV

TITOLO TESI

FBS0701: un nuovo chelante orale nel trattamento del paziente con sovraccarico trasfusionale di ferro.

Settore scientifico disciplinari di afferenza

MED/38

Presentata da: D.ssa Patrizia Porqueddu

Coordinatore Dottorato Prof. P. Moi

Tutor/Relatore Prof. R. Galanello – Prof. P. Moi

Co-relatore D.ssa Raffaella Origa

Esame finale anno accademico 2012 – 2013

INDICE

<u>INTRODUZIONE</u>	pag. 3
Generalità	pag. 3
La stima del sovraccarico di ferro	pag. 5
La terapia ferro-chelante	pag. 9
La desferrioxamina	pag. 9
Il deferiprone	pag. 11
Il deferasirox	pag. 12
Terapie ferrochelanti combinate o alternate	pag. 13
FBS0701	pag. 14
<u>SCOPO DELLO STUDIO</u>	pag. 15
<u>DISEGNO DELLO STUDIO</u>	pag. 15
<u>PAZIENTI</u>	pag. 16
<u>METODI</u>	pag. 18
<u>RISULTATI</u>	pag. 19
Eventi avversi	pag. 19
Efficacia sulla LIC	pag. 20
<u>DISCUSSIONE</u>	pag. 27
<u>CONCLUSIONI</u>	pag. 31
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	pag. 32

INTRODUZIONE

Generalità

Il sovraccarico di ferro costituisce la maggiore problematica nei pazienti affetti da anemie congenite e acquisite che richiedano un regolare regime trasfusionale. (Tabella 1)

Tabella 1. Anemie che necessitano di regolare regime trasfusionale e terapia ferrochelante.

Congenite	Acquisite
Talassemia Major	Anemia aplastica
Talassemia intermedia	Aplasia della linea rossa
Anemia Aplastica (Fanconi)	Mielodisplasia
Anemia di Blackfan-Diamond	Mielofibrosi cronica
Anemia sideroblastica	Emoglobinuria parossistica notturna
Anemia falciforme	
Raramente alcune anemie emolitiche congenite (es. deficit di piruvato-chinasi e deficit di G6PD)	

In condizioni normali l'assorbimento e la perdita di ferro sono in bilancio e corrispondono a circa 1 mg/die.

Il sangue trasfuso contiene 200-250 mg di ferro per unità.

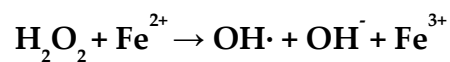
Il regime trasfusionale previsto per i pazienti affetti da anemie refrattarie prevede che essi ricevano dalle 2 alle 4 unità di sangue al mese. Di conseguenza essi ricevono annualmente 5000-10000 mg di ferro ovvero 0,3-0,6 mg/kg/die. (1)

Il nostro organismo infatti non possiede mezzi efficaci che consentano l'eliminazione del ferro in eccesso. Inoltre i soggetti affetti da beta talassemia, soprattutto se non regolarmente trasfusi, presentano un aumentato assorbimento duodenale di ferro, perchè l'aumentata eritropoiesi determina l'inibizione della sintesi epatica del modulatore principale del metabolismo del ferro, l'epcidina. (2)

Come conseguenza, il ferro in eccesso, in assenza di trattamento, si accumula progressivamente in tutti gli organi e tessuti e principalmente a livello di fegato, cuore e ghiandole endocrine (ipofisi, tiroide, paratiroidi, pancreas). La velocità di accumulo nei singoli organi è differente, come la loro suscettibilità al danno da sovraccarico marziale.

Nel cuore, per esempio, l'accumulo è più tardivo rispetto a quanto avviene nel fegato, e piccoli accumuli di ferro si associano a manifestazioni cliniche severe. (3)

Il ferro che ha superato la capacità legante di proteine di trasporto come la transferrina serica (ferro libero o NTBI) catalizza reazioni di ossidoriduzione con formazione di radicali liberi secondo la reazione di Fenton:



Tra questi prodotti l'*idrossi radicale* (OH·) è una specie estremamente ossidante in grado di innescare reazioni libere in particolare a carico di RNA e DNA causando mutazioni, rottura della doppia elica e infine cancerogenesi.

Lo *ione idrossilico* (OH⁻) invece danneggia le membrane biologiche (mitocondri, lisosomi e membrana sarcoplasmatica) tramite un processo di perossidazione lipidica.

I sistemi antiossidanti di protezione per quanto attivi, non sono in grado di annullare completamente il danno ossidativo. In assenza di terapia ferrochelante l'emosiderosi determina morte in età adolescenziale e tardo-adolescenziale prevalentemente per aritmia o scompenso cardiaco.

La maggior parte degli studi inerenti la ferro-chelazione sono stati condotti su pazienti affetti da beta talassemia major. La beta-talassemia infatti rappresenta una delle malattie genetiche più comuni al mondo con 94 milioni di eterozigoti e 60 mila omozigoti nati ogni anno (4). Essa è un disordine autosomico recessivo caratterizzato da assente o ridotta sintesi di catene beta-globiniche. Queste catene sono codificate da un gene localizzato sul cromosoma 11. Sono state descritte più di 200 mutazioni causa di beta talassemia (5). Il quadro clinico più grave della beta talassemia è la talassemia major, dovuta allo stato omozigote o a composti genetici per mutazioni beta-talasseemiche gravi. In questi pazienti le mutazioni del gene beta-globinico sono responsabili della deficitaria produzione di emoglobina adulta con conseguente eritropoiesi inefficace. L'anemia grave che ne consegue rende necessario il precoce ricorso ad un regime trasfusionale regolare, e a un inevitabile accumulo di ferro che deve essere misurato, monitorato e contrastato con una valida terapia ferrochelante. Per quanto riguarda invece i pazienti affetti da anemia

falciforme, mielodisplasia e altre anemie soggette a regime trasfusionale cronico l'esatta indicazione per iniziare la terapia ferrochelante e il rapporto costi/benefici sono meno ben codificati.

La stima del sovraccarico di ferro

La valutazione del sovraccarico di ferro inizia con la registrazione del numero di unità trasfuse, che riveste un importante valore predittivo, per poi avvalersi di una serie di parametri che verranno di seguito brevemente illustrati.

1. Ferritina sierica

Rappresenta una stima indiretta del sovraccarico di ferro, l'unica disponibile nei paesi in via di sviluppo. Offre il vantaggio di permettere una frequente e semplice verifica dei risultati della terapia chelante in associazione a tecniche più accurate ma complesse. Tutt'ora utilizzata come parametro per decidere quando iniziare la terapia ferro-chelante, è ormai noto che essa non costituisce un fedele indicatore del ferro intra-cardiaco e del ferro corporeo totale. I livelli sierici di ferritina infatti variano in rapporto agli stimoli infiammatori, alle alterazioni epatiche e al deficit di acido ascorbico. Nonostante queste riserve è tuttavia ben documentata l'associazione esistente tra livelli sierici di ferritina e prognosi nella talassemia major (9-13).

2. Concentrazione di ferro epatico (LIC)

La concentrazione del ferro epatico (LIC) è un accurato indice predittivo del ferro corporeo totale (14). Sono considerati normali valori di LIC sino a 1,8 mg/g.d.w., mentre valori molto elevati (> 15 mg/g.dw) sono associati a prognosi avversa (11,15), progressione verso la fibrosi (16) e insufficienza epatica (17).

La LIC può essere valutata tramite diversi metodi.

La *biopsia epatica* è una metodica di misurazione diretta del ferro, specifica e sensibile. Tuttavia rappresenta una procedura invasiva e può dare risultati poco affidabili in presenza di campioni di dimensioni inadeguate o di una disomogenea distribuzione del ferro intra-epatico come accade nella cirrosi.

La *SQUID* (superconducting quantum interference device) consente una misurazione accurata della LIC basata sulle proprietà magnetiche di ferritina ed emosiderina. Valuta

inoltre la concentrazione del ferro su una porzione di organo, centrale, circa 10.000 volte più grande della porzione esaminabile con la biopsia (18). Tuttavia costituisce una metodica costosa ed esistono solo 4 strumenti al mondo in grado di eseguire l'esame.

Come la metodica SQUID, anche la RMN consente di ottenere una stima non invasiva della LIC, ma, a differenza della prima, è una metodica largamente disponibile. Il suo funzionamento si basa sul fatto che il ferro è in grado di aumentare la suscettibilità magnetica dei tessuti. Nelle immagini ottenute tramite RMN un organo assume una colorazione scura tanto più rapidamente quanto maggiore è la concentrazione di ferro al suo interno (Figura 1). Il ferro infatti, per le sue proprietà paramagnetiche, determina una marcata riduzione dei tempi di rilassamento T1 e T2 con caduta di segnale RM proporzionale al sovraccarico marziale nel tessuto stesso. Rispetto alla tecnica spin-echo T2, quella gradient - echo T2* è maggiormente sensibile al deposito di ferro. Il T2* è legato al T2 secondo la formula:

$$1/T2^* = 1/T2 + 1/T2'$$

intendendo per T2' le disomogeneità del campo magnetico. Il sovraccarico di ferro causa caduta del segnale nei tessuti siderotici perché i depositi di ferro si magnetizzano se sottoposti a campo magnetico esterno. Questo effetto è concentrazione dipendente (19). Il T2* è di conseguenza inversamente proporzionale alla quantità di ferro cardiaco (19,20).

