

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE
“AMEDEO AVOGADRO”

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

Talidomide: effetti teratogeni e nuovi impieghi clinici

Relatore

Prof. Salvatore Terrazzino

Candidato

Giorgia Radaelli

Anno Accademico 2022-2023

Sessione straordinaria (marzo)

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DEL PIEMONTE ORIENTALE

“AMEDEO AVOGADRO”

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DEL FARMACO

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

Talidomide: effetti teratogeni e nuovi impieghi clinici

Relatore

Prof. Salvatore Terrazzino

Candidato

Giorgia Radaelli

Anno Accademico 2022-2023

Sessione straordinaria (marzo)

Elenco abbreviazioni

- ADR: Adverse Drug Reaction
- ASD: difetto del setto interatriale
- BB: lebbra borderline media
- BL: lebbra lepromatosa borderline
- BT: lebbra tubercoloide borderline
- CRBN: proteina Cereblon
- DDB1: DNA damage-binding protein
- DIV: difetti del setto interventricolare
- EMD: Mieloma multiplo extramedullare
- ENL: Eritema nodoso lepromatoso
- EPO: Eritropoietina
- FDA: Food and Drug Administration
- FGF: Fattore di crescita dei fibroblasti
- FGFR3: Recettore di tipo 3 per il fattore di crescita dei fibroblasti
- IGF1: Fattore di crescita insulino-simile 1
- IL-1 β : Interleuchina 1 β
- IL-8: Interleuchina 8
- IL-12: Interleuchina 12
- LLp: lebbra lepromatosa
- MB: lebbra multibacillari
- MGUS: Gammopatia monoclonale di significato indeterminato
- MM: Mieloma multiplo
- MP: Protocollo melfalan-prednisone
- NF- κ B: Nuclear Factor kappa B
- OAF: Fattori attivanti l'osteoclasta
- OMS: Organizzazione Mondiale della Sanità
- OPG: Osteoprotegerina
- PB: lebbra paucibacillari
- PBN: α -fenil-N-tert-butilnitro

- ROS: Specie reattive dell'ossigeno
- SNC: Sistema nervoso centrale
- TACC3: Transforming acidic coiled-coil protein
- TNF α : Fattore di necrosi tumorale α
- TT: lebbra tubercolare
- TVP: Trombosi venosa profonda
- VEGF: Fattore di crescita endoteliale vascolare

INDICE

<i>Introduzione</i>	9
CAPITOLO I	11
1. Origine e storia della talidomide	11
2. Struttura chimica e chiralità	13
3. Farmacocinetica	15
4. Reazioni avverse	16
4.1 Effetti teratogeni	16
4.1.1 <i>Difetti degli arti</i>	17
4.1.2 <i>Difetti dell'apparato visivo</i>	19
4.1.3 <i>Difetti cardiaci</i>	20
4.1.4 <i>Difetti del sistema urogenitale</i>	22
4.1.5 <i>Difetti facciali</i>	23
4.1.6 <i>Difetti nello sviluppo neurologico: danni al SNC</i>	23
5. Farmacodinamica	24
5.1 <i>Ipotesi dello stress ossidativo</i>	25
5.2 <i>Ipotesi di antiangiogenesi</i>	27
5.3 <i>Il ruolo di CRBN e DDB1</i>	30
CAPITOLO II	33
1. Premessa	33
2. Mieloma multiplo	35
2.1 <i>Patogenesi</i>	36
2.2 <i>Sintomatologia</i>	41
2.2.1 <i>Anemia</i>	41
2.2.2 <i>Patologie renali</i>	42

2.2.3 <i>Patologia ossea</i>	43
2.2.4 <i>Altre complicazioni</i>	45
2.3 <i>Approcci terapeutici</i>	45
2.3.1 <i>Trattamento con talidomide</i>	47
3. Eritema nodoso lepromatoso	52
3.1 <i>Manifestazioni cliniche</i>	53
3.2 <i>Approcci terapeutici</i>	57
3.2.1 <i>Trattamento con talidomide</i>	58
4. Altri impieghi clinici	61
<i>Conclusioni</i>	63
<i>Bibliografia</i>	66
<i>Sitografia</i>	75
<i>Ringraziamenti</i>	77

Introduzione

Definire tragedia, quella legata alla talidomide non è certo un'esagerazione; sviluppato e commercializzato nella seconda metà del Novecento, la talidomide prometteva di essere un farmaco sedativo-ipnotico con un rapporto rischio/beneficio estremamente favorevole rispetto agli altri medicinali disponibili sul mercato. Venne perfino prescritta per il trattamento farmacologico della nausea gravidica, di cui parleremo dettagliatamente nel prosieguo del presente elaborato.

Tuttavia, fu proprio questa specifica indicazione dell'uso della talidomide in gravidanza a segnare la storia di uno dei peggiori disastri medici della storia; oltre 10.000 bambini nacquero con gravi malformazioni invalidanti in oltre 40 paesi nel mondo¹.

La talidomide, infatti, è ad oggi considerato uno dei principali agenti teratogeni², ovverosia una sostanza in grado di determinare anomalie e malformazioni nel corso dello sviluppo embrionale.

Le motivazioni correlate alla mancata evidenza della teratogenicità in fase preclinica sarà oggetto di disamina; tuttavia, si anticipa sin da subito che il disastro della talidomide ha dimostrato per la prima volta che esistono sostanziali differenze di specie nella risposta ad un farmaco.

Si segnala, a tal proposito, che studi più recenti³ oltre ad aver messo in luce le criticità del processo di sperimentazione dell'epoca, hanno permesso una maggior conoscenza dei meccanismi molecolari alla base della teratogenicità della talidomide.

Infatti, nonostante il farmaco fosse stato ritirato dal commercio nel 1961, i ricercatori hanno continuato ad analizzarne il meccanismo d'azione e, rispettivamente nel 1998 e nel 2006 è stato approvato negli Stati Uniti, dalla Food and Drug Administration (FDA), per il trattamento dell'eritema nodoso lepromatoso e del mieloma multiplo⁴.

¹ GHOBRIAL IM, RAJKUMAR SV. *Management of thalidomide toxicity*, «J Support Oncol», 2003 Sep-Oct, 1(3): pag 194-205.

² VARGESSON N., *Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms*, «Birth Defects Research», 4 June 2015, Vol 105: pag. 140-156

³ TAKUMI I., HIROSHI H., *Molecular mechanisms of thalidomide and its derivatives*. «Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Sciences», 2020; 96(6):189-203

⁴ TAKUMI I., HIROSHI H., *Molecular mechanisms of thalidomide and its derivatives*. «Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Sciences», 2020; 96(6):189-203

Occorre inoltre mettere in luce come la tragedia della talidomide sia stato il punto di partenza per lo sviluppo della farmacovigilanza, definita dall'OMS come «*la scienza e le attività relative all'individuazione, alla valutazione, alla comprensione e alla prevenzione degli effetti avversi o di qualsiasi altro problema correlato ai farmaci*»⁵. Dal 1964, infatti, sono stati istituiti dei sistemi di rilevazione spontanea di reazioni avverse ai farmaci (ADR) con lo scopo di monitorare a livello internazionale la sicurezza degli stessi, standardizzando le metodiche di segnalazione rilevate e agevolando la comunicazione tra paesi.

Fatta questa doverosa premessa, lo scopo del presente elaborato non verterà unicamente sulla disamina dell'entità dei danni causati dall'impiego della talidomide durante il periodo gestazionale, bensì, l'illustrazione analitica dei recenti progressi nell'ambito della ricerca farmaceutica.

⁵ CABRERA G., *Pharmacovigilance* «CINAHL Nursing Guide EBSCO Publishing», 2018

CAPITOLO I

LA TALIDOMIDE

Sommario: 1. Origine e storia della talidomide - 2. Struttura chimica e chiralità - 3. Farmacocinetica - 4. Reazioni avverse - 4.1 Effetti teratogeni - 4.1.1 Difetti degli arti - 4.1.2 Difetti dell'apparato visivo - 4.1.3 Difetti cardiaci - 4.1.4 Difetti del sistema urogenitale - 4.1.5 Difetti facciali - 4.1.6 Difetti nello sviluppo neurologico: danni al SNC - 4.2 Effetti avversi - 5. Farmacodinamica - 5.1. Ipotesi dello stress ossidativo- 5.2 Ipotesi di antiangiogenesi - 5.3 Il ruolo di CRBN e DDB1

1. Origine e storia della talidomide

La talidomide fu sintetizzata per la prima volta nel 1953 da Wilhem Kunz presso i laboratori Chemie Gruenthal nella Germania occidentale.⁶ Introdotto per la prima volta nel 1956 con il nome commerciale Contergan[®]⁷, esso prometteva di essere un potente e, apparentemente sicuro, sedativo-ipnotico non barbiturico.

⁶ PAPASEIT E., GARCÍA-ALGAR O., FARRÉ Y. M., *Thalidomide: an unfinished history*, «Helsevier Doyma», 2013; 78(5): pag. 283-287

⁷ VON MOOS R., STOLZ R., CERNY T., GILLESSEN S., *Thalidomide: from tragedy to promise*, «Swiss Medical Weekly», 2003; 133: pag. 77-87

I test preclinici sugli animali avevano, infatti, dimostrato che la principale differenza tra talidomide e altri ipnotici era la sua tossicità acuta estremamente bassa.

A differenza dei barbiturici, infatti, la talidomide non provocava incoordinazione nei movimenti, narcosi ed eccitazione iniziale; inoltre, l'effetto calmante sul sistema nervoso centrale e la riduzione dell'attività volontaria non erano correlati ad effetti collaterali a livello cardiocircolatorio e respiratorio⁸.

Nel 1957 ne fu autorizzata la vendita, senza prescrizione medica, per il trattamento sintomatico della nausea e del vomito durante la gravidanza guadagnando popolarità in Europa e in Canada; si segnala infatti che, dopo solo tre anni dalla commercializzazione, le vendite in Germania ammontavano a 14,6 tonnellate⁹.

Parallelamente al grande successo del farmaco, si iniziarono ad evidenziare dei casi sospetti di focomelia; ovverosia una malformazione congenita dello scheletro, caratterizzata dal ridotto o dal mancato sviluppo del segmento prossimale di uno o di più arti. La correlazione tra talidomide e focomelia non fu immediata; tant'è che bisognerà attendere i primi anni Sessanta per averne la conferma.

Nonostante l'approvazione in Canada, nel 1960, la farmacologa statunitense della FDA dr.ssa Frances Oldham Kelsey, negò l'immissione in commercio del farmaco Kevadon della casa farmaceutica Richardson-Merrell, contenente talidomide, in quanto gli studi fino a quel momento effettuati vennero ritenuti dalla stessa superficiali e poco attendibili dato anche il numero esiguo di soggetti presi in esame.

Come riportato da John Swann, storico della FDA, durante un colloquio con Kelsey nel 1989: «*Non avevano casi di studio dettagliati, non hanno fornito i dati sulla tossicità cronica necessari, le informazioni sulla chimica erano inadeguate*»¹⁰. Nel corso dei mesi successivi, Kelsey continuò a richiedere informazioni sulla sicurezza del farmaco alla casa farmaceutica Richardson-Merrell, sino a quando, in Europa, cominciarono ad emergere le prime evidenze della teratogenicità della talidomide.

⁸ SOMERS GF. *Pharmacological properties of thalidomide (alpha-phthalimido glutarimide), a new sedative hypnotic drug*, «British Journal of Pharmacology and Chemotherapy», 1960 Mar; 15(1):111-6

⁹ VON MOOS R., STOLZ R., CERNY T., GILLESSEN S., *Thalidomide: from tragedy to promise*, «Swiss Medical Weekly», 2003; 133: pag. 77-87

¹⁰ WATTS G., *Frances Oldham Kelsey* «Lancet», 3 Oct 2015; Vol 386 (10001).

Nel 1961 il pediatra tedesco Widukind Lenz avanzò per primo il sospetto che l'aumento delle malformazioni congenite manifestatesi in quel periodo fossero correlate alla somministrazione di talidomide durante la gravidanza e, poco dopo, la medesima correlazione fu evidenziata dal ginecologo Australiano William G. McBride.¹¹

Come riportato nella lettera che McBride scrisse nel dicembre del 1961 all'autorevole rivista medica *The Lancet*; “Negli ultimi mesi ho osservato che l'incidenza di gravi anomalie multiple nei bambini nati da donne a cui è stato somministrato il farmaco talidomide (“Distaval”) durante la gravidanza, come antiemetico o come sedativo, è quasi del 20%”.¹²

Le preoccupazioni avanzate da Lenz e McBride si rivelarono corrette; furono oltre 10.000 i bambini nati con malformazioni in tutto il mondo. Un dato talmente sconcertante da obbligare la Gruenthal al ritiro della talidomide dal commercio europeo e mondiale.

2. Struttura chimica e chiralità

La talidomide nome IUPAC *2-(2,6-dioxopiperidin-3-yl)isoindole-1,3-dione* è un derivato sintetico dell'acido glutammico ed è costituita da due strutture cicliche legate tra loro: la ftalimmide e la glutarimmide.¹³ L'atomo di azoto della ftalimmide è legato ad un atomo di carbonio della glutarimmide che è sostituito con quattro sostituenti diversi fra loro. L'atomo di carbonio in questione, presentando quindi quattro sostituenti differenti, viene definito *centro stereogenico* e il farmaco presenterà due forme dette *enantiomeri*; vale a dire coppie di stereoisomeri caratterizzati dal fatto di essere immagini speculari non sovrapponibili.

¹¹ VON MOOS R., STOLZ R., CERNY T., GILLESSEN S., Thalidomide: from tragedy to promise, «Swiss Medical Weekly», 2003; 133: pag. 77–87

¹² MCBRIDE W. G., *Thalidomide and Congenital Abnormalities, Letter to the Editor*, «The Lancet 2», December 16, 1961: 1358

¹³ Centro nazionale per l'informazione biotecnologica. Riepilogo del composto PubChem per CID 5426, Thalidomide, PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thalidomide>, (Accesso effettuato il 22 novembre 2023).

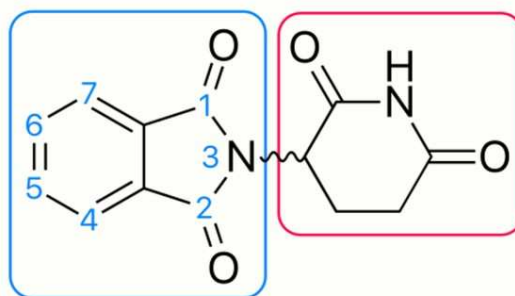


Fig. 1 - Struttura della talidomide. Costituita da due strutture cicliche: ftalimmide in azzurro e glutarimmide in rosa

Fonte: <https://handwiki.org/wiki/index.php?curid=>

Gli enantiomeri differiscono nella direzione della rotazione del piano di luce polarizzata; quando la rotazione avviene in senso orario parliamo di enantiomero destrogiro (R) mentre quando avviene in senso antiorario di levogiro (S).

Gli enantiomeri possono presentare medesima attività biologica ed essere quindi ugualmente attivi; tuttavia, non di rado, possono mostrare significative differenze sia in termini quantitativi, ovvero sia un enantiomero sarà più attivo dell'altro, sia in termini qualitativi, ossia i due enantiomeri avranno attività differente. Nel caso specifico della talidomide l'enantiomero destrogiro (R) è responsabile dell'effetto sedativo desiderato ed è efficace nel trattamento della nausea, l'enantiomero levogiro (S) è teratogeno.

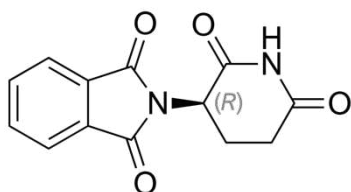


Fig.2 – Enantiomero (R)

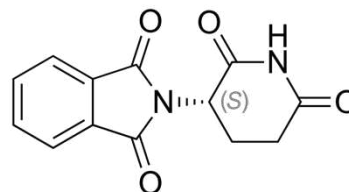


Fig.3 – Enantiomero (S)

Alla luce di quanto pocanzi illustrato si potrebbe dunque pensare che la teratogenicità della molecola si sarebbe potuta superare commercializzando unicamente l'enantiomero destrogiro (R); questo approccio risulta tuttavia inefficace in quanto è stato successivamente dimostrato che quest'ultimo in vivo racemizza rapidamente e si converte dunque nell'enantiomero levogiro (S)¹⁴.

¹⁴ ERIKSSON T., BJÖURKMAN S., ROTH B., FYGE A., HÖUGLUND P., *Stereospecific determination, chiral inversion in vitro and pharmacokinetics in humans of the enantiomers of thalidomide*, «Chirality», 1995, Vol 7, pag 44-52

3. Farmacocinetica

La talidomide si presenta come una polvere bianca cristallina e stabile, ha un peso molecolare di 258,23 e un punto di fusione di circa 270°C.¹⁵ Viene somministrata per via orale con un tempo medio di picco delle concentrazioni plasmatiche (Tmax) che varia dalle 2,9 a 5,7 ore dopo una singola dose da 50 a 400 mg.¹⁶ L'emivita dopo una singola dose di 200 mg è compresa tra le 4 e le 8 ore.¹⁷

Il legame con le proteine plasmatiche non è mai stato determinato per la talidomide racemica; tuttavia, il legame degli enantiomeri (R) e (S) all'albumina sierica umana è stato stimato rispettivamente al 55 e al 66%.¹⁸ È stato osservato anche un debole legame con i globuli rossi e con la 1-glicoproteina acida, il cui ruolo sarà oggetto di analisi nel corso dell'elaborato.

Relativamente al metabolismo, la talidomide sembra subisca idrolisi spontanea non enzimatica a pH fisiologico con formazione di tre prodotti: acido N- (o-carbossibenzoil) glutammico ammidico, ftaloilglutammina e ftaloilisoglutammina e tre prodotti di idrossilazione: 5-idrossitalidomide, cis-5'-idrossitalidomide e trans-5'-idrossitalidomide. Nonostante studi in vitro abbiano dimostrato una parziale metabolizzazione epatica del farmaco dal sistema del citocromo P450 con formazione del composto 5-OH, gli studi sull'uomo hanno messo in luce che la sintesi di 5-OH è minima e trascurabile.¹⁹

Risulta scarsamente solubile in acqua a causa della sua elevata lipofilia ed inoltre, presentando una ridotta dissoluzione nel tratto gastrointestinale, il suo tasso di eliminazione è maggiore del suo tasso di assorbimento che quindi risulterà essere lento ed esteso; l'eliminazione avviene principalmente tramite le urine.²⁰

Per quanto concerne le interazioni farmacologiche, essendo trascurabile il metabolismo a carico dei citocromi, non sono state evidenziate interazioni con farmaci metabolizzati dal medesimo sistema né con contraccettivi orali, warfarin, cimetidina e diltiazem. La

¹⁵ Centro nazionale per l'informazione biotecnologica. Riepilogo del composto PubChem per CID 5426, Thalidomide, PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thalidomide>, (Accesso effettuato il 22 novembre 2023).

¹⁶ TEO S. K., COLBURN W. A., TRACEWELL W. G. [et al.], *Clinical Pharmacokinetics of Thalidomide*, «Clinical Pharmacokinetics», 2004, vol. 43, pag. 311–327

¹⁷ Drugbank, Thalidomide, <https://go.drugbank.com/drugs/DB01041>. (Accesso effettuato il 22 novembre 2023)

¹⁸ Vedi nota n 17

¹⁹ Drugbank, Thalidomide, <https://go.drugbank.com/drugs/DB01041>. (Accesso effettuato il 5 maggio 2023)

²⁰ Vedi nota 15

somministrazione di talidomide in pazienti con compromissione della funzionalità epatica o renale risulta possibile e priva di particolari controindicazioni, in quanto il farmaco viene escreto, per la sua quasi totalità, passivamente²¹.

4. Reazioni avverse

La World Health Organization (WHO) definisce una reazione avversa al farmaco (ADR) come *"Una risposta ad un farmaco che sia dannosa, non intenzionale e che si verifichi alle dosi normalmente utilizzate dall'uomo per la profilassi, la diagnosi o la terapia di una malattia, o per modificarne le funzioni fisiologiche"*.²²

A partire dal 2012, la nuova normativa²³ in materia di farmacovigilanza ha modificato la definizione di reazione avversa, intesa ora come "Effetto nocivo e non voluto conseguente all'uso di un medicinale".²⁴ Tale definizione, tiene conto, quindi, anche di tutte quelle reazioni che possono intercorrere in seguito ad abuso, uso off label, sovradosaggio ed errore terapeutico.

Vediamo ora, nel dettaglio, i principali danni correlati all'uso di talidomide in gravidanza.

4.1 Effetti teratogeni

Si definisce teratogeno un farmaco che, se assunto durante il periodo gestazionale, è in grado di determinare anomalie e alterazioni nel normale sviluppo che vengono a manifestarsi sotto forma di aborto, malformazioni, ritardo e alterazione della crescita degli organi e del sistema nervoso.

Il primo trimestre, definito periodo critico, risulta essere quello maggiormente suscettibile ad un agente teratogeno, tra la seconda e l'ottava settimana, difatti, ha inizio la formazione

²¹ SOMERS GF. *Pharmacological properties of thalidomide (alpha-phthalimido glutarimide), a new sedative hypnotic drug*, «British Journal of Pharmacology and Chemotherapy», 1960 Mar; 15(1):111-6

²² WORLD HEALTH ORGANIZATION, *International drug monitoring: the role of national centres, report of a WHO meeting*, 1972, <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/40968/WH?sequence=1>

²³ Regolamento UE 1235/2010 entrato in vigore il 2 luglio 2012, https://www.aifa.gov.it/documents/20142/808717/regolamento_ue_12352010_0.pdf/4d7145e5-6b9c-95e5-6eb3-8603eaaf995b?t=1560838154298

²⁴ V. art. 1, comma 1, lett. a) Direttiva n. 2010/84/UE entrata in vigore 21 luglio 2012, https://www.aifa.gov.it/documents/20142/648668/dir_2010_84_it_0.pdf/b9932078-18b6-011c-8780-1e703514041c

della maggior parte degli organi e tessuti. Nel corso della seconda settimana per mezzo del processo di gastrulazione cominciano a delinearsi tre distinti strati di cellule, detti foglietti embrionali, ognuno dei quali darà origine a diversi tessuti:

- ectoderma da cui originano i tessuti di rivestimento esterni e il sistema nervoso
- endoderma che darà origine a polmoni, fegato, pancreas, apparato digerente
- mesoderma che darà origine a muscoli, ossa, tessuto connettivo, sangue, apparato riproduttivo ed escretore

Al termine dell'ottava settimana il processo di organogenesi si può ritenere concluso e i rischi correlati all'esposizione ad agenti teratogeni risultano essere ridotti, tuttavia, non è da escludere che anche un'esposizione ritardata sia in grado di determinare ritardi nello sviluppo fetale.

La teratogenicità, inoltre, è specie-specifica; vale a dire che la risposta al farmaco e gli effetti avversi ad esso correlati sono fortemente variabili da specie a specie.

In riferimento al caso in esame, ad oggi, si è a conoscenza che la maggior parte delle specie sono sensibili alla talidomide, tuttavia, i roditori il modello animale impiegato per testare la sicurezza del farmaco in fase sperimentale, non erano risultati sensibili, suggerendo quindi, erroneamente, la non teratogenicità anche nell'uomo.²⁵

All'epoca attuale, pertanto, la teratogenicità della talidomide è incontrovertibile e si avrà modo da qui a breve, di mettere in luce i principali danni a carico dell'embrione; tuttavia, è necessario sottolineare l'esclusiva teratogenicità e non mutagenicità del farmaco. Un soggetto affetto da embriopatia da talidomide non darà alla luce prole con le medesime malformazioni suggerendo quindi che la somministrazione di talidomide non sia correlata all'instaurarsi di mutazioni ereditarie.

4.1.1 Difetti degli arti

Tra i vari danni causati dalla talidomide le deformità a carico degli arti rappresenta, senza timore di smentita, il difetto con il tasso di incidenza più alto.

²⁵ VARGESSON N., FRAGA L., Teratogenesis, «eLS journal», 15 Dec 2017, pag. 1-7.

Le malformazioni più gravi sono l'amelia, ovverosia l'assenza totale dell'arto e la focomelia, con il cui termine si intende l'assenza di parti intermedie dell'arto, ma con alcune cifre presenti²⁶. Nello specifico il difetto che, in termini di gravità, si trova appena al di sotto dell'omelia vede uno o più dita collegate direttamente alla spalla (vedi Fig. 5) oppure può essere presente una massa ossea interposta tra la spalla e le dita (vedi Fig. 4).



Fig.4 – focomelia degli arti superiori e inferiori

Fonte: <https://preview.redd.it/a-thalidomide-baby-born-in-the-late-50s-early-60s-a-victimv0ycejy3sp5rx91.png?width=640&crop=smart&auto=webp&s=48a5fa0561373f480310389d25b9ed488762683e>



Fig.5 – amelia dell'arto superiore destro e focomelia sinistra

Fonte: doi:10.1177/1753193418800631

Il pollice è, generalmente, la parte dello scheletro ad essere coinvolta per prima; la completa assenza del pollice risulta essere molto più comune della sua sola deformità. Ulteriore condizione è l'ipoplasia del pollice; il pollice appare dimensionalmente più piccolo della norma e talvolta fuso con l'indice adiacente. Il pollice, inoltre, si sviluppa in associazione con il radio e da ciò ne consegue che, un grave difetto del radio è sempre correlato ad una grave deformità del pollice. Il radio, in numerosi casi, appare corto, incurvato, talvolta più spesso del normale e può trovarsi anche fuso con l'ulna²⁷.

La deformità a carico degli arti superiori, sovente, risulta essere simmetrica pertanto interessa entrambi gli arti con un identico livello di accorciamento rendendo ciò un

²⁶ MANSOUR S., BAPLE E., [et al.]. *A clinical review and introduction of the diagnostic algorithm for thalidomide embryopathy (DATE)*, «J Hand Surg Eur», Jan 2018, Vol. 44(1): 96-108.

²⁷ SMITHELLS R., NEWMAN CGH, *Recognition of thalidomide defects*, «J Med Genet». Oct 1992; 29(10): pag. 716–723.

elemento distintivo per la diagnosi di embriopatia della talidomide anche se, si segnala, che sono comuni anche difetti unilaterali o con livelli di gravità da arto ad arto differente.

Gli arti superiori risultano maggiormente colpiti rispetto a quelli inferiori con un'incidenza dell'87%; la ragione sottesa a questa differenza non è chiara, tuttavia, si ritiene che, verosimilmente, gli arti superiori si formino temporalmente prima rispetto a quelli inferiori ed inoltre, presentando la talidomide una breve emivita, è plausibile che siano necessarie dosi ripetute affinché si possa avere una ripercussione negativa sulla crescita ossea degli arti inferiori.²⁸

Il femore è l'osso degli arti inferiore maggiormente colpito; può presentare una lunghezza ridotta, può essere incurvato e l'estremità superiore, in numerosi casi, risulta essere assente, impendendo quindi, la corretta articolazione dell'anca. Differentemente, la deformazione della tibia interessa soprattutto la sua estremità inferiore, compromettendo l'integrità dell'articolazione con la caviglia.²⁹

4.1.2 Difetti dell'apparato visivo

Lo sviluppo dell'apparato visivo ha luogo tra la quarta e l'ottava settimana di gestazione e l'esposizione alla talidomide in questo periodo può determinare una serie di anomalie visive e deformità facciali.

La microftalmia e l'anoftalmia risultano le due deformazioni dell'apparato visivo più comuni. Nella microftalmia l'occhio risulta ipoplastico, vale a dire, dimensionalmente più piccolo rispetto alla norma e può avere una manifestazione sia bilaterale che unilaterale. L'anoftalmia, differentemente, è una condizione di ancor peggior gravità in quanto, si ha la completa assenza del bulbo oculare a causa della mancata formazione della vescicola ottica e una totale perdita della funzione.³⁰

Ulteriori difetti che possono manifestarsi sono rappresentati dall'ipolacrimia ossia una condizione di insufficiente lacrimazione e la sindrome di Bogorad, conosciuta anche

²⁸ VARGESSON N., *Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms*, «Birth Defects Research», 4 June 2015, Vol 105: pag. 140-156

²⁹ VARGESSON N., *Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms*, «Birth Defects Research», 4 June 2015, Vol 105: pag. 140-156

³⁰ NAVAS-APARICIO M.D.C., HERNÁNDEZ-CARMONA SJ. *Anoftalmía y microftalmía: descripción, diagnóstico y conducta de tratamiento. Revisión bibliográfica*. «Revista Mexicana de Oftalmología», 2008; 82(4):205-209.

come la sindrome da lacrime di coccodrillo; questa è caratterizzata da un'anomala correlazione nervosa tra la ghiandola lacrimale e i muscoli della masticazione con conseguente lacrimazione paradossa durante l'apertura della bocca³¹.

4.1.3 Difetti cardiaci

I difetti a carico degli organi interni sono molteplici; nelle pagine seguenti ne verranno presi in esame alcuni, la cui incidenza risulta essere particolarmente significativa.

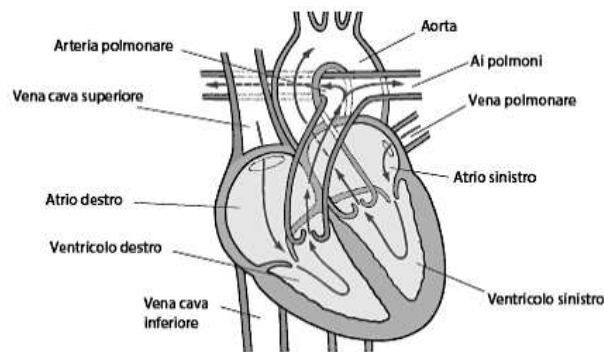


Fig.6 – struttura e circolazione del miocardio in condizioni fisiologiche
Fonte: <https://www.msmanuals.com/>

Le malformazioni e difetti del cuore rappresentano una delle maggiori cause di morti intrauterine e post-natali; tra queste i difetti del setto interventricolare (DIV) presentano un'incidenza del 20% e sono tra le più comuni malformazioni cardiache.³²

Il setto interventricolare ha la funzione di separare il ventricolo destro da quello sinistro; quando questa sottile membrana non è completa i due ventricoli sono in comunicazione e, per la diversa pressione fra i ventricoli, il sangue ricco di ossigeno, proveniente dal ventricolo sinistro, passerà al ventricolo destro che lo pomperà nuovamente ai polmoni piuttosto che nell'organismo.

³¹ PRANAV M., TASNEEM A., *Crocodile Tears Syndrome*, «StatPearls Publishing»; Jan 2023

³² GATZOULIS M. A., THERRIEN G. J., SWAN L., PANTELY G.A., *Cardiopatie congenite dell'adulto*, Springer Milano, 2007, Pag. 89-94

La sintomatologia è strettamente correlata alla gravità del difetto; bambini con un piccolo difetto del setto interventricolare sono generalmente asintomatici e vanno incontro ad uno sviluppo normale. I bambini che invece presentano un difetto di più grave entità, mostreranno, intorno alle 4-6 settimane di vita, i sintomi dell'insufficienza cardiaca (come stress respiratorio, scarso aumento di peso, stanchezza dopo il pasto).³³

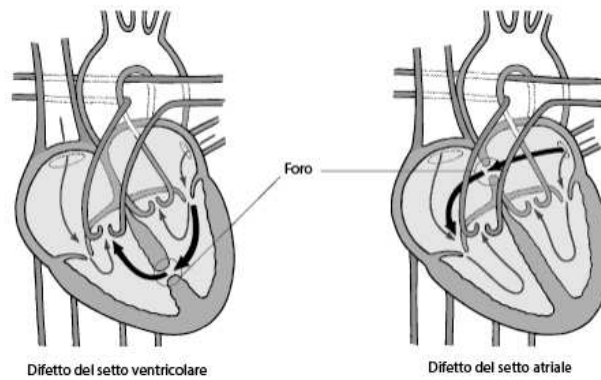


Fig.7 – Illustrazione del difetto del setto interventricolare e interatriale

Fonte: <https://www.msmanuals.com/>

Un difetto concettualmente simile al precedente è il difetto del setto interatriale (ASD); il setto interatriale, che separa atrio destro e atrio sinistro, non è completamente formato, consentendo la comunicazione tra i due atrii che, in condizioni fisiologiche, non deve aver luogo.