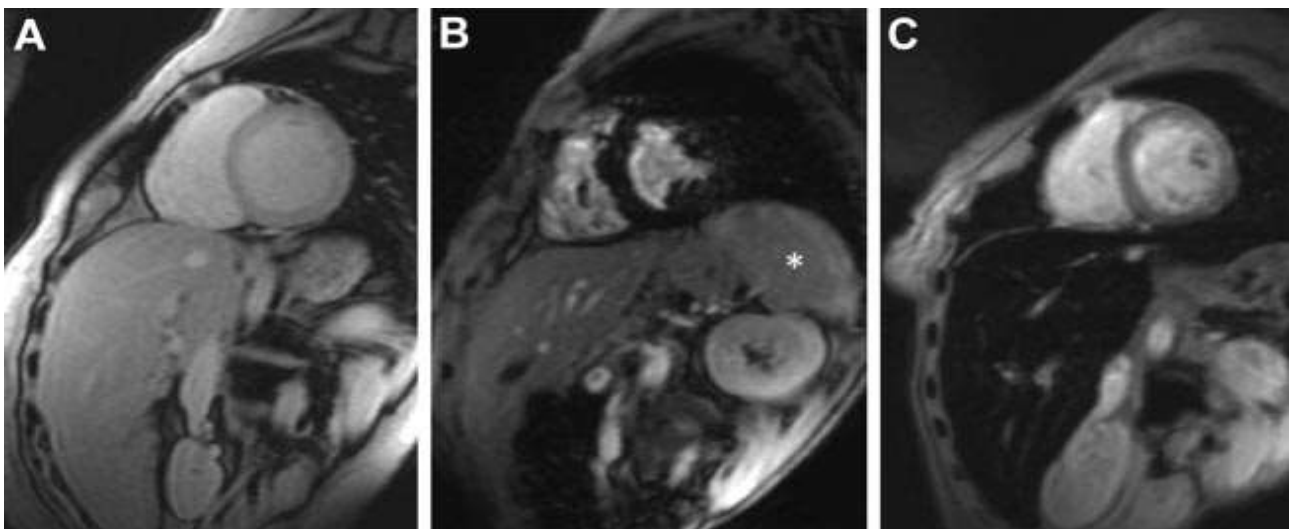


Figura 1: Immagini reali a 3 diversi pazienti campionate al medesimo tempo echo (10,68ms). A) Aspetto normale: assenza di accumulo di ferro nel cuore e nel fegato (T2* cardiaco: 29 ms; T2* epatico: 22 ms). B) Segnale scuro in corrispondenza del miocardio indicativo di severa siderosi (T2* cardiaco: 6,2 ms) e normale segnale epatico (T2*epatico: 18 ms). C) Segnale miocardico normale (T2* cardiaco : 24 ms) e segnale scuro a livello epatico indicativo di severa siderosi (T2* epatico: 1,8 ms). Immagini di Dr JP Carpenter , The Royal Brompton Hospital, UK.

L'inverso del $T2^*$ ($1000/T2^*$) è denominato $R2^*$ ed è misurato in unità di secondi inversi (S-1). L' $R2^*$ varia in maniera direttamente proporzionale all'accumulo di ferro.

La RMN è in grado di misurare anche l' $R2$ il quale si ottiene tramite l'equazione: $R2 = (1/T2^*c) \times 1000$. La valutazione della LIC tramite $R2$ è considerato il metodo non invasivo più attendibile di misurazione della concentrazione di ferro epatico (21). In particolare la tecnica spin density projection-assisted (SDPA) $R2$ -MRI (FerriScan®) rappresenta al momento l'unica metodica che è stata sottoposta a validazione attraverso la valutazione di numerosi pazienti di età differenti e con differenti stadi di fibrosi, necrosi e infiammazione epatico (22).

3. Ferro intracardiaco

La valutazione del sovraccarico di ferro cardiaco può essere eseguita con diversi metodi.

La biopsia del miocardio è una metodica invasiva che non può essere utilizzata routinariamente e inoltre non consente la valutazione dell'epicardio cioè la zona in cui il ferro si concentra maggiormente. Infine, anche la distribuzione del ferro intracardiaco risulta eterogenea.

Per quanto riguarda invece la RMN cardiaca, la sincronizzazione dell'emissione degli impulsi a radiofrequenza con l'onda R del tracciato elettrocardiografico ha permesso l'acquisizione di immagini "statiche" del cuore, prive cioè di artefatti dovuti al movimento. A partire da queste immagini è possibile estrapolare, come per la RMN epatica, i valori di $T2^*$, $R2^*$, $T2$ e $R2$. Secondo uno studio di Anderson et al. la media dei valori normali di $T2^*$ cardiaco, valutato a livello del setto interventricolare, è di 52 ± 16 ms (3). Il limite inferiore nel range di normalità è di 20 ms. Valori tra 10-20 ms sono indicativi di moderato sovraccarico marziale, considerato grave per valori di $T2^* < 10$ ms, e sono associati a ridotta frazione di eiezione sinistra (LVEF) (23) (Fig 2).

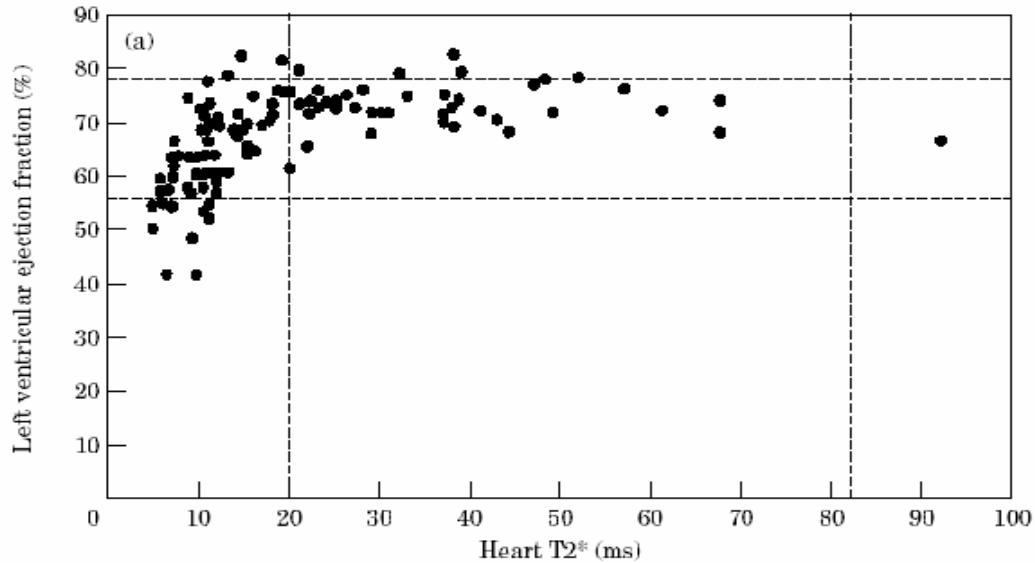


Figura 2: Distribuzione del T2* cardiaco in una coorte di pazienti affetti da talassemia major. Da Anderson et al 2001.

In particolare è stato dimostrato che il 47% dei pazienti con talassemia major con un T2* cardiaco inferiore a 6 ms sviluppa insufficienza cardiaca entro i successivi 12 mesi (13). Il T2* cardiaco dunque identifica i pazienti a rischio di riduzione della LVEF nei quali la terapia chelante dovrebbe essere intensificata (3,13,24,25). L'introduzione della RMN cardiaca nel predire la necessità di intensificare il trattamento chelante ha avuto un impatto determinante sulla sopravvivenza dei pazienti con talassemia major paragonabile a quello rappresentato dall' introduzione del deferiprone come chelante orale (26).

Non esiste invece correlazione tra T2* cardiaco, ferritina sierica e T2* epatico. Di fatto una grave siderosi del miocardio può coesistere con valori di ferritina e ferro epatico accettabili. Ciò in parte può essere spiegato con la maggiore efficienza da parte della desferrioxamina nella chelazione del ferro intraepatico rispetto a quello cardiaco (27).

La valutazione del T2* cardiaco è pertanto necessaria in tutti i pazienti affetti da talassemia major a prescindere dai valori della LIC e della ferritinemia.

La terapia ferro-chelante

L'introduzione dei chelanti del ferro intorno agli anni '70 ha modificato profondamente l'evoluzione naturale della talassemia major (28). Queste molecole presentano una elevata affinità per il ferro ionizzato (Fe^{3+}) e sono in grado di indurre l'eliminazione mantenendone i livelli al di sotto della soglia di tossicità.