Il dotto arterioso pervio, infine, è una condizione caratterizzata dalla persistenza della connessione fetale tra la porzione prossimale dell'arteria polmonare sinistra e l'aorta discendente toracica. Durante la vita fetale il dotto arterioso pervio è una struttura di fondamentale importanza per bypassare la circolazione polmonare convogliando il sangue dal ventricolo destro all'aorta discendente toracica.³⁴ Il dotto arterioso si chiude, in modo spontaneo, entro le prime ore di vita del neonato o comunque entro pochi giorni dalla nascita.

³³ MSD Manual, Lee B. Beerman, <https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/pediatria/disturbi-cardiovascolari-congeniti/difetto-del-setto-atrioventricolare> (Accesso effettuato il 16 dicembre 2023)

³⁴ GATZOULIS M. A., THERRIEN G. J., SWAN L., PANTELY G.A., *Cardiopatie congenite dell'adulto*, Springer Milano, 2007, Pag. 157-164

La sintomatologia, come precedentemente detto per i DIV, è dipendente dalla gravità del difetto; in questo caso quindi dalla grandezza del dotto arterioso pervio. Nei casi più gravi si riscontra difficoltà di accrescimento, tachipnea, tachicardia fino ad arrivare ad una condizione di insufficienza cardiaca.³⁵

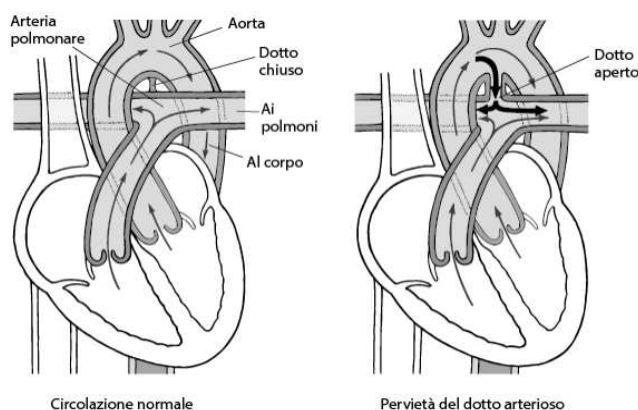


Fig.8 – confronto tra la normale circolazione (sx) e la circolazione con dotto arterioso pervio (dx)

Fonte: <https://www.msmanuals.com/>

4.1.4 Difetti del sistema urogenitale

Il tratto urinario e i reni possono mostrare una serie di condizioni benigne mentre altre potenzialmente letali. Tra queste si segnala la malformazione dei reni a ferro di cavallo; un difetto congenito in cui, a causa della somministrazione di talidomide durante il periodo critico, si ha fusione dei poli inferiori dei due reni attraverso un istmo, dando origine ad un unico organo che ricorda la forma a “U” di un ferro di cavallo.³⁶ In questa condizione il rene può non drenare correttamente, aumentando il rischio di infezioni delle vie urinarie, calcoli renali e danno renale; tuttavia, nella maggior parte dei casi questo difetto risulta essere benigno e privo di significativa sintomatologia.

I difetti genitali riscontrati, invece, comprendono nel maschio l'assenza dei testicoli, le anomalie testicolari e l'ipospadia, ovvero, una malformazione caratterizzata dallo

³⁵ Vedi nota 33

³⁶ NATSIS K., PIAGKOU M., SKOTSIMARA A. [et al.]. *Horseshoe kidney: a review of anatomy and pathology* «Surg Radiol Anat», 2014, 36, pag 517–526

sviluppo anomalo dell'ultima porzione di condotto uretrale e cute prepuziale sovrastante. Nelle femmine si riscontrano; malformazioni dell'utero e difetti del tratto riproduttivo³⁷.

4.1.5 Difetti facciali

La palatoschisi e il labbro leporino sono due dei difetti riscontrati maggiormente e spesso presenti in concomitanza; la prima anomalia vede una fissurazione del palato che crea un passaggio anomalo con le cavità nasali, mentre la seconda è caratterizzata da una fissurazione del labbro superiore, sovente fin sotto il naso.³⁸

Ulteriori difetti riscontrati comprendono; palato ad arco alto, ugola bifida, paralisi palatale e deficit di sviluppo della mandibola.³⁹

4.1.6 Difetti nello sviluppo neurologico: danni al SNC

La somministrazione di talidomide durante il periodo critico, ma non solo, è correlata ad un aumento di difetti nello sviluppo neurologico e conseguentemente di patologie a carico del SNC.

Effettuando una serie di esperimenti su modelli animali, sfruttando un gruppo di trattamento con talidomide e un gruppo di controllo, sono state osservate importanti differenze. In primo luogo, si è notato che rispetto al gruppo di controllo, gli animali trattati con talidomide risultavano essere microcefalici; ovvero presentavano una significativa riduzione della circonferenza cranica rispetto alla media.⁴⁰ Secondariamente, si è osservato un aumento dell'incidenza di autismo e disturbi convulsivi; diversi studi, infatti, hanno messo in luce che, l'esposizione a talidomide

³⁷ VARGESSON N., *Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms*, «Birth Defects Research», 4 June 2015, Vol 105: pag. 140-156

³⁸ MSD Manual, Simeon A. Boyadjiev Boyd, Cleft Lip and Cleft Palate, <https://www.msdmanuals.com/home/children-s-health-issues/birth-defects-of-the-face,-bones,-joints,-and-muscles/cleft-lip-and-cleft-palate> (Accesso effettuato il 22 novembre 2023).

³⁹ SMITHELLS R., NEWMAN CGH, *Recognition of thalidomide defects*, «J Med Genet». Oct 1992; 29(10): pag. 716–723.

⁴⁰ HALLENE K.L., OBY E. [et al.], *Prenatal exposure to thalidomide, altered vasculogenesis, and CNS malformations*, «Neuroscience», 2006, Vol 142, Issue 1, Pag. 267-283.

prima della chiusura del tubo neurale causa anomalie del sistema serotoninergico simili a quelle spesso osservate nell'autismo umano.⁴¹

Una delle cause delle patologie a carico del SNC, come si avrà modo di analizzare nel prosieguo del presente elaborato, è rappresentata dall'attività anti-angiogenica della talidomide; i risultati, infatti, confermano che, quando somministrato in gravidanza, la talidomide causa gravi modifiche nella citoarchitettura cerebrale e che ciò è dovuto allo sviluppo alterato della vascolarizzazione del SNC.⁴²

5. Farmacodinamica

In seguito alla scoperta del potenziale teratogeno della talidomide, ricercatori in ogni parte del mondo si sono posti come obiettivo quello di identificare i meccanismi molecolari alla base della teratogenicità del farmaco. Le ragioni sottese a ciò sono molteplici; primariamente, la conoscenza del suo meccanismo d'azione è elemento cruciale per lo sviluppo di molecole di sintesi, derivate dalla talidomide, prive di attività teratogena. In secondo luogo, comprendere il meccanismo con cui la talidomide induce tutte le deformità precedentemente illustrate, consentirebbe di studiare una strategia volta ad eliminare quegli effetti collaterali.⁴³

Ad oggi sono numerosi gli studi condotti a questo proposito; nel corso delle prossime pagine verranno, quindi, analizzate alcune delle ipotesi più accreditate volte a spiegare le ragioni della teratogenicità, soprattutto a livello degli arti, indotta da talidomide.

⁴¹ KAORU MIYAZAKI, NAOKO NARITA, MASAOKI NARITA, *Maternal administration of thalidomide or valproic acid causes abnormal serotonergic neurons in the offspring: implication for pathogenesis of autism*, «ISDN», 02 July 2004, Vol. 23, Issue 2-3, Pag. 287-297

⁴² HALLENE K.L., OBY E. [et al.], *Prenatal exposure to thalidomide, altered vasculogenesis, and CNS malformations*, «Neuroscience», 2006, Vol 142, Issue 1, Pag. 267-283.

⁴³ TAKUMI I., HIDEKI A., HIROSHI H., *Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms*, «Cell. Mol. Life Sci», 2011, 68, 1569–1579

5.1 Ipotesi dello stress ossidativo

L'ipotesi secondo la quale, alla base della teratogenicità della talidomide, ci fosse un meccanismo che coinvolgeva lo stress ossidativo fu avanzata nel maggio 1999 da Toufan Parman [et al.].⁴⁴

I loro studi, utilizzando come modelli animali conigli e topi, avevano dimostrato che la talidomide genera specie reattive dell'ossigeno (ROS) e ossida il DNA, accumulando nei conigli, 8-idrossi-2'-deossiguanosina, ossia un marcatore di stress ossidativo. I ROS, come il perossido di idrogeno, il superossido e il radicale idrossile, svolgono un ruolo cruciale nella segnalazione cellulare, soprattutto come secondi messaggeri, oltre ad esercire un effetto diretto sulle cellule; tuttavia, l'eccesso di produzione di ROS e l'impossibilità dei sistemi di *scavenging* di far fronte ad un così elevato carico di lavoro, porta ad un loro accumulo e una conseguente tossicità.⁴⁵

Al fine di confermare la loro iniziale ipotesi, venne utilizzato un reagente spin-trap, α -fenil-N-tert-butilnitrono (PBN), una molecola in grado di "intrappolare" le specie radicaliche.

PBN si dimostrò efficace nell'inibire l'ossidazione e conseguentemente anche i difetti degli arti indotti dalla talidomide nei conigli; contrariamente, nei topi non si riscontrò né lo stress ossidativo, né la malformazione degli arti.⁴⁶

Il pretrattamento con PBN, quindi, è in grado, nei conigli trattati con talidomide, di eliminare quasi tutti i difetti alla nascita, soprattutto la focomelia, ridurre la morte in utero, e la perdita di peso fetale.⁴⁷ Inoltre, l'incapacità della talidomide di dar luogo all'ossidazione del DNA nei topi, fornisce una visione diretta di quanto precedentemente asserito, ovvero che la teratogenicità è profondamente dipendente dalla specie.

⁴⁴ TOUFAN P., WILEY M. J., WELLS P., *Free radical-mediated oxidative DNA damage in the mechanism of thalidomide teratogenicity*. «Nat Med», May 1999, 5, 582–585

⁴⁵ DENNERY P.A., *Effects of oxidative stress on embryonic development*, «Birth Defects Research», 2007, Vol.81 Issue 3, pag. 155-162

⁴⁶ TAKUMI I., HIDEKI A., HIROSHI H., *Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms*, «Cell. Mol. Life Sci», 2011, 68, 1569–1579

⁴⁷ TOUFAN P., WILEY M. J., WELLS P., *Free radical-mediated oxidative DNA damage in the mechanism of thalidomide teratogenicity*. «Nat Med», May 1999, 5, 582–585

Che la produzione di specie reattive dell'ossigeno sia correlata ai danni degli arti viene evidenziata qualche anno dopo, nel settembre 2002, da Harris [et al.].

I ROS, come pocanzi illustrato, agiscono anche come secondi messaggeri, regolando alcuni fattori chiave di trascrizione; tra questi il fattore nucleare κB (NF- κB), ossia un regolatore chiave della crescita degli arti, è particolarmente sensibile alla redox.⁴⁸

NF- κB è un fattore legante il DNA, in origine identificato come regolatore dell'espressione genica a catena leggera dell'immunoglobulina κ ; è localizzato nel citoplasma dove è strettamente legato a proteine inibitorie della famiglia I κB .⁴⁹

In seguito al rilascio di citochine primarie dell'infiammazione come TNF α o IL-1 β , I κB viene fosforilato da un complesso di chinasi IKK a livello dei suoi residui di serina; questa fosforilazione porta alla perdita della sua attività inibitoria verso NF- κB che ora, dal citoplasma viene traslocato nel nucleo.⁵⁰

Una volta che NF- κB entra nel nucleo, può regolare positivamente l'espressione dei geni coinvolti nella risposta immunitaria e infiammatoria, come IL-8, IL-12 e TNF α .⁵¹

Oltre al suo coinvolgimento nella risposta immunitaria e infiammatoria, NF- κB , come precedentemente anticipato, svolge un ruolo chiave nell'organogenesi. In particolare, in seguito alla sua attivazione, si ha il reclutamento a valle di due importanti fattori di crescita dei fibroblasti, FGF8 e FGF10, la cui principale attività è modulare la proliferazione, la differenziazione e la migrazione cellulare durante lo sviluppo, garantendo il corretto accrescimento degli arti.⁵²

Harris [et al.] hanno dimostrato che l'espressione di FGF8 e FGF10 è inibita dal trattamento con talidomide e che questo effetto è invertito dal pretrattamento PBN nei conigli.⁵³

⁴⁸ HARRIS C. [et al.]. *Misregulation of gene expression in the redox-sensitive NF- κB -dependent limb outgrowth pathway by thalidomide*, «Developmental Dynamics», 05 September 2002, Vol. 225, issue 2, pag. 186-194

⁴⁹ SEN R., BALTIMORE D. *Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences*, «Cell», 1986, Vol.46 Issue 5, pag. 705-716

⁵⁰ KEIFER J.A. [et. al.]. *Inhibition of NF- κB Activity by Thalidomide through Suppression of I κB Kinase Activity*, «Journal of Biological Chemistry», 2001, Vol. 276, Issue 25, Pag. 22382-22387

⁵¹ BARNES J.P. *Transcription Factors and Inflammatory Disease*, «Hospital Practise», 1996, Vol.31 Issue 6 Pag. 93-106

⁵² LINGAPPAN K., *NF- κB in oxidative stress*, «Current Opinion in Toxicology», 2018, Vol.7, pag. 81-86

⁵³ TAKUMI I., HIDEKI A., HIROSHI H., *Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms*, «Cell. Mol. Life Sci», 2011, 68, 1569–1579

Il farmaco, quindi, regola negativamente l'espressione dei due fattori di crescita in quanto va ad inibire, a monte, l'attivazione di NF- κ B. Precisamente, come dimostrato dalle analisi effettuate da Jayne A. Keifer [et al.]; il meccanismo sfruttato dalla talidomide consiste nell'inibizione della degradazione di I κ B.

Gli esperimenti effettuati da Keifer [et al.] dimostrano che:

- Quando le cellule si trovano in condizioni fisiologiche presentano alti livelli di I κ B; NF- κ B è localizzato nel citoplasma, vede segnalazione negativa da parte di I κ B e quindi l'espressione genica non è attiva.
- Se le cellule vengono sottoposte a trattamento con TNF α , quindi vengono esposte ad alti livelli di citochine infiammatorie, si registra una degradazione di I κ B pari all'85% entro 30 minuti dopo l'esposizione. NF- κ B, ora viene traslocato nel nucleo e potrà regolare positivamente l'espressione genica.
- Se le cellule vengono esposte a talidomide, la degradazione di I κ B viene ridotta al 45% entro 30 minuti, lasciando intatta il 65% della proteina anche in presenza di un potente attivatore di NF- κ B.⁵⁴

In conclusione, i dati appena riportati sono un chiaro indice dell'azione inibitoria della talidomide verso NF- κ B e di conseguenza verso l'espressione dei geni regolati dallo stesso. In particolar modo, con questa prima teoria, abbiamo spiegato uno dei possibili meccanismi molecolari responsabili della teratogenicità; si preannuncia che, nel corso del capitolo successivo, verrà ulteriormente approfondito questo aspetto concentrandosi tuttavia su come sfruttare questo meccanismo per scopi terapeutici.

5.2 Ipotesi di antiangiogenesi

La formazione dei vasi sanguigni è regolata da due meccanismi che comprendono la vasculogenesi e l'angiogenesi; processi che, non di rado, vengono utilizzati come sinonimi anche se sono chiaramente dei meccanismi distinti.

Per vasculogenesi si intende la formazione *ex novo* dei vasi sanguigni che ha luogo durante le prime fasi dello sviluppo.

⁵⁴ KEIFER J.A. [et al.]. *Inhibition of NF- κ B Activity by Thalidomide through Suppression of I κ B Kinase Activity*, «Journal of Biological Chemistry», 2001, Vol. 276, Issue 25, Pag. 22382-22387

I primi vasi iniziano a svilupparsi a livello extra-embriale per poi proseguire a livello intra-embriale; qui le cellule mesodermiche si differenziano nei precursori endoteliali, gli angioblasti. Gli angioblasti, si aggregano formando isole sanguigne e, successivamente, quelli più esterni vanno incontro a differenziamento in cellule endoteliali, mentre quelli più interni si differenziano in eritrociti.⁵⁵

Abbozzata una prima rete vascolare, nelle fasi successive dello sviluppo embrionale, il sistema vascolare viene arricchito e ulteriormente rimodellato attraverso l'angiogenesi. Tale processo, guidato dalla proliferazione delle cellule endoteliali, ossia cellule che rivestono la superficie di tutti i vasi sanguigni, consente di generare nuovi vasi sanguigni da vasi già preesistenti.⁵⁶ Questo è articolato in diverse fasi qui di seguito descritte:

- la presenza di ossido nitrico, un gas con azione rilassante verso la muscolatura liscia, provoca vasodilatazione; inoltre, si ha un aumento della permeabilità vascolare indotta dal fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGF);
- degradazione della membrana basale del vaso ad opera delle metalloproteasi della matrice e rimozione delle giunzioni delle cellule endoteliali ad opera dell'attivatore del plasminogeno;
- migrazione e proliferazione delle cellule endoteliali;
- cessazione della proliferazione delle cellule endoteliali e iniziale formazione dei nuovi vasi; in questo stadio i vasi sono immaturi in quanto le cellule endoteliali non formano ancora giunzioni strette;
- maturazione del vaso grazie al reclutamento delle cellule periendotheliali, come periciti e cellule muscolari lisce.⁵⁷

D'Amato [et al.].⁵⁸ sono stati tra i primi ad evidenziare come l'impiego di talidomide fosse correlato ad un processo angiogenico anomalo; in particolare, notarono che il farmaco presentava attività anti-angiogenica e, suggerirono, che quest'ultima fosse la

⁵⁵ DRAKE J.C. *Embryonic and adult vasculogenesis*, «Embryo Today: Reviews», 2003, Vol.69, Issue 1, Pag. 73-82

⁵⁶ DUDLEY A.C., GRIFFIOEN A.W. *Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies*. «Angiogenesis» 2023 Vol.26, Pag. 313–347

⁵⁷ KUMAR V., ABBAS A. K., FAUSTO N., ASTER J.C., *Robbins e Cotran, Le basi patologiche delle malattie, patologia generale*, Elsevier, Milano, 2010, Pag. 98-100

⁵⁸ D'AMATO RJ, LOUGHANAN MS, FLYNN E, FOLKMAN J. *Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis*, «Proc Natl Acad Sci USA», 1994, 26;91(9):4082-5

causa dei difetti agli arti. Tuttavia, la conferma che l'effetto anti-angiogenico causasse difetti degli arti è stato avvalorato solo con studi successivi.

Per determinare il meccanismo preciso dell'embriopatia della talidomide, Christina Therapontos [et al.].⁵⁹ hanno studiato l'attività teratogena di specifici metaboliti della talidomide. Primariamente hanno evidenziato differenze, in termini di attività, dei vari metaboliti; alcuni presentano azione antinfiammatoria mentre altri antiangiogenica.

Tra questi, metaboliti come 5'OH-thalidomide e acido N-ftalolidglutammico non hanno avuto alcun effetto negativo sullo sviluppo embrionale o degli arti a qualsiasi concentrazione testata; diversamente, CPS49, un analogo tetrafluorurato della talidomide, ha indotto gravi difetti degli arti simili a quelli osservati dopo la somministrazione di talidomide.⁶⁰

Il trattamento CPS49 ha portato all'ottenimento di 4 tipologie di difetti, riconducibili a quelli osservati nei bambini affetti da embriopatia da talidomide:

- il 21% degli embrioni presenta una perdita completa degli arti superiori (amelia)
- il 36% degli embrioni presenta una struttura simile all'omero, dimensionalmente ridotta
- il 21% degli embrioni presenta omero e ulna accorciati
- il 21% degli embrioni presenta un arto gravemente troncato con 2 elementi cartilaginei accorciati che si articolano tra loro.⁶¹

L'espressione dei fattori di crescita dei fibroblasti, FGF8 e FGF10 sono diminuiti gradualmente in modo significativo, ma non fino a quando non si erano già verificati cambiamenti nel modello dei vasi sanguigni; questo suggerisce, quindi, che l'evento a monte dei danni a carico degli arti è l'attività anti-angiogenica della talidomide.⁶²

⁵⁹ THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation.*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8573

⁶⁰ Vedi nota 57

⁶¹ Vedi nota 57

⁶² THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation.*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8574

Arrivati a questo punto, verrebbe da domandarsi per quale motivo sono gli arti la regione anatomica maggiormente colpita dalla talidomide; la risposta a questo quesito è stata fornita proprio analizzando l'attività di CPS49.

In tessuti come l'arto, in cui si ha una fitta rete di vasi immaturi in rapida crescita e rimodellamento, la perdita di vasi indotta da CPS49, e quindi da talidomide, provoca gravi difetti dello sviluppo. Al contrario, in altre regioni embrionali con reti di vasi più mature e stabili, la compromissione temporanea della crescita dei vasi non ha alcun impatto significativo sul normale sviluppo.⁶³

In conclusione, gli studi effettuati da Christina Therapontos [et al.] hanno fatto chiarezza su un tema discusso per 50 anni, dimostrando che l'aumento dell'incidenza di aborti, le malformazioni indotte da talidomide e persino la finestra sensibile al tempo del farmaco, è dipendente dallo stato della vascolarizzazione al momento della somministrazione del farmaco.⁶⁴

5.3 Il ruolo di CRBN e DDB1

L'identificazione delle proteine leganti la talidomide è essenziale per comprendere chiaramente i meccanismi molecolari alla base della teratogenicità della talidomide. Takumi I. [et al]⁶⁵ furono i primi, nel 2011, ad essere in grado di riconoscere il ruolo centrale di due proteine, CRBN e DDB1, nel meccanismo di tossicità del farmaco.

CRBN fu identificata per la prima volta nel 2004; è una proteina costituita da 442 amminoacidi; mutazioni a livello di alcuni suoi geni sembrano collegare CRBN all'insorgenza di ritardo mentale lieve e sembra essere coinvolta nella memoria e apprendimento.⁶⁶

⁶³ THERAPONOTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation.*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8575

⁶⁴ THERAPONOTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation.*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8576

⁶⁵ TAKUMI I., HIROSHI H., *Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity*, «Congenit Anom», Kyoto, 2012, Vol.52, Issue 1 Pag. 1-7.

⁶⁶ HIGGINS JJ, PUCILOWSKA J, LOMBARDI RQ, ROONEY JP., *A mutation in a novel ATP-dependent Lon protease gene in a kindred with mild mental retardation*, «Neurology», November 2004, Vol. 63, Issue 10, Pag. 1927-31

DDB1 (DNA damage-binding protein) è una proteina, identificata per la prima volta come eterodimero associata a DDB2, in relazione al suo coinvolgimento in meccanismi di riparazione del DNA danneggiato da radiazioni UV.⁶⁷

Studi più recenti, tuttavia, hanno messo in luce il suo ruolo di proteina adattatrice nella formazione del complesso cullina 4 - ubiquitina ligasi E3, ossia un sistema che mediante poliubiquitinazione di substrati regola il ciclo cellulare, l'embriogenesi e la carcinogenesi.

CRBN, come DDB1, è stato scoperto essere anch'esso una subunità della cullina 4 - ubiquitina ligasi E3 e ha dimostrato di avere un'attività di auto-ubiquitinazione.

In assenza di talidomide, CRBN si lega a DDB1 formando un eterodimero che è funzionale alla formazione del complesso cullina 4 - ubiquitina ligasi E3; il complesso attivato va a ubiquitinare una serie di substrati, concorre alla corretta espressione di FGF8 e FGF10 e di conseguenza al normale sviluppo degli arti.⁶⁸

Quando, invece, viene somministrata talidomide, questa si lega direttamente a CRBN mentre DDB1 si lega a CRBN e interagisce indirettamente con la talidomide. Il legame inibisce la funzione della ubiquitina ligasi E3, si ha accumulo di substrati aberranti che porta ad una regolazione negativa di FGF8 e FGF10 con conseguente induzione di teratogenicità.⁶⁹

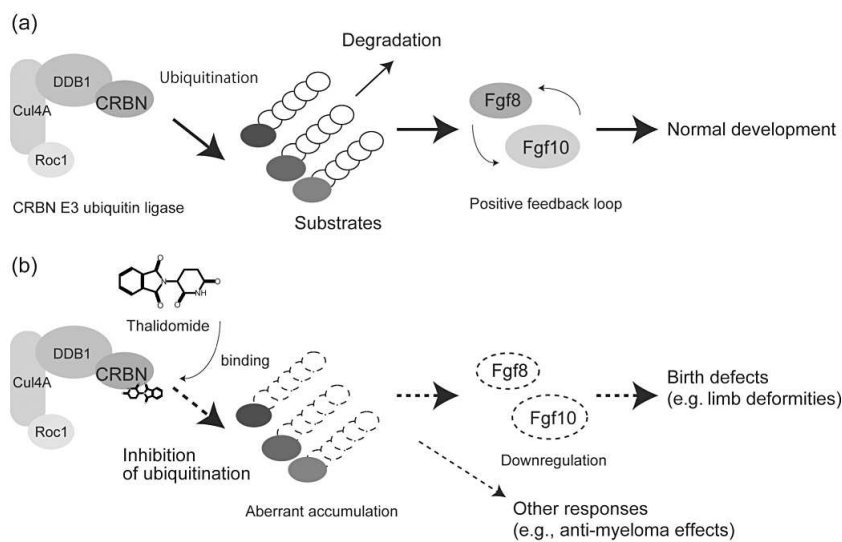


Fig.10 – Attività di CRBN in relazione alla presenza/assenza di talidomide

Fonte: <https://onlinelibrary.wiley.com/cms/asset/9bbfc5af-b1b5-48cf->

⁶⁷ WITTSCHIEBEN B.Ø., WOOD R.D., *DBB complexities*, «DNA Repair», September 2003, Vol. 2, Issue 9, Pag. 1065-1069

⁶⁸ Vedi nota 71

⁶⁹ TAKUMI I., HIROSHI H., *Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity*, «Congenit Anom», Kyoto, 2012, Vol.52, Issue 1 Pag. 1-7.

Per confermare l'evidenza che CRBN è un bersaglio diretto della talidomide, Takumi I. [et al], hanno valutato l'attività della talidomide in animali che esprimevano mutanti del CRBN, con attività di legame con talidomide estremamente bassa.

Lo studio ha dimostrato che, in presenza di talidomide, CRBN mutato forma, normalmente, il complesso di ligasi E3 con DDB1 e Cul4A con conseguente promozione del rilascio di FGF8 e FGF10 e del normale sviluppo degli arti. È stato anche confermato che la talidomide non ha inibito l'auto-ubiquitinazione di CRBN mutato.⁷⁰

CRBN, quindi, conseguentemente ai dati appena riportati, ci consente di fornire una nuova chiave di lettura per decifrare il mistero della teratogenicità della talidomide.

In conclusione, nel corso di queste ultime pagine si sono voluti mettere in luce solo alcune delle possibili teorie volte a spiegare i meccanismi alla base della teratogenicità della talidomide; a partire dall'ipotesi di stress ossidativo, il ruolo anti-angiogenico del farmaco e infine il coinvolgimento di CRBN nella regolazione dello sviluppo degli arti.

Si potrebbero citare ancora svariati studi coerenti con questo tema, tuttavia, non risulterebbe in linea con l'obiettivo del presente elaborato, che, come accennato in fase introduttiva, vuole mettere l'accento, oltre che sugli aspetti legati alla teratogenicità del farmaco, anche sull'importanza del progresso nell'ambito della ricerca farmaceutica.

Nel corso del prossimo capitolo, infatti, si andranno ad analizzare nel dettaglio i nuovi impieghi della talidomide nel trattamento del mieloma multiplo e dell'eritema nodoso lepromatoso.

⁷⁰ Vedi nota 75

CAPITOLO II

IMPIEGHI CLINICI DEL FARMACO TALIDOMIDE

Sommario: 1. Premessa - 2. Mieloma multiplo - 2.1 Patogenesi - 2.2 Sintomatologia - 2.2.1 Anemia - 2.2.2 Patologie renali - 2.2.3 Patologia ossea - 2.2.4 Altre complicazioni - 2.3 Approcci terapeutici - 2.3.1 Trattamento con talidomide - 3. Eritema nodoso lepromatoso - 3.1 Manifestazioni cliniche - 3.2 Approcci terapeutici – 3.2.1 Trattamento con talidomide - 4. Altri impieghi clinici

1. Premessa

In seguito al ritiro dal commercio, nel 1961, l'attenzione verso la talidomide non cessò; tant'è che nonostante il ritiro formale, il suo uso non si interruppe neanche nel corso degli anni immediatamente successivi.

Il fatto che i suoi effetti fossero così devastanti sullo sviluppo embrionale e la non conoscenza, al tempo, dei meccanismi molecolari implicati in tali conseguenze, rappresentava un'enorme possibilità di progresso in campo farmaceutico.

La prima evidenza circa la possibile efficacia della talidomide in clinica non tardò ad arrivare; nel 1964, infatti, il dermatologo israeliano Jacob Sheskin, decise di

somministrare ad un paziente malato di lebbra, ricoverato presso l'Hadassah University Hospital di Gerusalemme, il farmaco talidomide.

Il trattamento farmacologico precedentemente adottato, infatti, non risultava efficace nel trattare la sintomatologia dolorifica, né tanto meno, le lesioni cutanee caratteristiche dell'infezione da *Mycobacterium leprae*. Sorprendentemente, il paziente, in seguito a somministrazione di talidomide, non manifestava più dolore e insonnia e dopo alcuni giorni di trattamento, le sue lesioni cominciarono a migliorare fino alla completa guarigione.⁷¹

La fortuita scoperta del dott. Sheskin ha spinto ad effettuare ulteriori ricerche riguardanti l'ipotetica attività antinfiammatoria della talidomide, approfondendo l'analisi del suo meccanismo d'azione.

Si è così osservato che, questo potente agente teratogeno, era in grado di interferire con specifiche reazioni immunitarie e che quindi, oltre ad essere potenzialmente efficace nel trattamento dell'eritema nodoso lepromatoso, potrebbe esserlo anche in altre manifestazioni infiammatorie.

La successiva scoperta dell'attività anti-angiogenica del farmaco, di cui si è discusso nel capitolo precedente, ha indotto alcuni ricercatori a sperimentare anche l'uso di talidomide come possibile farmaco antitumorale.

I tumori, infatti, sono caratterizzati da cellule con un potenziale proliferativo abnorme e anormale e da una spiccata attività angiogenica, fondamentale per la vascolarizzazione dello stesso, essendo in continua espansione.

Nel 1965, il dott. Kenneth B. Olson, fu il primo a testare la talidomide come antitumorale; nel suo studio vennero reclutati 21 pazienti affetti da quattordici tipi di tumore differenti.⁷² Il dato più promettente riscontrato fu quello di una paziente affetta da mieloma multiplo, nella quale si evidenziò un rallentamento nella progressione della malattia.

⁷¹ SHESKIN J. *Thalidomide in lepra reaction*, «Int.J. Dermatol», 1975, Vol. 14, Issue 8, Pag. 575-576

⁷² OLSON KB, HALL TC, HORTON J, KHUNG CL, HOSLEY HF. *Thalidomide (n-phthaloylglutamimide) in the treatment of advanced cancer*, «Clin Pharmacol Ther.», May 1965, Vol.6 Pag. 292-297

Fu, però, con il dott. Bart Barlogie, a partire dal 1995, che venne effettuato il primo trial clinico, di cui parleremo nel prosieguo del presente capitolo, per valutare la potenziale attività antitumorale della talidomide nel trattamento del mieloma multiplo.⁷³

Le conclusioni furono che la talidomide aveva un'effettiva attività antitumorale in pazienti affetti da mieloma multiplo in stadio avanzato e per tale ragione, il 16 aprile 2008 l'EMA rilasciava l'autorizzazione alla commercializzazione della stessa per tale.⁷⁴

2. Mieloma multiplo

Il Mieloma Multiplo (MM) è una neoplasia delle plasmacellule e rappresenta circa il 10% di tutti i tumori ematologici.