Tabella 2. Caratteristiche del chelante ideale

• Alta affinità e specificità per il Fe^{3+}
• Alta efficienza chelante
• Bassa velocità di metabolizzazione
• Penetrazione tissutale e cellulare
• Penetrazione tissutale e cellulare
• Non redistribuzione del ferro
• Somministrazione orale
• Tossicità ridotta
• Raggiungimento di un bilancio negativo del ferro
• Basso costo

Attualmente sono a disposizione diversi trattamenti ferro-chelanti utilizzati sia in monoterapia che in terapia combinata o alternata. Essi verranno brevemente esposti di seguito. Tuttavia la ricerca in questo campo è molto vivace in quanto nessuno degli attuali chelanti del ferro risponde pienamente a quanto auspicato.

La desferrioxamina (DFO)

La desferrioxamina (DFO) è il farmaco chelante per il quale è riportata la maggiore esperienza nel trattamento del sovraccarico trasfusionale di ferro. È un sideroforo naturale prodotto dallo *Streptomyces pilosus*. È un chelante esadentato, cioè contenente sei siti di coordinazione, in grado di legare un atomo di ferro. È necessaria perciò una molecola di DFO per legare un atomo di ferro. Ciò si traduce in un peso molecolare elevato che non consente l'assorbimento per os. La somministrazione del DFO avviene infatti esclusivamente per via parenterale (s.c. oppure e.v.). La breve emivita plasmatica, circa 20 minuti, rende inoltre necessaria un'infusione giornaliera di almeno 12 ore, per 5-7

giorni la settimana. Il trattamento è in grado di indurre un bilancio negativo del ferro attraverso l'eliminazione per via urinaria (circa 70%) e fecale (circa 30%) (29).

Il farmaco viene infatti captato attivamente dagli epatociti consentendo la rimozione del ferro intraepatico in eccesso attraverso il sistema biliare (30). Il ferro escreto attraverso le urine invece, deriva principalmente dal catabolismo degli eritrociti senescenti, che nei pazienti talassemici rappresentano la principale fonte di ferro libero plasmatico (31). A causa dell'alto peso molecolare e della sua spiccata idrofilia il DFO non è però in grado di penetrare all'interno delle cellule.

La dose abituale utilizzata è di circa 40 mg/Kg/die ma sono state utilizzate dosi sino a 60 mg/Kg/die in presenza di elevati depositi di ferro corporeo.

Il DFO ha trasformato l'aspettativa di vita di molti pazienti affetti da talassemia major a altre anemie refrattarie, e ha ridotto le complicanze endocrine e epatiche. Tuttavia molti pazienti non risultano chelati in modo soddisfacente dal DFO e in particolare possono sviluppare cardiomiopatia grave. Le cause del fallimento in questi casi della terapia chelante con DFO è da imputare all'elevato costo del farmaco e del sistema di infusione ma soprattutto alla scarsa compliance alla terapia (31). Tuttavia anche pazienti che apparentemente hanno una buona aderenza alla terapia, e con livelli di ferritina sierica <1000 mg/dl possono sviluppare sovraccarico cardiaco di ferro e scompenso. Il DFO può determinare inoltre, comparsa di allergia, tossicità, irritazione in corrispondenza del sito di infusione, infezioni da *Yersinia*. Effetti collaterali associati soprattutto all'utilizzo di dosi elevate in pazienti con scarso accumulo di ferro (bambini in particolare) sono retinopatia, ipoacusia neurosensoriale, displasia scheletrica e difetto di crescita.

Gli svantaggi finora descritti spiegano come fin dall'inizio si sia avvertita la necessità di nuove molecole che potessero venir meglio accettate dai pazienti pur continuando a garantire un adeguato livello di ferro-chelazione (34,35).

Il deferiprone (DFP)

Il deferiprone (DFP) è il primo chelante del ferro somministrabile per os a disposizione ormai da 15 anni per l'uso clinico. E' un chelante bidentato in grado cioè di legare il ferro in una proporzione molare di 3:1. Esso viene assorbito in modo rapido dopo l'ingestione con un picco a livello ematico a 45 minuti circa. Successivamente è eliminato dal sangue e per l'85% convertito a livello epatico in un derivato glucuronato. Differenze nella rapidità con cui avviene tale conversione giustificano in parte le differenze di efficacia riscontrabili tra i pazienti (36). Viene somministrato abitualmente tre volte al giorno, a partire da una dose di 75 mg/Kg sino ad un massimo di 100 mg/Kg/die. La compliance dei pazienti è generalmente migliore rispetto a quella con il DFO.

Il DFP ha il peso molecolare più basso rispetto agli altri chelanti disponibili e può penetrare nel compartimento intracellulare a livello mitocondriale e lisosomiale (37). Per questo motivo il DFP ha una efficacia superiore rispetto al DFO nel ridurre il ferro intracardiaco.

Un ampio studio che ha coinvolto 7 diversi centri italiani tra il 1995 e il 2003 per un totale di 359 pazienti ha mostrato infatti come solo il 4% dei pazienti trattati con DFP contro il 20% di quelli trattati con solo DFO avevano riportato il peggioramento di una cardiopatia pre-esistente o l'esordio di problematiche cardiologiche (38).

Tuttavia, diversamente dalla DFO, l'escrezione biliare del ferro indotta dal DFP è trascurabile proprio a causa della sua rapida inattivazione a livello epatico (39). Per tale motivo il suo utilizzo incide meno nella riduzione della siderosi epatica (36). L'escrezione urinaria del ferro, invece, è quasi uguale a quella ottenuta con la DFO (40).

I più frequenti effetti collaterali riferiti sono i sintomi gastrointestinali (nausea, vomito, epigastralgia), artropatia, deficit di zinco, ipertransaminasemia per lo più reversibili con l'interruzione della terapia. La reazione avversa più grave tuttavia è l'agranulocitosi, riscontrata in circa l'1% dei pazienti (41) che, sebbene reversibile in seguito alla sospensione del farmaco, ha fatto registrare alcuni decessi. Per questo motivo i pazienti in trattamento con DFP sono istruiti nel riportare immediatamente al proprio curante qualsiasi episodio febbrile o l'eventuale assunzione di farmaci e inoltre devono essere

sottoposti ogni 1-2 settimane alla valutazione dell'emocromo. I pazienti che hanno presentato agranulocitosi in corso di trattamento con DFP non possono inoltre riprendere la terapia con questo chelante.

Il deferasirox (DFX)

E' il chelante di più recente introduzione, registrato per l'uso clinico negli Stati Uniti nel 2006 e in Europa nel 2007. Si tratta di un chelante tridentato che determina l'escrezione del ferro per via fecale. Ha una elevata emivita plasmatica per cui i livelli terapeutici vengono mantenuti per un periodo di 24 ore. Ciò consente la mono-somministrazione giornaliera a un dosaggio variabile tra 20-30 mg/Kg (42).

La sua efficacia e sicurezza sono state valutate nel 2006 in pazienti pediatrici e adulti con talassemia major, in un ampio studio di fase III, randomizzato, in cui il DFX è stato confrontato con la desferrioxamina (43). In particolar modo il DFX ha mostrato efficacia nel ridurre la concentrazione di ferro intraepatico (44,45). Inoltre uno studio condotto da Pennel et al. nel 2010 ha dimostrato come il DFX utilizzato alla dose massima di 40 mg/Kg/die per 2 anni sia risultato efficace nel ridurre la siderosi cardiaca in pazienti con lieve-moderato accumulo di ferro (46).

I più frequenti effetti collaterali in corso di terapia con DFX sono quelli gastrointestinali (dolore addominale, nausea, diarrea), i rash cutanei, il rialzo delle transaminasi, e la tubulopatia renale. Dal momento che sono stati segnalati casi di insufficienza renale e epatica risultati in alcune occasioni fatali, è raccomandato un monitoraggio dei livelli di creatinina sierica settimanalmente durante il primo mese di terapia e successivamente mensilmente con eventuali aggiustamenti di dose o sospensione della terapia in presenza di elevazione della creatininemia. Per quanto riguarda la funzione epatica questa va valutata mensilmente con riduzione della dose in presenza di severe o persistenti elevazioni delle transaminasi (47).

Le terapie ferrochelanti combinate e alternate

Tutti i farmaci ferrochelanti attualmente a disposizione sono stati utilizzati in terapia combinata o alternata.

La maggiore letteratura riguarda l'utilizzo in combinato di DFO e DFP per il quale è documentato un meccanismo "shuttle" attraverso il quale il DFP entra all'interno delle cellule rimuovendo il ferro e trasferendolo al DFO per poi essere escreto attraverso feci e urine (48). Numerosi studi hanno dimostrato che la terapia combinata DFO + DFP risulta efficace nel migliorare il sovraccarico cardiaco di ferro valutabile tramite T2*, la LVEF (49, 50, 51), e la funzione endocrina (52), senza un aumento di incidenza degli effetti collaterali riscontrati per i singoli farmaci o comparsa di nuove tossicità.

La terapia alternata con DFO e DFP consiste invece nel somministrare i due farmaci in giorni differenti nel corso della settimana con lo scopo di aumentare la compliance nei confronti di entrambi i farmaci.

La terapia combinata DFO + DFX ancora non risulta supportata da studi estesi per cui non può essere raccomandata se non in casi selezionati mentre appare essere più promettente l'utilizzo di questi due farmaci in maniera sequenziale.