Nel 2020 sono stati più di 175000 i nuovi casi di mieloma multiplo registrati nel mondo,⁷⁵ con un'incidenza nel sesso maschile e femminile pressoché sovrapponibile ed un'età media di diagnosi pari a 69 anni.⁷⁶

Il mieloma multiplo è una neoplasia a fenotipo B maturo caratterizzato da una proliferazione incontrollata di plasmacellule nel midollo osseo che porta alla sovrapproduzione di immunoglobuline, dette paraproteina o componente M (M = monoclonale) o catene di immunoglobuline intatte non funzionali.⁷⁷

Non sempre, infatti, le plasmacellule sintetizzano immunoglobuline complete; si parla di mieloma micromolecolare quando, vengono prodotte solo catene leggere associate a proteinuria di Bence-Jones.⁷⁸

L'accumulo di tali immunoglobuline e l'interazione delle cellule plasmatiche monoclonali anomale con altre cellule presenti nel midollo osseo causano una serie di complicazioni,

⁷³ BARLOGIE B. [et al.], *Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma*, «N Engl J Med.», November 1999, Vol 34, Issue 21, Pag.1565-1571.

⁷⁴ EU/3/01/067 - orphan designation for treatment of multiple myeloma: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu-3-01-067> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)

⁷⁵ International Agency for Research of Cancer: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/35-Multiple-myeloma-fact-sheet.pdf> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)

⁷⁶ National Cancer Institute: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)

⁷⁷ BOSI A., DE STEFANO V., DI RAIMONDO F., LA NASA G., *Manuale di malattie del sangue*, Elsevier S.r.l, Milano, 2012, pag. 154

⁷⁸ BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1563.

tra cui anemia, lesioni ossee, infezioni, ipercalcemia, insufficienza renale, affaticamento e dolore.⁷⁹

Per la diagnosi di MM, infatti, è fondamentale che siano presenti uno o più sintomi identificabili dall'acronimo CRAB dove: «“C” indica ipercalcemia con livelli di calcio > 11,5 mg/dL, “R” insufficienza renale con valori di creatinina > 2 mg/dL o una clearance della creatinina < 40 mL/min, “A” anemia con valori Hb < 10 g/dL o 2 g sotto il valore normale, “B” lesioni osteolitiche o anche severa osteoporosi».⁸⁰

2.1 Patogenesi

L'Organizzazione Mondiale della Sanità differenzia il mieloma multiplo da altre malattie delle plasmacellule come la gammopatia monoclonale di significato indeterminato (MGUS) da cui però sembra progredire.⁸¹

La MGUS è una condizione premaligna asintomatica caratterizzata dalla proliferazione di un clone di plasmacellule neoplastico. La sua frequenza di incidenza aumenta con l'invecchiamento, con una percentuale di diagnosi del 3% nei soggetti con età compresa tra 60 e 70 anni e una percentuale del 14% nei soggetti con età superiore a 90 anni.⁸²

Ad oggi sono stati classificati tre sottotipi di MGUS che comprendono:

- MGUS IgG e IgA che può evolvere in MM
- MGUS IgM che può evolvere in macroglobulinemia e altri linfomi
- MGUS a catene leggere che può evolvere in mieloma micromolecolare.⁸³

La patogenesi del MM è, quindi, caratterizzata da un'evoluzione a stadi:

- a) condizione premaligna asintomatica MGUS;
- b) stadio intermedio tra MGUS e MM, definito "MM *smouldering*", che non rispetta ancora i criteri CRAB, ma che spesso, progredisce verso un MM sintomatico;

⁷⁹ BRIGLE K., ROGERS B., *Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma*, «Seminars in Oncology Nursing», 2017, Vol. 33, Issue 3, Pag. 225-236

⁸⁰ BOSI A., DE STEFANO V., DI RAIMONDO F., LA NASA G., *Manuale di malattie del sangue*, Elsevier S.r.l, Milano, 2012, pag. 154

⁸¹ SWERDLOW S.H., [et al.] *The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms*, «Blood», 2016, Vol. 127, Pag. 2375-2390

⁸² Vedi nota 80

⁸³ Vedi nota 80

- c) fase attiva del MM in cui si ha manifestazione dei sintomi caratteristici della patologia;
- d) fase aggressiva terminale in cui le cellule mielomatose perdono il controllo citochinico, si ha un aumento della crescita cellulare, una ridotta risposta terapeutica e la formazione di lesioni extramedullari; ovverosia lesioni al di fuori del midollo osseo coerenti con la progressione della malattia verso il MM extramedullare (EMD).⁸⁴

In condizioni normali, i linfociti B maturi (che presentano immunoglobuline di superficie IgM) lasciano il midollo osseo e giungono nei tessuti linfoidei secondari, ovverosia nei linfonodi e nella milza. Qui, in seguito a riconoscimento antigenico, possono o differenziare fuori dal centro germinativo a plasmacellule a breve vita che, esprimono IgM, oppure entrare nel centro germinativo e andare incontro ad un processo di ipermutazione e di selezione antigenica.

I linfociti B che presentano un mancato riconoscimento antigenico andranno incontro ad apoptosi, mentre i linfociti B che hanno acquisito selezione positiva potranno costituire il pool di linfociti B della memoria oppure acquisire capacità effettrici differenziando in plasmacellule a lunga vita.

Per quanto detto precedentemente, il MM sembra progredire da MGUS mediante dei meccanismi ancora da chiarire ma che, sicuramente, vede nelle fasi iniziali una disregolazione della famiglia delle cicline D, ovverosia un gruppo di proteine che promuovono la progressione del ciclo cellulare.

L'amplificazione del gene della ciclina D, le trisomie e altri eventi citogenetici, sembrano, dunque, essere condizioni necessarie per la trasformazione neoplastica della plasmacellula.⁸⁵

⁸⁴ MITSIADES C.S., [et al.], *Focus on Multiple Myeloma*, «Cancer Cell», November 2004, Vol. 6 Num. 5, Pag. 439-444.

⁸⁵ BRIGLE K., ROGERS B., *Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma*, «Seminars in Oncology Nursing», 2017, Vol. 33, Issue 3, Pag. 225-236

La presenza di una copia extra (trisomi) di cromosomi dispari 3,5,7,9,11,15,19,21 rappresenta la maggioranza dei casi di MM; si parla di iperdiploidia e non interessa mai il cromosoma 13.⁸⁶

Il 10% dei casi di MM, invece, vede cariotipi non iperdiploidi con alta prevalenza di traslocazione del gene Ig, ovverosia traslocazioni a carico del locus della catena pesante delle Ig (IGH).⁸⁷

Come dimostrato dagli studi effettuati da Avet-Loiseau H. [et al.]⁸⁸, nel MM si riscontrano anomalie citogenetiche che comprendono principalmente le traslocazioni 14q32 che coinvolgono il locus IGH e le delezioni 13q.

Per quanto concerne le traslocazioni 14q32, sono state identificate 3 principali traslocazioni nelle linee cellulari del mieloma umano: t(4;14), t(11;14) e t(14;16). Gli studi di Avet-Loiseau H. [et al.] dimostrano, però, una maggior incidenza di sole due di queste traslocazioni, t(11;14) e t(4;14); la traslocazione t(14;16) si riscontra solo nel 2% dei pazienti.⁸⁹

Tra queste, la traslocazione t(4;14) ha un'incidenza, pari al 10%, nei pazienti con IgA MM piuttosto che nei pazienti che presentano mieloma micromolecolare ed è descritta solo nel 2% dei casi di MGUS.

Questo dato suggerisce una possibile correlazione tra questa anomalia e lo *switch* da MGUS a MM, considerando il fatto che i punti di rottura sul cromosoma 4 si verificano all'interno di una regione tra FGFR3 e l'esone MMSET 5'.

Questa regione è una piccola parte di un cluster genico che comprende il gene della famiglia delle transforming acidic coiled-coil protein (TACC3), il gene della famiglia dei recettori per il fattore di crescita per i fibroblasti (FGFR3) e la proteina contenente il dominio SET del mieloma multiplo (MMSET), nota anche come WHSC1 e NSD2.⁹⁰

⁸⁶ BERGSAGEL P.L, KUEHL W.M., *Molecular pathogenesis and a consequent classification of Multiple Myeloma*, «J Clin Oncol. », 2005, Vol. 23, Issue 26, Pag. 6333-6338

⁸⁷ Vedi nota 86

⁸⁸ AVET-LOISEAU H. [et al.], *Oncogenesis of multiple myeloma*, «Blood», 2002, Vol.99, Pag. 2185-2191

⁸⁹ Vedi nota 88

⁹⁰ KEATS J.J. [et al.], *In multiple myeloma, t(4;14) (p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression*, «Blood», 2003, Vol. 101 (4), Pag. 1520–1529

Alla base quindi del MM sembra esserci una disregolazione dell'espressione di oncogeni quali FGFR3, TACC3 e MMSET, che intercorre conseguentemente alla traslocazione t(4;14) e che sembra, dunque, influenzare *“il controllo del ciclo cellulare, la regolazione epigenetica della trascrizione, la sopravvivenza del mieloma e gli eventi mitotici che portano all'instabilità genomica”*.⁹¹

Poiché il mieloma multiplo è una patologia legata al microambiente midollare, le plasmacellule monoclonali presenti nel midollo osseo instaurano una rete di interazioni con le proteine della matrice extracellulare e con le cellule presenti. Queste interazioni sono fondamentali per il processo di proliferazione, diffusione e sopravvivenza delle cellule neoplastiche.⁹²

Nello specifico le cellule del MM, legandosi alle proteine della matrice, come la fibronectina, inibiscono l'apoptosi Fas-mediata e l'apoptosi mediata da farmaci, con conseguente acquisizione di immortalità.⁹³

Le cellule stromali del midollo osseo secernano il fattore di crescita simile all'insulina 1 (IGF1), che nelle cellule del mieloma, insieme alla citochina infiammatoria TNF, la citochina IL-6 e altre molecole, induce l'espressione di NF-κB.

NF-κB, essendo iper-espresso, induce un'elevata espressione di citochine che promuovono il tumore (come TNF, IL-6, IL-1), di fattori pro-apoptotici come Bcl-2 e Bcl-xL e di fattori pro-oncogenici come Myc.⁹⁴

Questi fattori pro-sopravvivenza promuovono, quindi, la crescita del mieloma e conferiscono resistenza alle cellule cancerose dagli agenti chemioterapici che inducono l'apoptosi.

L'iper-rilascio di IL-6, una citochina pleiotropica coinvolta in diversi meccanismi molecolari, è la condizione più coerentemente implicata nel mieloma multiplo.

⁹¹ Vedi nota 90

⁹² BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560.

⁹³ OANCEA M, MANI A, HUSSEIN MA, ALMASAN A., *Apoptosis of multiple myeloma*, «Int J Hematol», 2004, Vol. 80, Issue 3, Pag 228

⁹⁴ ROY P., SARKAR U.A, BASAK S., *The NF-κB Activating Pathways in Multiple Myeloma*. «Biomedicines», 2018, Vol. 6 Pag. 59

In seguito al legame tra IL-6 e il suo specifico recettore IL-6R, si ha l'attivazione della trasduzione del segnale indotta dalla omodimerizzazione di gp130 che attiva due vie di segnalazione principali⁹⁵:

- attivazione della via JAK/STAT: promuove la sopravvivenza cellulare attraverso la fosforilazione di STAT3;
- attivazione della via RAS/MAPK: l'attivazione di RAS induce la successiva fosforilazione e attivazione delle chinasi MAP, le quali sono coinvolte nella progressione del ciclo cellulare. Questa via sembra essere la principale via coinvolta nell'apoptosi delle cellule di mieloma, secondo modelli di apoptosi in vitro.⁹⁶

Per quanto concerne le principali funzioni di IL-6, questa essendo una citochina primaria dell'inflammatione, partecipa alla risposta infiammatoria acuta, in cooperazione con TNF e IL-1, inducendo la sintesi di molteplici mediatori infiammatori a livello epatico (proteine di fase acuta), l'induzione della febbre e la secrezione di epcidina, un peptide regolatore del ferro.⁹⁷

Secondariamente, l'IL-6 è coinvolta nell'attivazione degli osteoclasti con conseguente aumento del riassorbimento osseo e diminuzione della osteogenesi mediata dagli osteoblasti, svolgendo quindi un ruolo centrale nella malattia ossea riscontrata nel MM, di cui si parlerà nel successivo paragrafo.

Infine, IL-6 oltre ad *“inibire la differenziazione dei monociti in cellule dendritiche, con conseguente indebolimento dell'attività anti-mieloma del sistema immunitario”*⁹⁸, stimola la secrezione di VEGF, il quale, come precedentemente detto, promuove l'angiogenesi ma induce anche protezione per le cellule MM dall'apoptosi.

⁹⁵ LOKAU J. [et al.], Chapter seven – *Activating mutations of the gp130/JAK/STAT pathway in human diseases*, Rossen Donev, Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Academic Press, 2019, Vol. 116, Pag. 283-309

⁹⁶ GADÓ, K., DOMJÁN, G., HEGYESI, H. AND FALUS, A., *Role of interleukin-6 in the pathogenesis of multiple myeloma*, «Cell Biology International», 2000, Vol. 24, Pag. 195-209

⁹⁷ CRONSTEIN B.N. [et al.], *Interleukin-6*, «Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases», 2007, Vol. 65, Pag. S12-13

⁹⁸ BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560

2.2 Sintomatologia

Nella maggior parte dei casi l'esordio della malattia risulta essere caratterizzato da assenza di sintomatologia o dalla presenza di sintomi non specifici come nausea, vomito, malessere, affaticamento, infezioni ricorrenti o perdita di peso, che di conseguenza rendono difficoltosa la diagnosi precoce di MM.

Le manifestazioni caratteristiche del MM comprendono: malattia ossea, neuropatia periferica, dispnea, attacco ischemico transitorio, emorragia retinica, trombosi venosa profonda e anemia.⁹⁹

2.2.1 Anemia

L'anemia, riscontrata nei due terzi dei pazienti, è uno dei sintomi maggiormente rilevati e la sua incidenza è ancor maggiore nei pazienti con malattia in fase avanzata.

È generalmente ipoplastica, ovverosia si ha una riduzione del numero di cellule del sangue, normocromica e normocitica, ossia è caratterizzata da emazie di dimensioni normali e con contenuto di emoglobina normale.¹⁰⁰

I fattori che concorrono alla ridotta produzione di globuli rossi sono molteplici; tra questi, la presenza di plasmacellule maligne nel midollo osseo e la conseguente riduzione e sostituzione delle plasmacellule normali rappresenta la prima grande causa di anemia nei pazienti affetti da MM.¹⁰¹

In secondo luogo, l'iperproduzione di citochine infiammatorie, a causa del tumore, come TNF, IL-1, l'interferone- γ e il fattore di crescita trasformante- β , promuovono la ritenzione del ferro nel sistema reticoloendoteliale, nel tratto gastrointestinale e negli epatociti interferendo con la produzione di EPO ed esercitando un effetto inibitorio sull'eritropoiesi.¹⁰²

⁹⁹ MICHELS TC, PETERSEN KE, *Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment*. «Am Fam Physician», 2017, Vol. 95, Issue 6, Pag. 373-383

¹⁰⁰ DISPENZIERI A, KYLE A.R., *Multiple myeloma: clinical features and indications for therapy*, «Best Practice & Research Clinical Haematology», 2005, Vol.18, Issue 4, Pag. 553-568

¹⁰¹ MITTELMAN M, *The implications of anemia in multiple myeloma*, «Clin Lymphoma», 2003, Vol.4, Suppl 1, Pag. S23-9

¹⁰² Vedi nota 101

Beguin [et al.]¹⁰³ hanno dimostrato, infatti, che i livelli sierici di EPO, nel 25% dei pazienti affetti da MM, sono inferiori rispetto ai parametri standard e che, questo valore aumenta al 50% dei pazienti con malattia al terzo stadio e al 60% dei pazienti con insufficienza renale.

L'eritropoietina (EPO), oltre ad agire come fattore di crescita per i precursori eritroidi, svolge un ruolo cruciale come fattore di sopravvivenza, prevenendo l'apoptosi dei proeritroblasti. Di conseguenza, livelli ridotti di EPO portano ad una produzione diminuita di globuli rossi, una sopravvivenza ridotta di quest'ultimi e ad un aumento della viscosità plasmatica.¹⁰⁴

In risposta all'alto livello di citochine infiammatorie, inoltre, i neutrofili, promuovono la secrezione di proteine quali la lattoferrina, che, essendo una proteina legante il ferro, concorre al sequestro di quest'ultimo.

L'anemia, nel paziente affetto da MM, comporta una significativa riduzione della qualità della vita, affaticamento e patologie cardiovascolari, come la cardiopatia ischemica, soprattutto nei pazienti di età superiore ai 70 anni con preesistenti morbidità cardiovascolare e ipossia, una condizione che promuove la crescita del tumore e la resistenza delle cellule tumorali alle terapie.¹⁰⁵

2.2.2 Patologie renali

La compromissione della funzione renale è comune nei pazienti con mieloma multiplo che possono presentare condizioni quali: insufficienza renale acuta o cronica, sindrome nefrotica, proteinuria non nefrotica o difetti della funzione tubulare.¹⁰⁶

Dai dati raccolti da Sakhuja V. [et al.]¹⁰⁷, è emerso che, su un totale di 204 casi, di età compresa tra $57,1 \pm 10,8$ anni con mieloma multiplo, la presenza di una compromissione

¹⁰³ BEGUIN Y. [et al.], *Erythropoiesis in multiple myeloma: defective red cell production due to inappropriate erythropoietin production*, «Br J Haematol», 1992, Vol. 82, n. 4, Pag. 648-653

¹⁰⁴ MITTELMAN M, *The implications of anemia in multiple myeloma*, «Clin Lymphoma», 2003, Vol.4, Suppl 1, Pag. S23-9

¹⁰⁵ Vedi nota 104

¹⁰⁶ SAKHUJA V. [et al.], *renal involvement in multiple myeloma: a 10-year study*, «Renal Failure», 2000, Vol. 22, Pag. 465-477

¹⁰⁷ Vedi nota 107

della funzionalità renale è stata evidenziata nel 26,9% dei casi; dei quali il 94,5% presentavano insufficienza renale.

L'insufficienza renale è spesso una condizione irreversibile ed è la seconda causa più comune di morte dopo le infezioni; lo studio effettuato da Defronzo R.A. [et al.]¹⁰⁸ ha messo in luce, infatti, che *“la prognosi dei pazienti con mieloma multiplo che sviluppano insufficienza renale acuta è scarsa; solo 5 dei nostri 14 pazienti sono sopravvissuti al primo periodo di compromissione renale acuta, e 4 di questi sono successivamente morti entro 2 mesi”*.

Le cause che portano ad una disfunzione della funzionalità renale, nei pazienti affetti da MM, sono molteplici; se in condizioni fisiologiche le catene leggere monoclonali circolanti sono filtrate attraverso il glomerulo e vengono, successivamente, catabolizzate a livello del tubulo prossimale, nel MM, l'eccessiva produzione di catene leggere supera la capacità delle cellule tubolari di catabolizzarle con conseguente formazione di aggregati.¹⁰⁹

Fattori come la disidratazione e l'ipercalcemia promuovono la formazione di quest'ultimi, che porteranno all'ostruzione tubulare ed il conseguente aumento della pressione intraluminale e la riduzione della velocità di filtrazione glomerulare.¹¹⁰

La ridotta clearance tubulare delle catene leggere aumenta ulteriormente la loro concentrazione nei tubuli e contribuisce al circolo vizioso che si traduce in nefropatia da mieloma.

2.2.3 Patologia ossea

Il tessuto osseo è costantemente sottoposto, fisiologicamente, ad un processo di rimodellamento, durante il quale vengono ad alternarsi una fase di riassorbimento osseo, mediata dagli osteoclasti e una fase di formazione ossea, regolata dagli osteoblasti.

Sebbene i precisi meccanismi molecolari responsabili della distruzione ossea nel MM non siano pienamente compresi, è noto che i pazienti affetti dalla suddetta patologia,

¹⁰⁸ DEFRONZO R.A. [et al.], *Acute renal failure in multiple myeloma*. «Medicine (Baltimore)», 1975 Vol. 54, Pag. 209-23

¹⁰⁹ DIMOPOULOS M. [et al.], *Pathogenesis and treatment of renal failure in multiple myeloma*, «Leukemia», 2008, Vol. 22, Pag. 1485–1493

¹¹⁰ Vedi nota 109

presentando un aumentato e anormale rimodellamento osseo e perdendosi l'equilibrio tra il riassorbimento e la formazione, come risultato finale, si ha un aumento dell'attività osteoclastica e una diminuzione dell'attività di osteogenesi mediata dagli osteoblasti.¹¹¹

Le patologie ossee, tipiche del quadro di MM, comprendono: osteoporosi di severità variabile, lesioni osteolitiche, compressione midollare e disturbi del metabolismo del calcio.

L'aumentata attività distruttiva nel MM è correlata, almeno in parte, all'azione svolta dalle cellule del mieloma, le quali, stimolando la secrezione di “fattori attivanti l'osteoclasta” (OAF) come RANKL (ligando dell'attivatore del recettore del fattore nucleare- κ B), MIP-1 α (proteina infiammatoria dei macrofagi-1 α), TGF- α , IL-3 e IL-6, promuovono il riassorbimento osseo.¹¹²

RANKL viene prodotto dalle cellule stromali, dagli osteoclasti e dai linfociti T; in seguito al legame con il suo specifico recettore (RANK), a livello della membrana degli osteoclasti, quest'ultimi vanno incontro a maturazione e attivazione con conseguente incremento del riassorbimento osseo.¹¹³

Parallelamente, RANKL è in grado di legare un altro recettore, OPG (Osteoprotegerin), un recettore decoy solubile, secreto dalle cellule stromali e dagli osteoblasti, che, sostituendosi a RANK nel legame con RANKL, impedisce la maturazione degli osteoclasti e protegge l'osso dal normale rimodellamento.¹¹⁴

Nei pazienti con mieloma multiplo, il rapporto tra RANKL e OPG è significativamente disregolato, con un aumento dell'espressione di RANKL e una contemporanea diminuzione dell'espressione di OPG.¹¹⁵

Oltre al ruolo cruciale di RANKL, anche MIP-1 α , una chemochina prodotta dalle cellule del mieloma, è un fattore osteoclastogenico implicato nello sviluppo di patologie ossee

¹¹¹ EDWARDS C.M. [et al.], *The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma*, «Bone», 2008, Vol. 42, Issue 6, Pag. 1007-1013

¹¹² GALSON D.L. [et al.], *Mechanisms of multiple myeloma bone disease*, «Bonekey Reports», 2012, 1:135

¹¹³ Vedi nota 112

¹¹⁴ SIMONET W.S. [et al.], *Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density*, «Cell», 1997, Vol. 89, Issue 2, Pag. 309-319

¹¹⁵ Vedi nota 111

nel contesto del MM; a riprova di ciò, è stato dimostrato che i livelli sierici di MIP-1 α sono correlati sia con la gravità della malattia ossea che con la sopravvivenza.¹¹⁶

Infine, IL-6, oltre alle attività precedentemente descritte, sembra essere coinvolta nello sviluppo delle lesioni ossee, per mezzo della promozione della secrezione di RANK-L e della riduzione nella secrezione di OPG.

2.2.4 Altre complicazioni

Nella revisione sistematica elaborata da Ramsenthaler [et al.]¹¹⁷, sono stati raccolti ed analizzati trentasei studi volti a identificare i sintomi più frequenti nei pazienti con MM.

Tra i ventisette sintomi riscontrati, il dolore (75%), l'affaticamento (53,1%), la costipazione (66,5%) e la neuropatia periferica sono quelli più comuni.¹¹⁸

Inoltre, la suscettibilità alle infezioni è risultata essere una delle principali cause di morbilità e mortalità; con un rischio 7 volte superiore di contrarre un'infezione batterica e un rischio 10 volte superiore di contrarre un'infezione virale.¹¹⁹

Infine, il MM può essere associato ad anomalie emostatiche che comprendono il sanguinamento e la trombosi. *“Il sanguinamento come complicanza del mieloma può essere presente in un terzo dei pazienti ed è correlato a trombocitopenia, uremia, iperviscosità e interferenza con i fattori di coagulazione”*.¹²⁰

2.3 Approcci terapeutici

La terapia convenzionale, introdotta nel 1962 da Bergsagel [et al.] prevedeva il trattamento con melfalan orale in associazione con prednisone (MP), un glucocorticoide,

¹¹⁶ EDWARDS C.M. [et al.], *The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma*, «Bone», 2008, Vol. 42, Issue 6, Pag. 1007-1013

¹¹⁷ RAMSENTHALER C. [et al.], *Prevalence of symptoms in patients with multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis*, «European Journal of Haematology», 2016, Vol. 97, Issue 5, Pag. 416-429

¹¹⁸ Vedi nota 117

¹¹⁹ BLIMARK C. [et al.], *Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients*, «Haematologica», 2015, Vol. 100, Pag. 107-113

¹²⁰ DISPENZIERI A, KYLE A.R., *Multiple myeloma: clinical features and indications for therapy*, «Best Practice & Research Clinical Haematology», 2005, Vol.18, Issue 4, Pag. 553-568

in cicli da 4-6 settimane per 8-12 cicli. I risultati osservati, mostravano una remissione completa inferiore al 5% e una sopravvivenza media non superiore ai 3 anni.¹²¹

Con l'obiettivo di migliorarne l'efficacia, vennero sperimentate numerose associazioni di farmaci chemioterapici come, a titolo esemplificativo: VBMCP (vincristina, carmustina, melphalan, ciclofosfamide e prednisone)¹²² e VAD (vincristina, adriamicina, desametasone).¹²³ Questi protocolli polichemioterapici, nonostante mostrassero una miglior risposta nei pazienti, non determinavano un aumento della sopravvivenza, che si arrestava sempre intorno ai 3 anni.

Dagli anni '80, si inizia ad introdurre, nei pazienti di età inferiore ai 65 anni, il trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche; trattamento che sin da subito ha mostrato un tasso di risposta e sopravvivenza migliore rispetto alla terapia convenzionale.¹²⁴

Fu nel 1990, con lo studio randomizzato effettuato dall'Intergroupe Francais du Myelome (IFM), che si sono ottenuti dati certi circa la superiorità del trapianto rispetto al protocollo MP, in termini sia di tasso di risposta che di sopravvivenza.¹²⁵

Nell'ultimo decennio, infine, uno dei principali progressi nella gestione del MM è stata l'introduzione dei cosiddetti nuovi farmaci come parte del trattamento in prima linea sia nei pazienti trapiantati che non trapiantati.¹²⁶

La scelta della strategia terapeutica da adottare viene effettuata tenendo conto, in primo luogo, dell'età del paziente; questo parametro, infatti, rappresenta un primo elemento discriminante seguito, successivamente, dallo stadio evolutivo della patologia.

¹²¹ BARLOGIE B [et al.], *Treatment of multiple myeloma*, «Blood», 2004, Vol. 103, Pag. 20-32

¹²² KYLE R.A. [et al.], *The treatment of multiple myeloma using vincristine, carmustine, melphalan, cyclophosphamide, and prednisone (VBMCP) alternating with high-dose cyclophosphamide and alpha(2)beta interferon versus VBMCP: results of a phase III Eastern Cooperative Oncology Group Study E5A93*, «Cancer», 2009, Vol. 115, Pag. 2155-64.

¹²³ LOKHORST H.M. *VAD chemotherapy for refractory multiple myeloma*, «British Journal of Haematology», 1989, Vol. 71, Pag. 25-30

¹²⁴ BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560

¹²⁵ Vedi nota 124

¹²⁶ MOREAU P. [et al.], *Frontline therapy of multiple myeloma*, «Blood», 2015, Vol. 125, Pag. 3076-3084

Ad oggi, il protocollo MP, viene effettuato solo nei pazienti di età superiore ai 65 anni, che, a causa dell'età avanzata e condizioni generali non favorevoli, non possono sottoporsi a protocolli trapiantologici.¹²⁷

2.3.1 Trattamento con talidomide

La talidomide viene ufficialmente approvata per il trattamento del MM nel 2006 da parte della FDA e nel 2008 da EMA.

Tra il 1997 e il 1998, 169 pazienti con MM, precedentemente trattati, sono stati arruolati in uno studio di fase 2 volto a valutare l'impiego di talidomide, come agente singolo, nel trattamento del mieloma refrattario.¹²⁸

La talidomide, come ampiamente dimostrato in precedenza, ha un importante effetto sul microambiente tumorale determinando:

- Inibizione dell'angiogenesi mediante l'inibizione dell'espressione di VEGF e del FGF
- Riduzione dell'interazione tra le cellule di mieloma e il microambiente mediante una ridotta espressione di molecole di adesione
- Soppressione di citochine coinvolte nella sopravvivenza e nella proliferazione
- Stimolazione dell'apoptosi tramite attivazione della caspasi 8
- Inibizione del *pathway* di NF-κB.¹²⁹

Il trattamento con Celgene (talidomide), prevedeva una dose giornaliera di 200 mg, aumentato di 200 mg ogni 2 settimane fino a 800 mg in base alla tolleranza.¹³⁰

Inizialmente, nonostante la conoscenza dell'attività antiangiogenica del farmaco, questa non era stata rilevata; ciò è sicuramente coerente con il fatto che l'effetto principale di un agente antiangiogenico dovrebbe essere la prevenzione della formazione di nuovi vasi piuttosto che la distruzione dei vasi esistenti.

¹²⁷ BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560

¹²⁸ Vedi nota 127

¹²⁹ Vedi nota 127

¹³⁰ BARLOGIE B. [et al.], *Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients*, «Blood», 2001, Vol. 98, Issue 2, Pag. 492-494

I risultati ottenuti erano promettenti; remissione completa nel 14% dei casi e sopravvivenza libera da eventi a 2 anni pari al 20%.¹³¹

Nel corso dello studio non sono stati osservati decessi correlati al trattamento; il 58% ha sviluppato tossicità a livello del sistema nervoso centrale (principalmente sedazione e sonnolenza, confusione, depressione e tremore), a livello del tratto gastrointestinale nel 16% (principalmente costipazione e raramente nausea o vomito) e a livello dei nervi periferici (neuropatia sensoriale) nel 9%. Meno del 2% dei pazienti ha sviluppato trombosi venosa profonda o citopenia.¹³²

Questo studio ha dimostrato, per la prima volta, l'efficacia in vivo della talidomide nel trattamento in monoterapia del mieloma multiplo.

Inoltre, la mancanza di mielosoppressione e la successiva scoperta di un'importante azione sinergica, svolta dalla talidomide se associata ad altri farmaci, ha reso quest'ultima un farmaco ideale per il trattamento della malattia.

Come dimostrato dallo studio svolto da Palumbo A. [et al.]¹³³, *“l'associazione di talidomide a basso dosaggio più desametasone si è rivelata altamente efficace nei pazienti con recidiva o mieloma refrattario: il 41% ha mostrato una diminuzione >50% di proteine del mieloma”*.

La terapia è risultata significativamente più efficace rispetto al trattamento convenzionale con melfalan e prednisone e sono stati segnalati meno effetti avversi rispetto alla sola somministrazione di talidomide.

Le motivazioni sottese all'efficacia del trattamento combinato di talidomide e desametasone sono da attribuire all'azione sinergica svolta dai due farmaci; nello specifico, se da un lato la talidomide è implicata nell'inibizione dell'angiogenesi, nell'alterazione dell'espressione di molecole di adesione e in tutti quei processi

¹³¹ BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560

¹³² BARLOGIE B. [et al.], *Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients*, «Blood», 2001, Vol. 98, Issue 2, Pag. 492-494

¹³³ PALUMBO A. [et al.], *Low-dose thalidomide plus dexamethasone is an effective salvage therapy for advanced myeloma*, «Haematologica», 2001, Vol. 86, No. 4

precedentemente illustrati, il desametasone esercita la sua azione antimieloma mediante l'inibizione della sintesi di IL-6.¹³⁴

Palumbo A. [et al.], infatti, hanno evidenziato che la combinazione di 100 mg/die di talidomide se in associazione a 40 mg/die di desametasone, per 4 giorni al mese, porta ad un aumento dell'inibizione della proliferazione pari al 35%.¹³⁵

Inoltre, riducendo, in politerapia, la dose di talidomide rispetto al trattamento in monoterapia, gli effetti avversi segnalati risultano essere numericamente ridotti e di gravità inferiore.

Ad oggi sono quasi 40 000 le segnalazioni di effetti avversi¹³⁶ raccolte in tutto il mondo in seguito alla somministrazione di talidomide.