Infine citiamo la terapia combinata con DFP e DFX riguardo la quale sono stati sinora pubblicati solo pochi studi nei quali tuttavia sembrerebbe che l'utilizzo contemporaneo dei 2 farmaci si tradurrebbe in una riduzione della ferritinemia, della LIC e in un miglioramento del T2* con parallelo miglioramento della funzione cardiaca e endocrina in assenza di effetti collaterali inaspettati (53, 54, 55).

FBS0701

Si tratta di un nuovo chelante orale derivato dalla desazadesferritocina (56), appartenente a una classe di siderofori tridentati che consentono l'eliminazione fecale del ferro (57, 58).

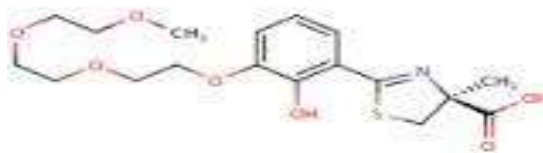


Figura 3: struttura molecolare di FBS0701 ((S)-4,5-Dihydro-2-(2-hydroxy-3-(3,6,9-trioxadecyloxy)phenyl)4-methyl-4-thiazolecarboxylic acid)

Negli studi pre-clinici, FBS0701 è risultato in grado di legare il Fe (III) con elevata affinità e selettività e ha determinato un'incidenza di eventi avversi inferiore rispetto al DFX. Ciò fa ipotizzare un profilo di sicurezza a livello clinico assai favorevole, in particolar modo per quanto riguarda la tossicità gastrointestinale e renale (56,59).

A livello clinico è stata sperimentata la sicurezza in acuto di diverse dosi di FBS0701 in pazienti affetti da sovraccarico trasfusionale di ferro e tramite studi di farmacocinetica è stata stabilita l'adeguatezza della mono-somministrazione giornaliera del farmaco (60). Nel corso di tali sperimentazioni i pazienti hanno assunto il farmaco sino ad una dose massima di 32 mg/Kg/die. In nessun caso sono stati evidenziati eventi avversi gravi o alterazioni degli esami di laboratorio. Gli effetti collaterali osservati sono stati: emicrania, inappetenza, prurito, cambiamento nel colore delle urine, dolore addominale, flatulenza, gastroenterite (60).

SCOPO DELLO STUDIO

Scopo principale dello studio al quale abbiamo partecipato come Centro Regionale per le Microcitemie, è stato quello di valutare la sicurezza e la tollerabilità di diverse dosi di FBS0701 somministrate una volta al giorno per un periodo complessivo di 96 settimane. Obiettivo secondario invece è stato quello di verificare l'efficacia delle diverse dosi di FBS0701 sulla concentrazione di ferro epatico valutata tramite RMN (R2-Ferriscan®) nel medesimo periodo di tempo.

DISEGNO DELLO STUDIO

Lo studio multicentrico, di fase 2, ha coinvolto pazienti adulti con documentato sovraccarico trasfusionale di ferro e necessità di terapia ferrochelante, provenienti da 9 centri nel mondo (Stati Uniti, Italia, Regno Unito, Turchia, Thailandia).

Lo studio si è articolato in una prima fase, della durata di 24 settimane, in cui sono state testate in aperto e in maniera randomizzata due diverse dosi di FBS0701 (16 mg/Kg e 32 mg/Kg) in monosomministrazione giornaliera. Dopo 12 settimane di trattamento e in base all'esito della RMN cardiaca ed epatico, ai pazienti randomizzati nel braccio di trattamento a dosaggio inferiore era consentito accedere al braccio di trattamento a dosaggio superiore. Nel corso della successiva fase di estensione dello studio, durata 72 settimane, è stato possibile modificare il dosaggio del farmaco sia riducendolo a 24 o 8 mg/Kg/die, sia aumentandolo sino ad un massimo di 60 mg/Kg/die. L'adeguamento del dosaggio è stato basato sulla risposta clinica, l'andamento della ferritinemia, e il risultato della RMN epatica e cardiaca (T2* cardiaco e R2 epatico) eseguite alla 48°, 72°, 96° settimana di trattamento o al di fuori di queste scadenze, quando ritenuto necessario. Nella decisione inoltre è stato tenuto conto dell'introito trasfusionale di ferro di ciascun paziente.

PAZIENTI

Allo studio hanno partecipato complessivamente 51 pazienti con diagnosi di sovraccarico trasfusionale di ferro. Di questi, 15, tutti affetti da beta talassemia major sono stati arruolati presso il nostro Centro e 14 hanno risposto ai criteri di elegibilità valutati non più di 45 giorni prima dell'assunzione della prima dose del farmaco. (Tabelle 3 e 4).

Tabella 3. Criteri di inclusione

• Età tra 18-60 anni
• Ferritina > 500 ng/ml
• LIC $\geq 3,5$ e < 30 mg/g.d.w. (R2 Ferriscan® RMN)
• T2* cardiaco ≥ 10 ms
• Media ultime 3 Hb pretrasfusionali $\geq 7,5$ g/dl
• Contraccezione

Tabella 4. Criteri di esclusione

• Ricovero nei 30 giorni precedenti lo screening
• Grave patologia in atto
• Insufficienza renale (proteinuria > 1g/die; clearance Cr < 40 mL/min)
• LVEF < 55% 12 mesi prima o alla RMN di screening
• Piastrine < 100000/ml o neutrofili < 1500/ μ l allo screening
• ALT >200 UI/L allo screening

L'età mediana al momento dell'arruolamento dei pazienti era di 30 anni (range 20 – 38 anni). Cinque pazienti appartenevano al genere femminile e 9 a quello maschile. Tre pazienti assumevano come precedente chelante DFX, 6 DFP e 1 DFO e 4 seguivano una terapia combinata DFP +DFO. Allo screening la LIC media era $15,7 \pm 8,1$ mg/g.d.w. La ferritina sierica allo screening era in media 2144 ± 893 ng/ml.

Tredici pazienti presentavano un T2* cardiaco basale > 20 ms e uno un T2* cardiaco di 16,4 ms. Dieci pazienti risultavano anti-HCV positivi.

Prima della randomizzazione i pazienti sono stati stratificati in 2 gruppi, uno ad alto e uno a basso introito trasfusionale di ferro, a seconda che la media di tale introito calcolato sui dati degli ultimi 6 mesi fosse >0,4 o $\leq 0,4$ mg/Kg/die. Cinque pazienti su quattordici presentavano un basso introito e nove un alto introito di ferro trasfusionale. L'introito di ferro trasfusionale medio risultava essere di $0,46 \pm 0,09$ mg/Kg/die

Dei 14 pazienti arruolati 7 sono stati randomizzati nel braccio di trattamento a 32 mg/Kg/die e 7 in quello a 16 mg/Kg/die.

Come riportato in tabella 5, le popolazioni dei due bracci risultano sostanzialmente omogenee.

Tabella 5 . Caratteristiche e valori basali dei pazienti arruolati

	Totale	FBS0701 16mg/Kg	FBS0701 32mg/Kg
Età			
Mediana (anni /min-max)	30 (20 - 38)	30 (20 - 38)	30 (27-32)
Sesso			
Maschi	9	4	5
Femmine	5	3	2
Precedente chelazione			
DFO	1	0	1
DFP	6	3	3
DFX	3	2	1
DFP + DFO	4	2	2
Anti-HCV positivi	10	4	6
LIC (mg/g.dw)	$15,7 \pm 8,1$	$9,2 \pm 7,9$	$10,3 \pm 6,6$
T2* cardiaco (ms)	$18,8 \pm 15,9$	$18,7 \pm 16,8$	$18,8 \pm 15,5$
Ferritina (ng/mL)	2144 ± 893	$2272 \pm 933,4$	$2017 \pm 905,4$
Introito giornaliero di Fe trasfusionale (mg/Kg/die)	$0,46 \pm 0,09$	$0,46 \pm 0,07$	$0,47 \pm 0,10$

METODI

La sicurezza e la tollerabilità di FBS0701, obiettivi primari dello studio, sono state valutate clinicamente il giorno di inizio terapia e poi settimanalmente nel corso del primo mese, ogni 2 settimane, nel corso del 2° mese, e infine ogni 4 settimane, nel corso dei restanti mesi, compresa la fase di estensione dello studio.

Nell'ambito di tali valutazioni sono stati registrati gli eventi avversi, eseguiti l'esame fisico, la rilevazione dei parametri vitali, le valutazioni ematochimiche comprendenti esami biochimici, ematologici, della coagulazione, esame urine con valutazione microscopica del sedimento, ECG (allo screening e alle settimane 12, 24, 36, 48, 72, 96).

Gli esami ematochimici sono stati eseguiti presso i laboratori BARC (Bio-analytical Research Corporation) in Belgio.

La refertazione degli ECG e il calcolo del T2* cardiaco sono stati affidati a un cardiologo indipendente, riconosciuto a livello internazionale, Dr J. Wood (Children's Hospital - Los Angeles).

Per quanto riguarda l'obiettivo secondario dello studio, cioè la valutazione dell'efficacia delle diverse dosi di FBS0701 sulla concentrazione di ferro epatico, nella prima parte dello studio si è basata sulla differenza tra la variazione media della LIC nei due differenti bracci dello studio mentre al termine della sperimentazione, si è basata sulla differenza tra la media delle LIC ad inizio e fine studio.

Per le misurazioni RM è stato utilizzato un Magnetometro General Electric (1.5 T magnet - Echo Speed).

La LIC è stata calcolata da Ferriscan® (Resonance Health, Perth, Australia) come R2 e riportata da Resonance Health.

RISULTATI

Eventi avversi

Presso il nostro Centro, nel corso dell'intera sperimentazione, non è stato riportato alcun evento avverso serio.

Gli unici effetti collaterali di probabile correlazione con il farmaco sono stati:

- disturbi gastrointestinali di lieve entità (flatulenza e in misura minore nausea, dolore addominale) (4 pazienti),
- cambiamento nel colore delle urine (1 paziente),
- sudorazione giallastra (1 paziente),
- aumento delle transaminasi (2 pazienti),
- parestesie a carico degli arti superiori e inferiori (1 paziente).

Non sono stati osservati effetti collaterali a carico del rene e del sistema ematopoietico.

Per quanto riguarda i pazienti che hanno presentato ipertransaminasemia, essi risultavano entrambi anti-HCV negativi e presentavano normali valori di transaminasi allo screening. Essi hanno mostrato alla 24[°] settimana un modico aumento delle ALT con picco massimo rispettivamente di 208 e 268 UI/l. Tale evento avverso ha portato in entrambi i casi alla sospensione della terapia e all'interruzione dello studio. I due pazienti erano stati entrambi randomizzati nel braccio di trattamento da 16 mg/Kg/die. Dopo 3 settimane di sospensione del farmaco si è osservata la normalizzazione dei valori delle transaminasi.

Per quanto riguarda la comparsa delle parestesie a carico degli arti superiori e inferiori, tale evento avverso è stato osservato durante la fase di estensione, in un paziente inizialmente randomizzato nel braccio di trattamento a 32 mg/Kg/die, nel momento in cui si è incrementata la dose da 40 a 50 mg/Kg/die. Il disturbo è successivamente regredito quasi totalmente con la riduzione della dose a 32 mg/Kg/die per 3 settimane senza subire ulteriori riesacerbazioni in seguito al successivo incremento della dose a 40 mg/Kg/die.

Gli eventi avversi segnalati presso il nostro Centro sono risultati in linea con quanto osservato sull'intera popolazione in studio, così come l'assenza di eventi avversi seri correlati con l'assunzione del farmaco (61) (Tabelle 6 e 7).

Tabella 6: Eventi avversi nella popolazione in studio presso il nostro Centro (14 soggetti)

Eventi avversi	Numero
Eventi avversi seri	0
Disturbi gastrointestinali	4
Cromaturia	1
Sudorazione giallastra	1
Ipertransaminasemia	2
Parestesie agli arti	1

Tabella 7: Principali eventi avversi nella popolazione totale in studio (51 soggetti)

Eventi avversi	Numero (%)
Eventi avversi seri	0
Disturbi gastrointestinali	14 (29%)
Cromaturia	3 (6%)
Ipertransaminasemia	8 (16%)
Cefalea	3 (6%)

Efficacia sulla LIC

Le prime 24 settimane dello studio hanno avuto lo scopo di valutare l'efficacia di due diverse dosi di FBS0701 nel ridurre la LIC.

Per quanto riguarda i pazienti che hanno assunto la dose più bassa (16 mg/Kg/die), 5 su 7 hanno presentato un aumento della LIC e 2 hanno mantenuto valori stazionari. L'aumento medio della LIC in questo gruppo è stato di $3,7 \pm 4,4$ mg/g.d.w.

Per quanto riguarda i pazienti che hanno assunto la dose più alta (32 mg/Kg/die) 2 su 7 hanno presentato una riduzione, 4 su 7 hanno mantenuto valori stazionari e 1 ha subito un incremento della LIC. La riduzione media della LIC in questo gruppo è stata di $-0,7 \pm 3,1$ mg/g.d.w. (Tabella 8).

Tabella 8. Variazione della LIC mg/g.d.w. (media \pm SD) nelle prime 24 settimane di studio

Δ LIC 16 mg/Kg/die	Δ LIC 32 mg/Kg/die
+7,4	-2,6
+12,9	-0,9
+2,6	+1,1
+1,9	-6,8
+0,9	-0,5
+0,1	+0,6
+0,2	+4
ΔLIC media: $+3,7 \pm 4,4$	ΔLIC media: $-0,7 \pm 3,1$

Quanto osservato è risultato in linea con i dati raccolti sul campione totale di 51 pazienti, in cui tra i pazienti che hanno assunto 16mg/Kg/die si è registrato un aumento medio della LIC di 3 mg/g.d.w. e in quelli che hanno assunto 32/mg/Kg/die una riduzione media di -0,3 mg/g.d.w. (61) (Figura 3).

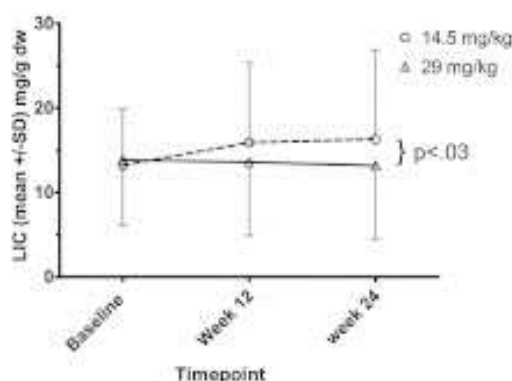


Figura 3: La differenza tra le 2 coorti di trattamento risulta statisticamente significativa ($P < 0,03$) Da Neufeld, Ellis, et al. 2012

Per quanto riguarda la fase di estensione del protocollo, durata 72 settimane, ad essa hanno partecipato 12 pazienti. Tra questi, 5 hanno completato lo studio come previsto alla 100° settimana e i restanti 7 hanno interrotto prematuramente lo studio tra la 40° e la 84° settimana.

Tra i 5 pazienti che hanno completato lo studio:

- un paziente ha ridotto la LIC di - 2,4 mg/g.d.w. in assenza di accumulo di ferro cardiaco rilevabile alla RMN, avendo assunto la dose di 32 mg/Kg/die per le prime 48 settimane dello studio, di 40 mg/Kg/die per le successive 24 settimane e infine di 50 mg/Kg /die nel corso delle ultime 24 settimane.
- un paziente ha ridotto la LIC di - 2,9 mg/g.d.w. rispetto al valore basale in assenza di accumulo di ferro cardiaco rilevabile alla RMN avendo assunto la dose di 32 mg/Kg/die per tutta la durata dello studio.
- un paziente ha ridotto la LIC di - 15,9 mg/g.d.w. rispetto al valore basale in assenza di accumulo di ferro cardiaco rilevabile alla RMN avendo assunto la dose di 32 mg/Kg/die per 48 settimane e di 40 mg/Kg/die nel corso delle successive 48 settimane.
- un paziente ha ridotto la LIC di - 2,6 mg/g.d.w, con una riduzione del T2* cardiaco di - 2,7 ms (da 16,4 a 13,7 ms) rispetto al valore basale avendo assunto la dose di 32 mg/Kg/die per 48 settimane, di 40 mg/Kg/die per le successive 12 settimane, di 50 mg/Kg/die per 28 settimane e di 60 mg/Kg/die per le ultime 8 settimane.
- un paziente ha aumentato la LIC di 6,6 mg/g.d.w. e ridotto il T2* di -22,7 ms (da 39,8 a 17,1 ms) rispetto al valore basale. Le dosi assunte sono state di 16 mg/Kg/die per 24 settimane, di 32 mg/Kg/die per le successive 24 settimane, di 40 mg/Kg/die per altre 24 settimane e 50 mg/Kg/die per le ultime 24 settimane.

In questo gruppo di pazienti si è osservato un Δ LIC medio di -3,44 mg/g.d.w. \pm 7,1 SD. Di questi pazienti 4/5 appartenevano al gruppo ad alto introito trasfusionale di ferro e 4/5 al gruppo con iniziale randomizzazione nel braccio di trattamento con la dose più alta.

Per quanto riguarda i pazienti che hanno interrotto prematuramente lo studio, in 4/7 l'abbandono dello studio, concordato tra sperimentatori e partecipanti, è stato motivato dall' aumento della LIC e in 3/7 dalla riduzione del T2* cardiaco.