Nel grafico sottostante sono state riportate le frequenze di segnalazione dei principali effetti avversi, raccolte dal 2000 al 2023, e riportate su VigAccess, il portale che raccoglie le segnalazioni inviate all'organizzazione Mondiale della Sanità.

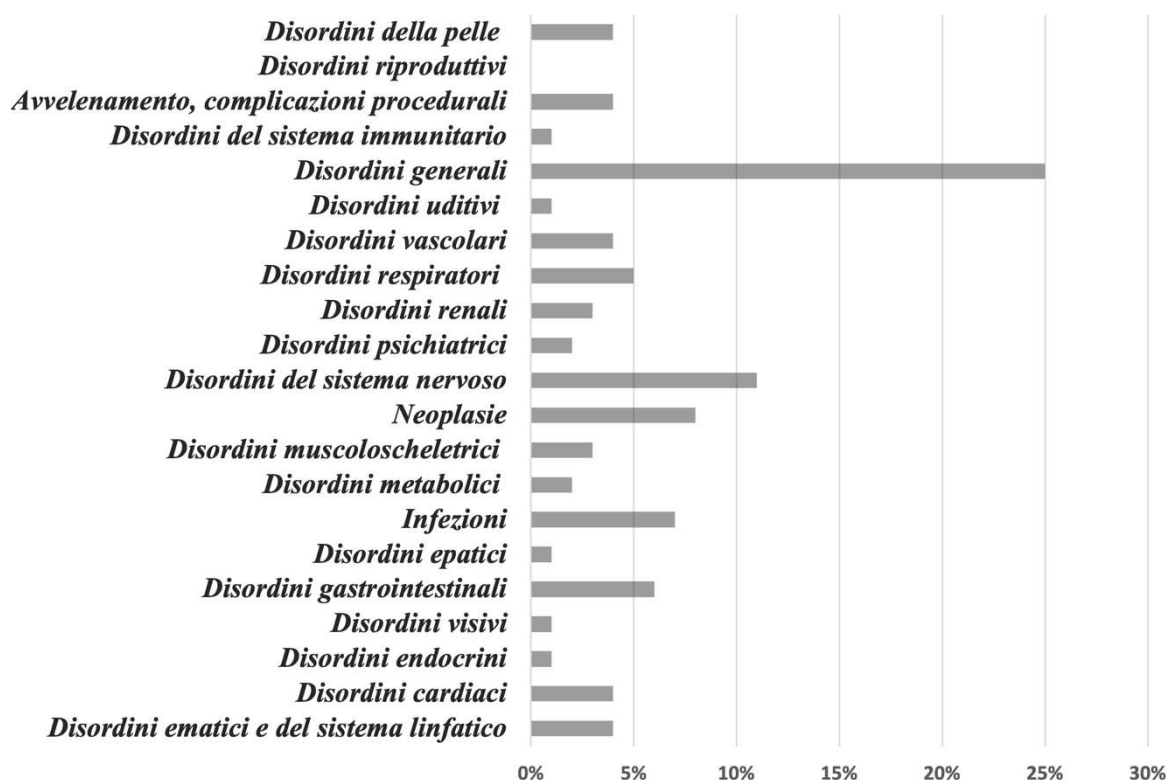


Fig.9 – Frequenza di segnalazione dei principali effetti avversi in seguito a somministrazione di talidomide

Fonte informativa: Thalidomide <https://www.vigiaccess.org> (accesso effettuato il 18 dicembre 2023)

¹³⁴ PALUMBO A. [et al.], *Low-dose thalidomide plus dexamethasone is an effective salvage therapy for advanced myeloma*, «Haematologica», 2001, Vol. 86, No. 4

¹³⁵ Vedi nota 134

¹³⁶ Thalidomide <https://www.vigiaccess.org> (Accesso effettuato il 18 dicembre 2023)

I disordini a carico del sistema nervoso vedono un'incidenza di segnalazione pari all'11% e tra questi, la neuropatia periferica, è l'effetto avverso maggiormente riscontrato.

La neuropatia periferica indotta da talidomide è caratterizzata da parestesie dolorose simmetriche delle mani e dei piedi, spesso accompagnate da perdita sensoriale degli arti inferiori; in molti pazienti sono stati segnalati anche episodi di crampi muscolari, sindrome del tunnel carpale e debolezza muscolare.¹³⁷

Diversi studi hanno evidenziato che lo sviluppo di neuropatia non è dose-dipendente e non è correlato alla durata della terapia; anzi, è stato suggerito che la predisposizione genetica sia un fattore nettamente più rilevante, con un rischio più elevato in donne e anziani.¹³⁸

Vertigini, sonnolenza, tremori, amnesie sono solo alcuni esempi di altre complicanze, a livello del sistema nervoso, riscontrati dai pazienti in seguito a somministrazione del farmaco.

I disturbi gastrointestinali rappresentano un'altra grande classe di effetti avversi; tra questi la stitichezza è uno dei più comuni.

Ben l'80-90% dei pazienti può sviluppare una lieve stitichezza; si ritiene che questa sia correlata agli effetti della talidomide sulle terminazioni nervose autonome nell'intestino. Nella maggior parte dei casi la problematica è di facile gestione; tuttavia, in pazienti che assumono un alto dosaggio di farmaco possono verificarsi sintomi gravi, che possono portare a ostruzione e persino a megacolon tossico.¹³⁹

La xerostomia, o secchezza delle fauci, si verifica in circa il 10% dei pazienti trattati con talidomide, a seguire si evidenziano anoressia, vomito, aumento dell'appetito, aumento di peso, dispepsia, eruttazione, flatulenza e ostruzione intestinale.¹⁴⁰

¹³⁷ TSENG BA S. [et al.], *Rediscovering thalidomide: A review of its mechanism of action, side effects, and potential uses*, «Journal of the American Academy of Dermatology», December 1996, Vol. 35, Issue 6, Pag. 975

¹³⁸ OCHONISKY S, VERRAUST J, BASTUJI-GARIN S, GHERARDI R, REVUZ J., *Thalidomide neuropathy incidence and clinico-electrophysiologic findings in 42 patients*, «Arch Dermatol», January 1994 130(1):66-9

¹³⁹ GHOBRIAL IM, RAJKUMAR SV. *Management of thalidomide toxicity*, «J Support Oncol», 2003 Sep-Oct, 1(3): pag 194-205.

¹⁴⁰ Vedi nota 46

Gli effetti avversi dermatologici includono eruzioni cutanee, lesioni atrofiche, pelle e bocca secca e bocca e sindrome di Stevens-Johnson.

Il più comune effetto collaterale dermatologico è un'eruzione maculopapulare pruriginosa, che ha luogo sul tronco e successivamente si estende alla schiena e agli arti prossimali.

Questa manifestazione cutanea, che si manifesta entro 10-14 giorni dall'inizio del trattamento, non sembra essere correlata alla dose; tuttavia, è un potenziale segno precoce di una reazione di ipersensibilità molto più grave, con un tasso di mortalità del 30% ovvero la necrolisi epidermica tossica.¹⁴¹

La necrolisi epidermica tossica, è una patologia che si manifesta con esfoliazione, oltre il 30%, di ampie aree della pelle, febbre, vescicole e ulcere sulle membrane mucose che rivestono la bocca, i genitali, gli occhi ed infine dolori generalizzati.¹⁴²

Infine, la trombosi venosa profonda (TVP) è una complicanza tromboembolica che si manifesta con un'incidenza del 1-3% nei pazienti, con mieloma multiplo, in trattamento in monoterapia con talidomide; la percentuale tende a crescere esponenzialmente quando talidomide è usata in duplice terapia in associazione con doxorubicina o desametasone.¹⁴³

La maggior parte degli eventi tromboembolici registrati, durante il trattamento con talidomide in monoterapia, si manifestano entro i tre-sei mesi; pazienti che presentano uno stadio avanzato della patologia sono risultati essere maggiormente esposti allo sviluppo di trombosi venosa profonda.¹⁴⁴

La tromboprofilassi non è necessaria nei pazienti che assumono talidomide in monoterapia, ad esclusione di coloro che presentano contemporaneamente altri fattori di rischio per la TVP come “*fattori di rischio individuali (età, obesità, comorbidità, procedure chirurgiche), fattori di rischio correlati alla MM (diagnosi, alta massa*

¹⁴¹ PALUMBO A., FACON T. [et al.], *Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later*, «Blood», April 2008, Vol. 111, Issue 8, Pag. 3968–3977.

¹⁴² MSD Manual, Julia Benedetti, <https://www.msdmanuals.com/it-it/casa/patologie-della-cute/patologie-della-cute-da-ipersensibilita-e-di-tipo-reattivo/sindrome-di-stevens-johnson-sjs-e-necrolisi-epidermica-tossica-net> (Accesso effettuato il 18 gennaio 2024)

¹⁴³ Vedi nota 141

¹⁴⁴ RUS C. [et al.], *Thalidomide in front line treatment in multiple myeloma: serious risk of venous thromboembolism and evidence for thromboprophylaxis*, «J Thromb Haemost», 2004, Vol. 2, Pag. 2063–5.

tumorale) e fattori di rischio correlati al trattamento”¹⁴⁵; è, invece, fortemente raccomandata in coloro che assumono talidomide in combinazione con desametasone ad alte dosi o doxorubicina.

3. Eritema nodoso lepromatoso

L'eritema nodoso lepromatoso è una complicanza infiammatoria della lebbra, una malattia infettiva cronica granulomatosa, causata dal microrganismo *Mycobacterium leprae*, un *bacillus* gram positivo acido.¹⁴⁶

La malattia è conosciuta da secoli, con segnalazioni di casi risalenti ad oltre 3000 anni fa e deve il suo nome a Gerhard Armauer Hansen, colui che, nel 1873, indentificò, per primo, il micobatterio responsabile della malattia.¹⁴⁷

Ad oggi, la lebbra, sebbene sia curabile e in molti paesi del mondo eradicata, nelle aree più povere si registra ancora un indice di contagio elevato.

Secondo i dati diffusi dall'OMS in riferimento all'anno 2022, sono 174.087 i nuovi casi segnalati da 182 Paesi, ovverosia il 23,8% in più dell'anno precedente.¹⁴⁸

Le aree del mondo più colpite sono il Sud est asiatico (71,4% di nuovi casi), seguito dall'Africa (12,6%) e dall'America, soprattutto l'America meridionale; inoltre, quasi il 6% dei nuovi casi è da riferirsi a bambini, per un totale di 10.302 nuovi casi infantili.

La lebbra può essere trasmessa attraverso diverse vie; la via più comune comprende le secrezioni nasali o le goccioline respiratorie dette goccioline di *Flügge* di un individuo infetto, a cui può venire a contatto un individuo suscettibile, oppure il contatto pelle-pelle tra l'individuo malato che presenta ulcere e un soggetto predisposto alla malattia.

¹⁴⁵ PALUMBO A., FACON T. [et al.], *Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later*, «Blood», April 2008, Vol. 111, Issue 8, Pag. 3968–3977.

¹⁴⁶ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁴⁷ LASTÓRIA JC, MORGADO DE ABREU MAM. *Leprosy (part 1): review of the epidemiological, clinical and etiopathogenic aspects*, «An Bras Dermatol», 2014, Vol. 89, Issue 2, Pag. 205-218

¹⁴⁸ WORLD HEALTH ORGANIZATION, Weekly epidemiological record, 15 settembre 2023, No 37, Pag. 409-430 <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372812/WER9837-eng-fre.pdf?sequence=1> (Accesso effettuato il 20 gennaio 2024).

Meno frequentemente, può essere trasmessa in utero, mediante il sangue, il latte materno o punture di insetti.¹⁴⁹

I fattori di rischio che aumentano la probabilità di contrarre la malattia comprendono in primo luogo le condizioni abitative inadeguate e le scarse condizioni igieniche; questi fattori concorrono ad una ridotta immunità cellulo-mediata e di conseguenza ad una maggior predisposizione.

Secondariamente i fattori di rischio non modificabili come l'età, il genere, l'etnia e i fattori genetici sono elementi cruciali; generalmente la fascia compresa tra i 20 e i 30 anni è quella maggiormente suscettibile all'infezione e il genere maschile ha il doppio di possibilità di contatto in più rispetto al sesso femminile.

Infine, fattori ambientali come l'umidità, che favorisce la resistenza del micobatterio e la malnutrizione sono altre condizioni fortemente predisponenti all'infezione.

3.1 Manifestazioni cliniche

Le manifestazioni cliniche sono per lo più limitate alla pelle, al sistema respiratorio superiore, agli occhi e ai nervi periferici; questo perché, essendo la temperatura richiesta per la sopravvivenza e la proliferazione del micobatterio compresa tra 27 °C e 30 °C, le aree superficiali sono quelle che rispettano maggiormente questo parametro e risultano essere delle zone più favorevoli, rispetto alle aree viscerali, per il micobatterio.¹⁵⁰

Sebbene le manifestazioni cliniche tipiche siano quelle pocanzi illustrate, bisogna evidenziare che, esistendo diverse forme della malattia, i segni clinici della patologia sono fortemente differenti soprattutto in termini di gravità.

Secondo la classificazione di Ridley-Jopling e altri leprologi, le forme di lebbra possono essere classificate in base alle caratteristiche istologiche e immunologiche in cinque tipi:¹⁵¹

¹⁴⁹ Vedi nota 147

¹⁵⁰ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁵¹ ALREHAILI J, *Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023*, «Cureus», 2023, Vol. 15, Issue 9

- Lebbra tubercoloide (TT)
- Lebbra tubercoloide *borderline* (BT)
- Lebbra *borderline* media (BB)
- Lebbra lepromatosa *borderline* (BL)
- Lebbra lepromatosa (LLp)

La lebbra tubercoloide (TT) si manifesta con piccole placche cutanee eritematose con bordo ben definito e lesioni ipopigmentate di facile guarigione in quanto, non essendoci immunocompromissione, il paziente ha una buona immunità cellulo-mediata che, gli permette, di ridurre la disseminazione ematogena e favorire la formazione di granulomi organizzati. Inoltre, differentemente dagli altri tipi di lebbra, non si ha coinvolgimento delle vie respiratorie superiore.¹⁵²

La forma BB di lebbra invece, mostra placche eritematose, con bordi diffusi esternamente e noduli, numericamente inferiori rispetto alla lebbra lepromatosa (LLp), che, invece, è caratterizzata da numerose papule e noduli con confini mal definiti e nessun centro di guarigione.

*I pazienti risultano immunocompromessi, con mancanza di risposta immunitaria cellulare agli antigeni di M. leprae e numerosi granulomi macrofagici contenenti bacilli e pochi linfociti. C'è un danno sensoriale ai nervi con una presenza significativa dei bacilli nelle cellule di Schwann.*¹⁵³

I pazienti affetti da lebbra lepromatosa, infatti, mostrano ridotta risposta da parte dei linfociti T-*helper* verso il micobatterio, ridotta produzione di IL-2 e di interferone γ , il quale, è responsabile, di una inefficace stimolazione macrofagica; quest'ultimi, di conseguenza, non sono in grado di riconoscere il micobatterio e di attuare una corretta presentazione antigenica e un'efficace attività microbica.¹⁵⁴

L'OMS, differentemente, suddivide le forme di lebbra in:

- Paucibacillari (PB): quando il paziente è negativo per bacilli acido-alcol-resistenti oppure ha un numero di lesioni comprese tra 2 e 5

¹⁵² ALREHAILI J, *Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023*, «Cureus», 2023, Vol. 15, Issue 9

¹⁵³ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁵⁴ MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 354

- Multibacillari (MB): quando il paziente presenta striscio cutaneo positivo o più di cinque lesioni cutanee¹⁵⁵

La diagnosi di lebbra viene effettuata analizzando la sintomatologia che deve presentare almeno uno dei seguenti segni:

- perdita della sensibilità in corrispondenza di una chiazza cutanea ipopigmentata o rossastra;
- nervo periferico ispessito o ingrossato, con perdita di sensazione e/o debolezza dei muscoli correlati a quel nervo;
- rilevamento microscopico di bacilli.¹⁵⁶

Durante il decorso della malattia, sia nei pazienti trattati che in quelli non trattati, il sistema immunitario può attivare delle reazioni infiammatorie che vengono classificate in tipo 1 e tipo 2.

La reazione di tipo 1, detta inversione, è una reazione di ipersensibilità ritardata, che può verificarsi nella lebbra *borderline*, 6-18 mesi dopo l'inizio della terapia, diretta contro gli antigeni del micobatterio.