Nello specifico:

- un paziente ha interrotto lo studio alla 40° settimana per aumento della LIC di + 17,3 mg/g.d.w. rispetto al valore basale in assenza di accumulo di ferro cardiaco. Le dosi assunte sono state di 16 mg/Kg/die per le prime 24 settimane e di 40 mg/Kg/die per 16 settimane. Questo paziente presentava l'introito trasfusionale di ferro più alto.
- un paziente, ha interrotto lo studio alla 48° settimana volontariamente per un aumento della LIC di + 3,2 mg/g.d.w. rispetto al valore basale in assenza di accumulo di ferro cardiaco rilevabile alla RMN. Le dosi assunte sono state di 32 mg/Kg/die per le prime 24 settimane e di 40 mg/Kg/die per le successive 24 settimane.
- un paziente ha interrotto lo studio alla 64° settimana per riduzione del T2* cardiaco di - 32,9 ms da 44,0 a 11,1 ms con riduzione della LIC di - 10,8 mg/g.d.w. Le dosi assunte sono state di 16 mg/Kg/die per 24 settimane, 32 mg/Kg/die per 24 settimane e di 40 mg/Kg/die per 16 settimane. Questo paziente presentava un basso introito trasfusionale di ferro.
- un paziente ha interrotto lo studio alla 56° settimana per riduzione del T2* cardiaco di -13,3 ms da 28,1 a 14,8 ms avendo riportato un incremento della LIC di + 0,9 mg/g.d.w. Le dosi assunte sono state di 16 mg/Kg/die per 24 settimane, di 32 mg/Kg/die per altre 24 settimane e di 40 mg/Kg/die per 8 settimane.
- un paziente ha interrotto lo studio alla 84° settimana per riduzione del T2* cardiaco di - 14,7 ms da 28.2 a 13.7 ms con riduzione della LIC di - 2,6 mg/g.d.w. rispetto ai valori basali. Le dosi assunte sono state di 16 mg/Kg/die nelle prime 24 settimane, di 32 mg/Kg/die per 36 settimane, di 40 mg/Kg/die per 12 settimane, di 50 mg/Kg/die per 12 settimane.
- due pazienti hanno interrotto lo studio alla 84° settimana per un aumento della LIC rispettivamente di + 8,8 e di + 7,6 mg/g.d.w., in un caso in assenza di accumulo di ferro cardiaco e nell'altro in presenza di una riduzione del T2* cardiaco di - 7,7 ms

da 25,7 a 18.0 ms. avendo entrambi assunto la dose di 32 mg/Kg//die per 48 settimane, di 40 mg/Kg/die per 24 settimane e di 50 mg/Kg/die per 12 settimane.

A questi 7 pazienti vanno sommati i due che hanno interrotto lo studio alla 24° settimana per comparsa di ipertransaminasemia.

In questo gruppo di pazienti si è osservato un Δ LIC di $4,9 \pm 7,9$ mg/g.d.w. Di questi, 4/7 appartenevano al gruppo ad alto introito trasfusionale di ferro.

Nei pazienti che sono stati randomizzati nel braccio di trattamento iniziale di 32 mg/Kg/die la Δ LIC media è stata di $- 0,72 \pm 3,1$ mg/g.d.w.

Nei pazienti che sono stati randomizzati nel braccio di trattamento iniziale di 16 mg/Kg/die la Δ LIC media è stata di $+ 4,5 \pm 8,8$ mg/g.d.w.

Nelle Tabella 9 e 10 si trovano riassunti i dati relativi all'intero studio.

Tabella 9. Dosi sperimentate e variazioni di LIC e T2* cardiaco tra inizio e fine studio

paziente n° ID	SETTIMANA DI TRATTAMENTO				ALIC	T2* inizio	T2* fine		
	24 settimane	48 settimane	72 settimane	96 settimane					
01	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die	-2.4	34.7	24.7		
02	32 mg/Kg/die				-2.9	42.4	29.2		
09	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die		-15.9	34.9	32.5		
13	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die	60 mg/Kg	-2.6	16.4	13.7	
07	32 mg/Kg/die	40 mg/Kg/die			+3.2	43.3	46.0		
11	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die		+8.8	25.7	18.0	
15	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die		+7.6	33.3	32.1	
04	16 mg/Kg/die				+7.4	28.1	19.9		
05	16 mg/Kg/die				+12.9	40.3	34.2		
06	16 mg/Kg/die	32 mg/Kg/die	40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die	+6.6	39.8	17.1		
08	16 mg/Kg/die	40 mg/Kg/die			+17.3	33.8	36.1		
10	16 mg/Kg/die	32 mg/Kg/die	40 mg			+0.9	28.1	14.8	
14	16 mg/Kg/die	32 mg/Kg/die		40 mg/Kg/die	50 mg/Kg/die		-2.6	28.2	13.7
12	16 mg/Kg/die	32 mg/Kg/die	40 mg/Kg/die			-10.8	44.0	11.1	

Tabella 10. Variazione della LIC mg/g.d.w. (media \pm SD) a fine studio in pazienti che hanno concluso lo studio prima di 100 settimane e in pazienti che hanno completato le 100 settimane.

ΔLIC stop < 100 settimane	ΔLIC 100 settimane
+3,2	-2,4
+8,8	-2,9
+7,6	-15,9
+7,4	-2,6
+12,9	+6,6
+17,3	
+0,9	
-2,6	
-10,8	
ΔLIC media: + 4,9 \pm 7,9	ΔLIC media: - 3,44 \pm 7,1

DISCUSSIONE

La Beta talassemia major è un disordine autosomico recessivo caratterizzato da assente o ridotta sintesi di catene beta globiniche che determina una grave anemia trasfusione dipendente. Nella beta talassemia major, così come in altre anemie congenite e acquisite che richiedano un regolare regime trasfusionale, la terapia trasfusionale, pur indispensabile per la sopravvivenza e qualità di vita dei pazienti, determina gravi complicanze legate al sovraccarico di ferro in diversi organi (fegato, cuore, ghiandole endocrine). Per questo motivo per tali pazienti la terapia ferrochelante svolge un ruolo vitale.

Attualmente si hanno a disposizione tre farmaci ferrochelanti: desferrioxamina, deferiprone e deferasirox. Ciascuno di essi tuttavia presenta caratteristiche tali (modalità di somministrazione, numero di dosi giornaliere, effetti collaterali) per cui la compliance dei pazienti può risultare ridotta, influenzando negativamente la prognosi a lungo termine. Esiste pertanto la necessità di una continua attività di ricerca in questo campo volta ad individuare nuove molecole in grado di assicurare, accanto alla efficacia chelante, la maggior compliance possibile alla terapia.

Nel corso del presente studio si è valutata la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia a livello epatico di FBS0701, un nuovo farmaco chelante per il ferro, somministrato per via orale in un'unica dose giornaliera in un gruppo di 14 pazienti affetti da beta talassemia major. La sperimentazione ha avuto una durata complessiva di 100 settimane.

Per quanto riguarda il primo obiettivo dello studio, la valutazione della tollerabilità e della sicurezza di FBS0701, è possibile affermare che il farmaco è stato generalmente ben tollerato dai pazienti che ne hanno apprezzato in particolare la modalità di somministrazione mostrando in tutti i casi una buona compliance alla terapia.

Per quanto concerne la sicurezza, non sono stati rilevati eventi avversi seri nel corso dell'intero studio presso il nostro Centro e nessun evento avverso serio collegato al farmaco è stato segnalato negli altri Centri partecipanti alla sperimentazione. I più frequenti effetti collaterali segnalati sono stati di modesta entità (disturbi gastrointestinali, cefalea, cromaturia). L'ipertransaminasemia, anch'essa modesta, non ha mostrato dose

dipendenza, essendosi manifestata in pazienti randomizzati nel braccio di trattamento con la dose più bassa, ed è regredita completamente con la sospensione del farmaco. Le parestesie agli arti, presentate da un solo paziente, sono regredite con la riduzione del dosaggio del farmaco.

Nessuno dei pazienti che hanno partecipato allo studio ha presentato eventi avversi a carico della funzione renale e in particolare nessuno ha riportato alterazioni della creatinina sierica o della clearance della creatinina per dosi sino a un massimo di 60 mg/Kg/die. Non è stato osservato nessun evento avverso a carico del sistema emopoietico. Questo dato risulta particolarmente rilevante se si considera che la tubulopatia renale per quanto riguarda il deferasirox e l'agranulocitosi per quanto riguarda il deferiprone costituiscono i principali effetti collaterali che possono limitare l'utilizzo dei due chelanti orali attualmente a disposizione.

Per quanto concerne invece l'efficacia chelante di FBS0701, nel corso delle prime 24 settimane dello studio, essa è stata valutata in termini di differenza tra la variazione media della LIC, misurata tramite RMN (R2- Ferriscan®), nei due differenti bracci dello studio.

Le dosi scelte in questa fase dello studio (16 e 32 mg/Kg/die) sono state selezionate sulla base di studi pre-clinici su ratti e primati nei quali è stata valutata biotopicamente la concentrazione del ferro intraepatico all'inizio e alla fine della sperimentazione. Sulla base di questi modelli animali infatti era stato ipotizzato che le due dosi prescelte di FBS0701 fossero in grado di indurre una escrezione giornaliera di ferro pari a 300 e 600 µg/Kg rispettivamente.

Al momento dell'arruolamento e prima della randomizzazione, i pazienti sono stati stratificati sulla base dell'introito trasfusionale di ferro, allo scopo di minimizzare l'influenza determinata da questo parametro sul risultato finale. Al termine delle prime 24 settimane di studio si è osservata una chiara risposta dose-dipendente con un aumento della LIC media di $+ 3,7 \pm 4,4$ mg/g.d.w. nel gruppo di pazienti che ha assunto la dose più bassa di FBS0701 e una riduzione media della LIC di $- 0,7 \pm 3,1$ mg/g.d.w. nel gruppo di pazienti che ha assunto la dose più alta.

In altre parole, in sei mesi la dose più alta di FBS0701 è stata in grado di determinare un

sostanziale bilancio tra introduzione ed escrezione del ferro o, in una parte dei casi, una lieve riduzione del ferro intraepatico mentre la dose inferiore si è rivelata insufficiente ad indurre un bilancio negativo del ferro.

Per quanto riguarda il T2* cardiaco valutato nel medesimo intervallo di tempo, non si è osservato alcun cambiamento rispetto ai valori registrati allo screening.

Quanto osservato è risultato in linea con quanto rilevato nell'ambito della sperimentazione multicentrica. Tale risultato ha inoltre suggerito l'ipotesi secondo cui nella successiva fase di estensione dello studio sarebbe stato sufficiente un lieve incremento di dose di FBS0701 per indurre una riduzione netta del ferro intra-epatico in una significativa percentuale di pazienti.

Pertanto durante le successive 72 settimane di trattamento si è incrementata la dose di FBS0701 sino a un massimo di 60 mg/Kg/die. L'adeguamento della dose è stato effettuato sulla base di valutazioni della LIC eseguite ogni 24 settimane o anticipatamente quando ritenuto necessario.

Attualmente non si hanno a disposizione i risultati degli altri Centri partecipanti allo studio, relativamente alla efficacia di FBS0701 registrata nel corso della fase di estensione. I dati relativi ai 12 pazienti arruolati presso il nostro Centro sono pochi e eterogenei e pongono dei limiti nel trarre considerazioni generali sull'efficacia del farmaco. Infatti i pazienti da noi valutati hanno assunto dosi diverse per periodi di tempo differenti e mostrato una suscettibilità individuale variabile a FBS0701 a parità di compliance.

A testimonianza della variabilità osservata nella risposta a FBS0701 citiamo alcuni casi:

Due pazienti hanno mostrato un notevole decremento della LIC pari a -15,9 e - 10,8 mg/g.d.w., utilizzando una dose di FBS0701 pari a 40 mg/Kg/die, partendo da valori iniziali di LIC in entrambi i casi molto elevati (rispettivamente 30 e 23 mg/g.d.w.).

In un caso invece, utilizzando la medesima dose di 40 mg/Kg/die si è determinato un importante incremento della LIC (+17,3 mg/g.d.w.) in appena 40 settimane. In questo caso però la ragione di quanto osservato potrebbe risiedere nel fatto che il paziente presentava l'introito trasfusionale di ferro più elevato tra tutti i pazienti selezionati.

In un ultimo caso infine mantenendo lo stesso dosaggio di 32 mg/Kg/die per l'intera

durata dello studio è stato possibile indurre una lieve riduzione della LIC a partire da un basso sovraccarico iniziale di ferro.

Confrontando i due gruppi di randomizzazione iniziale, si evidenzia, come atteso, che i pazienti inizialmente randomizzati nel braccio di trattamento di 32 mg/Kg/die siano anche quelli che hanno in maggior numero portato a termine la sperimentazione o comunque abbandonato lo studio più tardivamente. Infatti dei 7 soggetti inizialmente arruolati nel braccio di trattamento con il dosaggio più alto 4 hanno portato a termine la sperimentazione riportando un bilancio negativo del ferro intraepatico e 2 hanno comunque proseguito lo studio sino alla 84[°] settimana pur riportando un incremento della LIC.

Una considerazione rilevante deve invece essere effettuata riguardo il T2* cardiaco. Tale parametro non è stato preso in considerazione dallo studio come indicatore dell'efficacia chelante di FBS0701. Tuttavia è importante notare che in 5 casi su 14 si è osservata riduzione del T2* cardiaco e che in 3 casi su 7 ciò è stato motivo di interruzione anticipata dello studio.

In particolare per un paziente che al momento dello screening non presentava accumulo di ferro cardiaco, la riduzione di T2* cardiaco in 16 mesi è stata tanto marcata da portarlo a un valore prossimo ai 10 ms, cioè vicino ad un accumulo severo di ferro. Questo paziente presentava un basso introito trasfusionale di ferro ed era stato inizialmente randomizzato nel braccio di trattamento di 16mg/Kg/die.

Negli altri pazienti che hanno presentato una riduzione del T2* cardiaco ciò in 2 casi ha comportato il passaggio da un valore indicativo di assenza di accumulo di ferro a un accumulo lieve, in 1 caso non ha modificato lo stato di rischio che è rimasto quello di un accumulo moderato, e in 1 caso il paziente è passato da uno stato di assenza di ferro cardiaco a quello di un accumulo moderato.

A tale proposito risulterà di estremo interesse conoscere i risultati relativi all'andamento del T2* cardiaco riportati negli altri Centri coinvolti nello studio. Infatti proprio l'efficacia chelante di FBS0701 a livello cardiaco potrebbe rilevarsi un fattore limitante per il suo utilizzo clinico.

CONCLUSIONI

Il sovraccarico di ferro costituisce la maggiore problematica nei pazienti affetti da anemie congenite e acquisite che richiedano un regolare regime trasfusionale.

I farmaci ferrochelanti attualmente utilizzati nella pratica clinica sono ancora lontani dal rispondere pienamente alle caratteristiche del chelante ideale.

E' quindi necessaria una continua attività di ricerca in questo campo in modo da individuare nuove molecole in grado di ottimizzare la terapia del sovraccarico di ferro nei pazienti trasfusione - dipendenti.

In quest'ottica si è inserita la sperimentazione presso il nostro Centro di FBS0701, un nuovo chelante orale del ferro utilizzabile in mono-somministrazione giornaliera.

Sulla base della nostra sola esperienza possiamo affermare che FBS0701 appare dotato delle seguenti caratteristiche:

- Buon profilo di sicurezza e tollerabilità.
- Efficacia chelante a livello epatico promettente ma ancora da verificare mediante estensione del campione in esame e sperimentazione di dosi maggiori per un congruo periodo di tempo.
- Efficacia chelante a livello cardiaco apparentemente limitata e anch'essa da verificare mediante ulteriori studi.

Bibliografia

1. Porter JB. *Practical management of iron overload*. Br J Haematol 2001;115: 239-252
2. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. *High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin*. Nat Med. 2007;13(9):1096-1101.
3. Anderson LJ, Holden S, Davis B, et al. *Cardiovascular T2-star magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload*. Eur Heart J 2001; 22:2171-2179
4. Weatherall DJ, *Survival Anemia as a World Health Problem*. In: Oxford Textbook of Medicine. Oxford University Press 1996; 22: 3463-82
5. Thein SL. *Genetic insights into the clinical diversity of thalassaemia* [review]. Br J Haematol 2004; **124**: 264-74.
9. Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH, et al. *Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia*. N Engl J Med. 1994; 331(9):574-578.
10. Gabutti V, Piga A. *Results of long-term ironchelating therapy*. Acta Haematol. 1996;95(1):26-36.
11. Telfer PT, Prestcott E, Holden S, et al. *Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major*. Br J Haematol.2000;110(4):971-977.

12. Davis BA, O'Sullivan C, Jarritt PH, et al. *Value of sequential monitoring of left ventricular ejection fraction in the management of thalassemia major.* Blood. 2004;104(1):263-269.
13. Kirk P, Roughton M, Porter JB, et al. *Cardiac T2* magnetic resonance for prediction of cardiac complications in thalassemia major.* Circulation. 2009;120(20):1961-1968.
14. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, et al. *Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major.* N Engl J Med. 2000; 343(5):327-331.
15. Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, et al. *Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major.* N Engl J Med. 1994;331(9):567-573.
16. Angelucci E, Baronciani D, Lucarelli G, et al. *Needle liver biopsy in thalassaemia: analyses of diagnostic accuracy and safety in 1184 consecutive biopsies.* Br J Haematol. 1995;89(4):757-761.
17. Jensen PD, Jensen FT, Christensen T, et al. *Relationship between hepatocellular injury and transfusional iron overload prior to and during iron chelation with desferrioxamine: a study in adult patients with acquired anemias.* Blood. 2003; 101(1):91-96.
18. Fischer R, Piga A, Harmatz P, Nielsen P. *Monitoring long-term efficacy of iron chelation treatment with biomagnetic liver susceptometry.* Ann N Y Acad Sci. 2005;1054:350-7
19. Hardy PA, Henkelman RM. *Transverse relaxation rate enhancement caused by magnetic particulates.* Magn Reson Imaging. 1989 May-Jun;7(3):265-75
20. Cohen AR, Galanello R, Pennell DJ, Cunningham MJ, Vichinsky E. *Thalassemia.* Hematology. Washington, DC: American Society of Hematology 2004:14-34

21. Timothy G. St. Pierre et al. *Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance* 2005 105: 855-861 doi:10.1182/blood-2004-01-0177 originally published online 2005 105: 855-861
22. Timothy G. St. Pierre et al. *Multicenter validation of spin-density projection-assisted R2-MRI for the noninvasive measurement of liver iron concentration* : *Magnetic Resonance in Medicine* 2 JUL 2013 :
23. Pennell DJ. *T2* Magnetic Resonance and Myocardial Iron in Thalassemia*. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1054: 373-853
24. Wood JC. *Cardiac iron across different transfusion – dependent diseases*. *Blood Rev* 2008. 22 Suppl 2 : 514-521.
25. Alpendurada F., Carpenter JC, Deac M, et al. *Relation of myocardial T2* to right ventricular function in thalassemia major* . *Eur Heart J* 2010; 31 (13); 1648-1654.
26. Modell B, Khan M, Darlison M, et al., *Improved survival of thalassemia major in UK and relation to T2* cardiovascular magnetic resonance*. *L Cardiovasc Magn Reson* 2008; 10:42.
27. Anderson LJ, Westwood MA, Prescott E, Walker JM, Pennell DJ, Wonke B. *Development of Thalassaemic Iron Overload Cardiomyopathy despite Low Liver Iron Levels and Meticulous Compliance to Desferrioxamine*. *Acta Haematologica* 2006; 115: 106-108
28. Sephton-Smith R. *Iron excretion in thalassaemia major after administration of chelating agents*. *BMJ* 1962; 2: 1577-80

29. Hussain MA, Green N, Flynn DM, Hoffbrand AV. *Effect of dose, time, and ascorbate on iron excretion after subcutaneous desferrioxamine*. *Lancet* 1977; 1: 977-979
30. Hershko C, Weatherall DJ. *Iron-chelating therapy*. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 1988; 26:3039-345
31. Finch CA, Deubelbeiss K, Cook JD et al. *Ferrokinetics in man*. *Medicine (Baltimore)*. 1970; 49: 17-53
32. Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH, et al. *Survival in medical treated patients with homozygous beta-thalassemia*. *N Engl J Med* 1994;331(9): 574-578.
33. Tanner MA, Galaenllo R, Desi C, et al *Myocardial iron loading in patients with thalassemia Major on deferoxamine chelation* *Cardiovasc Magn Reson* 2006; 8 (3):543-547.
34. Gabutti V, Piga A. *Results of long-term iron-chelating therapy*. *Acta Haematol.* 1996;95(1):26-36. Review
35. Cunningham MJ, Macklin EA, Neufeld EJ, Cohen AR; Thalassemia Clinical Research Network. *Complications of beta-thalassemia major in North America*. *Blood*. 2004 Jul 1;104(1):34-9. Epub 2004 Feb 26
36. Hoffbrand AV, Cohen A, Hershko C. *Role of deferiprone in chelation therapy for transfusional iron overload*. *Blood*. 2003;102(1):17-24.
37. Glickstein JI, El RB, Shvartsman M, et al. *Intracellular labile iron pools as direct targets of iron chelators: a fluorescence study of chelator action in living cells*. *Blood*. 2005;106(9):3242-3250.

38. Borgna-Pignatti C, Cappellini MD, DE Stefano P, et al. *Cardiac morbidity and mortality in deferoxamine or deferiprone treated patients with thalassaemia major*. *Blood*. 2006;107(9):3733-3737.
- 39 . Porter JB, Abeysinghe RD, Hoyes KP et al. *Contrasting interspecies efficacy and toxicology of 1,2-diethyl-3-hydroxypyridin-4-one, CP94, relates to different metabolism of the iron chelating site*. *Br. J. Hematology*. 1993; 85: 516-520
40. Hoyes KP, Porter JB. *Subcellular distribution of desferrioxamina and hydroxypyridin-4-one chelators in K562 cells affect chelation of intracellular iron pools*. *Br. J. Haematol*. 1993; 85:393-400
- 41 . Cohen A, Galanello R, Piga A, Di Palma A, Vullo C, Tricta F. *Safety profile of the oral iron chelator deferiprone: a multicenter study*. *Br. J Haematology*. 2000; 108: 305-312
42. Porter JB. *Deferasirox--current knowledge and future challenges*. *Ann N Y Acad Sci*. 2010 Aug;1202:87-93
43. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Bejaoui M, Perrotta S, Agaoglu L, Aydinok Y, Kattamis A, Kilinc Y, Porter J, Capra M, Galanello R, Fattoum S, Drelichman G, Magnano C, Verissimo M, Athanassiou-Metaxa M, Giardina P, Kourakli-Symeonidis A, Janka-Schaub G, Coates T, Vermynen C, Olivieri N, Thuret I, Opitz H, Ressayre-Djaffer C, Marks P, Alberti D. *A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia*. *Blood*. 2006 May 1;107(9):3455-62
44. Galanello R, Piga A, Alberti D, Rouan MC, Bigler H, Séchaud R. *Safety, tolerability, and pharmacokinetics of ICL670, a new orally active iron-chelating agent in patients with transfusion-dependent iron overload due to beta-thalassemia*. *J Clin Pharmacol*. 2003 Jun;43(6):565-72

45. Wood JC, Glynos T, Thompson A, Giardina P, Harmatz P, Kang BP, Paley C, Coates TD. *Follow-up report on the 2-year cardiac data from a deferasirox monotherapy trial.* Am J Hematol. 2010 Oct;85(10):818-9
46. Dudley J, Pennell, John B, Porter, Maria Domenica Cappellini, Lee Lee Chan, Amal El-Beshlawy, Yesim Aydinok, Hishamshah Ibrahim, Chi-Kong Li, Vip Viprakasit, Mohsen Saleh Elalfy, Antonis Kattamis, Gillian Smith, Dany Habr, Gabor Domokos, Bernard Roubert, and Ali Taher. *Continued improvement in myocardial T2* over 2 years of deferasirox therapy in β -thalassemia major patients with cardiac iron overload.* Haematologica 2010 (Epub ahead of print)
47. Vichinsky E. *Clinical application of deferasirox: practical patient management.* Am J Hematol. 2008;83(5):398-402.
48. Evans P, Kayyali R, Hider RC, et al. *Mechanisms for the shuttling of plasma non-transferrin bound iron (NTBI) onto deferoxamine by deferiprone.* Transl Res. 2010;156(2):55-67.
49. Galanello R, Agus A, Campus S, et al. *Combined iron chelation therapy.* Ann NY Acad Sci. 2010; 1202:79-86.
50. Tanner MA, Galanello R, Dessi C, et al. *A randomized, placebo-controlled, double blind trial of the effect of combined therapy with deferoxamine and deferiprone on myocardial iron in thalassemia major using cardiovascular magnetic resonance.* Circulation. 2007;115(114):1876-1884.
51. Tanner MA, Galanello R, Dessi C, et al. *Combined chelation therapy in thalassaemia major for the treatment of severe myocardial siderosis with left ventricular dysfunction.* J Cardiovasc Magn Reson. 2008;10:12

52. Farmaki K, Tzoumari I, Pappa C, et al. *Normalisation of total body iron load with very intensive combined chelation reverses cardiac and endocrine complications of thalassaemia major.* Br J Haematol. 2010;148(3):466-475.
53. Farmaki K, Tzoumari I, Pappa C. *Oral chelators in transfusion-dependent thalassemia may prevent or reverse iron overload complications.* Blood Cells Mol Dis. 2011;47(1):33-40.
54. Berdarkas V, Carson S, Nord A, et al. *Combining two orally active chelators for thalassemia.* Ann Hematol. 2010;89(11):1177-1178.
55. Voskaridou E, Christoulas D, Terpos E. *Successful chelation therapy with the combination of deferasirox and deferriprone in a patient with thalassemia and persisting iron overload after single agent chelation therapies.* Br J Haematol. 2011; 154(5):654-656.
56. Bergeron RJ; Wiegand J, McManis JS, et al. *Design, synthesis, and testing of non-nephrotoxic desazadesferrithiocin polyether analogues.* J Med Chem Jul 10 2008°; 51(13): 3913-3923.
57. Bergeron RJ; Wiegand J, McManis JS, et al. *Effects of C-4 Stereochemistry an C-4' hydroxylation on the iron cleaning efficiency and toxicity of desferrithiocin analogues.* J Med Chem Vol 42 1999: 2432-2440.
58. Bergeron RJ; Wiegand J, Bharti N, Singh S, Rocca JR, *Impact of the 3,6,9-Trioxadcyloxy group on desazadesferrithiocin analogue iron clearance and organ distribution.* J Med Chem Vol 50; 2007; 3302-3313.

59. Hahn FE, McMurry TJ, Hugi A, Raymond KN, *Coordination chemistry of microbial iron transport* 42. *Structural and spectroscopic characterization of diastereomeric chromim (III) and cobalt (III) complexes of desferrithiocin* J AM Chem Soc 1990; 112; 1854-1860.
60. Rienhoff Jr, Viprakasit V, Tay L, et al *A phase I dose –escalation study: safety, tolerability, and pharmacokinetics of FBS0701, a novel oral iron chelator for the treatment of transfusional iron overload* Haematologica 2011; 96: 521-525.
61. Neufeld EJ, Galanello R, et al. *A phase 2 study of the safety, tolerability, and pharmacodynamics of FBS0701, a novel oral iron chelator, in transfusional iron overload.* Blood 2012 Apr 5; 119 (14): 3263-8.doi: 10.1182/blood-2011-10-386268. Epub 2012 Jan 17.