Quando l'esito clinico è diretto verso il polo tubercoloide, si parla di reazione di aggiornamento, mentre quando lo spostamento è verso la lebbra lepromatosa, si parla di reazione di declassamento.¹⁵⁷

L'eritema nodoso lepromatoso (ENL), è una reazione di tipo 2 che *si manifesta nei pazienti affetti da lebbra multibacillare (con prevalenze del 50% nelle forme lepromatose e del 25% in quelle lepromatose borderline), con la comparsa di noduli duri e dolenti che tendono a formare larghe placche infiltrate.*¹⁵⁸

I noduli si concentrano principalmente nel viso, negli avambracci, nel busto e nelle cosce; inoltre, è associato a febbre, anemia, anoressia, leucocitosi.¹⁵⁹

L'insorgenza dell'ENL può essere di tipo cutaneo, reumatoide o misto:

¹⁵⁵ Vedi nota 154

¹⁵⁶ WORLD HEALTH ORGANIZATION, Leprosy, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leprosy> (Accesso effettuato il 20 gennaio 2024)

¹⁵⁷ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁵⁸ MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 356

¹⁵⁹ Vedi nota 157

- ENL reumatoide: ha un'incidenza superiore al 57% e si presenta con artrite simmetrica acuta che colpisce le piccole articolazioni delle mani e dei piedi ma anche le ginocchia e i gomiti.
- ENL cutaneo: si manifesta con noduli eritematosi e placche su tutto il corpo; rari casi mostrano anche lesioni bollose, ulcerate, emorragiche ed eritema multiforme.¹⁶⁰

L'ENL viene classificato, inoltre, in base alla durata degli episodi in: ENL acuto, quando si presenta un singolo episodio della durata massima di 24 settimane, ENL ricorrente, quando si verificano episodi ripetuti dopo 28 giorni dall'interruzione del trattamento farmacologico, ed infine ENL cronico.¹⁶¹

La diagnosi di ENL viene effettuata, in primo luogo, mediante test di laboratorio volti a valutare i livelli di emoglobina ed ematocrito; nel caso di reazione di tipo 2, l'emoglobina risulterà essere più bassa rispetto ai valori *standard*, mentre si avranno alti valori dell'ematocrito e della conta totale.¹⁶²

L'esame istopatologico è un secondo test clinico utile nella diagnosi; nello specifico, la presenza di un intenso infiltrato neutrofilo è uno dei segni distintivi dell'ENL.¹⁶³

Lo studio svolto da J. Lee [et al.],¹⁶⁴ ha dimostrato, infatti, che la E-selettina, una molecola di adesione implicata nel reclutamento e legame a livello endoteliale dei neurofili, risulta essere iperespressa nelle lesioni ENL.

Nello specifico, hanno osservato che, essendo l'espressione di E-selettina regolata dall'IL-1 β , prodotta dai macrofagi, nell'ENL si registra un'elevata induzione della suddetta citochina e di conseguenza un iperespressione di E-selettina.

Inoltre, come riportato nello studio in esame; *la capacità di IFN- γ di migliorare la capacità di induzione di IL-1 β di E-selettina e il successivo legame con neutrofili è degna*

¹⁶⁰ BHAT, RAMESH M., [et al.], *What is New in the Pathogenesis and Management of Erythema Nodosum Leprosum*, «Indian Dermatology Online Journal», 2020, Vol. 11, Issue 4, Pag. 482-492

¹⁶¹ Vedi nota 160

¹⁶² Vedi nota 160

¹⁶³ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁶⁴ LEE J. D. [et al.], *Integrated Pathways for Neutrophil Recruitment and Inflammation in Leprosy*, «The Journal of Infectious Diseases», 2010, Vol. 201, No. 4, Pag. 558-569

di nota, data l'osservazione clinica che il 60% dei pazienti con lebbra lepromatosa, che hanno ricevuto iniezioni sottocutanee di IFN- γ , ha sviluppato ENL.¹⁶⁵

Queste osservazioni suggeriscono, dunque, che sia IL-1 β che IFN- γ svolgono un ruolo nell'induzione della E-selettina come parte della patogenesi dell'ENL.

Nel corso del successivo paragrafo, verrà approfondito questo aspetto nel contesto del farmaco talidomide, in quanto, come si vedrà, è noto per ridurre l'infiltrazione di neutrofili nelle lesioni della malattia.

3.2 Approcci terapeutici

In passato, la principale strategia utilizzata per prevenire la diffusione della lebbra era l'isolamento obbligatorio dei pazienti nelle colonie di lebbrosi, stabilite in Brasile nel 1923.

Con l'introduzione dei solfoni negli anni '40, l'isolamento non era più obbligatorio; tuttavia, fu ufficialmente abolito nel 1962.

Nel 1970, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), ha suggerito l'uso di regimi multifarmaco nel trattamento della lebbra, con l'obiettivo di trattare parallelamente l'infezione, l'infiammazione, il dolore e prevenire episodi futuri.

Il trattamento è fortemente dipendente dalle varie forme cliniche di lebbra; in linea generale è previsto l'uso di farmaci antimicobatterici come la rifampicina, un farmaco battericida in grado di inibire selettivamente la RNA polimerasi batterica DNA-dipendente.¹⁶⁶

Farmaci batteriostatici come il dapson e clofazimina sono anch'essi molto usati in terapia; il dapson esercita la sua azione batteriostatica inibendo la sintesi di acido folico, è un farmaco economico e sicuro per la somministrazione a lungo termine.

¹⁶⁵ LEE J. D. [et al.], *Integrated Pathways for Neutrophil Recruitment and Inflammation in Leprosy*, «The Journal of Infectious Diseases», 2010, Vol. 201, No. 4, Pag. 558-569

¹⁶⁶ MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 357

La clofazimina, invece, oltre alla sua azione antimicobatterica ha anche buone proprietà antinfiammatorie.¹⁶⁷

Lo schema terapeutico tradizionale, per il trattamento della lebbra multibacillare, prevede la somministrazione concomitante di dapsona, clofazimina e rifampicina per almeno 12 mesi, anche se, molto frequentemente, la terapia deve essere seguita per tutta la vita.¹⁶⁸

La lebbra paucibacillare viene trattata con i medesimi farmaci ma per un periodo di tempo più ridotto, generalmente, pari a sei mesi.

La somministrazione di corticosteroidi, come il prednisolone, è ampiamente utilizzato nel trattamento della malattia, soprattutto, in pazienti che hanno sviluppato reazioni di tipo 1; questi farmaci, infatti, offrono un rapido controllo dell'infiammazione e hanno un'ottima attività antidolorifica.¹⁶⁹

Nel trattamento dell'ENL, infine, possono essere usati il prednisone ad alto dosaggio, gli steroidi a basso dosaggio, per prevenire lo sviluppo di trombi, ed infine la talidomide.

Nei casi di inefficacia del trattamento dell'ENL con corticosteroidi, la somministrazione di talidomide è risultata essere una scelta ottimale.

Da un lato è stato possibile ridurre la posologia di corticosteroidi e di conseguenza gli effetti collaterali ad essi correlati; in secondo luogo, in molti casi, l'uso in monoterapia della talidomide è stata sufficiente a trattare la patologia e prevenire future ricadute.

3.2.1 Trattamento con talidomide

Come anticipato nel capitolo precedente, la prima evidenza circa la possibile efficacia della talidomide, nel trattamento della lebbra, risale al 1964.

Jacob Sheskin, un dermatologo israeliano, decise, in seguito all'inefficacia delle terapie precedentemente adottate, di somministrare ad un paziente malato di lebbra il farmaco talidomide.

¹⁶⁷ STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202

¹⁶⁸ MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 357

¹⁶⁹ BHAT, RAMESH M., [et al.], *What is New in the Pathogenesis and Management of Erythema Nodosum Leprosum*, «Indian Dermatology Online Journal», 2020, Vol. 11, Issue 4, Pag. 482-492

Sorprendentemente, il paziente, non manifestava più dolore e insonnia e dopo alcuni giorni di trattamento, le sue lesioni cominciarono a migliorare fino alla completa guarigione.¹⁷⁰

Per spiegare le ragioni correlate al miglioramento della prognosi, in seguito a somministrazione di talidomide, bisogna illustrare i meccanismi molecolari propri dell'ENL.

Come si è avuto modo di anticipare nelle pagine precedenti, nei pazienti affetti da ENL i livelli sierici di TNF α sono significativamente più alti rispetto alla norma; questa citochina, svolge un ruolo chiave nella regolazione della risposta immunitaria e infiammatoria dell'ospite all'infezione.

Viene prodotta principalmente da monociti, macrofagi e cellule dendritiche, e in associazione con L'IL-1 e l'IL-6, agisce su svariati organi e tessuti; in primo luogo, promuove l'espressione di molecole di adesione endoteliale da parte delle cellule endoteliali, promuove il reclutamento di neutrofili, stimola il rilascio di proteine di fase acuta a livello epatico, è un potente pirogeno endogeno e promuove lo stato di cachessia.

Sebbene quindi, il ruolo di questa citochina sia di fondamentale importanza nella genesi delle reazioni di fase acuta, la sovrapproduzione di quest'ultima può avere gravi conseguenze patologiche.

Il trattamento con talidomide, già all'epoca di Jacob Sheskin, risultò efficace proprio perché, il farmaco, è in grado di inibire, e non abolire, la produzione di TNF α mediante destabilizzazione selettiva dell'mRNA, con conseguente riduzione dei livelli sierici della suddetta citochina, riduzione della sintomatologia caratteristica e soprattutto senza interferire con il suo ruolo nell'immunità dell'ospite.

Nello studio condotto da Kaplan G. [et al.]¹⁷¹, sono stati somministrati, a pazienti affetti da ENL, 300 mg al giorno di talidomide per la prima settimana, 200 mg al giorno per la seconda settimana e 100 mg al giorno per la terza settimana.

¹⁷⁰ SHESKIN J. *Thalidomide in lepra reaction*, «Int.J. Dermatol», 1975, Vol. 14, Issue 8, Pag. 575-576

¹⁷¹ KAPLAN, G., *Potential of thalidomide and thalidomide analogues as immunomodulatory drugs in leprosy and leprosy reactions*, «Lepr Rev», 2000, Vol. 71, suppl: S117

I risultati ottenuti mostrano una significativa riduzione dei livelli sierici di TNF α , miglioramento dei sintomi clinici e dal punto di vista istopatologico, un'importante riduzione dell'infiltrato infiammatorio.

Inoltre, ricordiamo, come nell'ENL, ci sia un forte infiltrato neutrofilo, che, per quanto fondamentale per la difesa dell'ospite, una sua deposizione cronica è correlata, nella patologia in esame, alla formazione di noduli eritematosi e dolorosi e da altre manifestazioni sistemiche patologiche.

Come evidenziato da Lee J. D. [et al]¹⁷², la talidomide è in grado di inibire l'induzione dell'IL-1 β e dell'IFN- γ , i quali, promuovono l'espressione di E-selettina e la conseguente adesione dei neutrofili alle cellule endoteliali.

Nello specifico, si è osservato che, entrambi gli enantiomeri della talidomide, possono ridurre la formazione delle lesioni diminuendo il rilascio di IL-1 β indotto da TLR2 oltre che ridurre i livelli di IFN- γ il quale, è noto che, aumenta gli effetti di IL-1 β sull'espressione di E-selettina in modo dose-dipendente.¹⁷³

Ad oggi, quindi, il trattamento dell'ENL con talidomide è nettamente preferibile rispetto all'impiego di corticosteroidi, in quanto, l'uso cronico di quest'ultimi è correlato a molteplici effetti avversi che riducono significativamente l'aderenza al trattamento e la qualità di vita.

Sicuramente, come si è avuto modo di mettere in luce in precedenza, anche la talidomide, come d'altronde tutti i farmaci, non è esente da manifestazioni avverse; a tal proposito, però, è stato avviato, dalla Celgene Corporation, un programma, con l'obiettivo di sviluppare nuove molecole immunomodulanti analoghi della talidomide, ma prive di tossicità.

Inizialmente i composti sono stati sintetizzati, mediante modifiche della struttura chimica della talidomide, con l'obiettivo di ottenere una maggior inibizione di TNF α e sono state evidenziate due grandi famiglie.¹⁷⁴

¹⁷² LEE J. D. [et al], *Integrated Pathways for Neutrophil Recruitment and Inflammation in Leprosy*, «The Journal of Infectious Diseases», 2010, Vol. 201, No. 4, Pag. 558-569

¹⁷³ Vedi nota 172

¹⁷⁴ KAPLAN, G., *Potential of thalidomide and thalidomide analogues as immunomodulatory drugs in leprosy and leprosy reactions*, «Lepr Rev», 2000, Vol. 71, suppl: S119

Un gruppo di analoghi della talidomide mostra inibizione nella produzione di TNF α e della fosfodiesterasi IV, mancata inibizione dell'IL-6 e stimolazione della produzione di IL-10 e IL-8.¹⁷⁵

L'inibizione della fosfodiesterasi IV, non osservata con l'uso di talidomide, è associata ad effetti antinfiammatori con conseguente riduzione dell'attività delle cellule T nonché ridotta produzione di citochine quali IL-2 e IFN- γ .¹⁷⁶

Al contrario, l'altro gruppo ha mostrato inibizione di TNF α e IL-6, stimolazione della produzione di IL-10 ma mancata inibizione della fosfodiesterasi IV.¹⁷⁷

Questi risultati suggeriscono che l'uso di analoghi della talidomide, grazie ad una maggior inibizione di TNF α e all'assenza di teratogenicità, potrebbero essere il trattamento futuro dell'ENL.

Non solo, gli analoghi della talidomide con azione inibitoria verso la fosfodiesterasi IV, rappresentano dei perfetti candidati per il trattamento delle reazioni di fase I, nello specifico per la reazione di inversione, trattamento nel quale, il farmaco talidomide, non ha avuto successo.

4. Altri impieghi clinici

La capacità della talidomide di inibire la produzione di TNF α nell'ENL ha suggerito la possibilità di utilizzare il farmaco in altre patologie TNF α correlate.

Tramontana [et al.]¹⁷⁸ hanno condotto uno studio in pazienti con tubercolosi per valutare la possibile efficacia del farmaco considerando che, nell'infezione da *Mycobacterium tuberculosis*, i monociti isolati da pazienti con malattia attiva rilasciano quantità elevate di TNF α nel surfactante.

Gli alti livelli di questa citochina sono responsabili di alcune delle manifestazioni tipiche della patologia quali febbre, perdita di peso, affaticamento e necrosi polmonare.

¹⁷⁵ KAPLAN, G., *Potential of thalidomide and thalidomide analogues as immunomodulatory drugs in leprosy and leprosy reactions*, «Lepr Rev», 2000, Vol. 71, suppl: S119

¹⁷⁶ Vedi nota 175

¹⁷⁷ Vedi nota 175

¹⁷⁸ TRAMONTANA, J.M., [et al.], *Thalidomide Treatment Reduces Tumor Necrosis Factor α Production and Enhances Weight Gain in Patients with Pulmonary Tuberculosis*, «Mol Med», 1995, Vol. 1, Pag. 384–397

Lo studio è organizzato con un gruppo di trattamento al quale vengono somministrati 300 mg di talidomide al giorno per 14 giorni e un gruppo di controllo con placebo.

Il farmaco è stato ben tollerato durante tutta la durata della terapia, gli unici effetti avversi riscontrati sono stati sonnolenza, secchezza delle fauci e costipazione; inoltre non sono stati rilevati cambiamenti significativi nella conta leucocitaria.

Tutti i pazienti hanno registrato un aumento di peso durante il trattamento con talidomide, cosa che non è stata riscontrata nei pazienti trattati con placebo; al termine dei 14 giorni alcuni pazienti hanno perso peso mentre altri hanno mantenuto il peso acquisito.

Questo dato suggerisce che la talidomide può esercitare un effetto sul metabolismo e che quindi potrebbe essere efficacemente impiegata per accelerare la riacquisizione di peso nei pazienti affetti da tubercolosi.

Per quanto concerne i valori di TNF α , coerentemente con quanto ci si aspettava, a metà del trattamento, si è registrata una significativa riduzione e, la sospensione della terapia, ha portato ad innalzamento; ancora, non si è rilevato alcun effetto negativo sull'immunità dell'ospite in seguito alla riduzione della suddetta citochina.¹⁷⁹

Come conseguenza dei risultati ottenuti, possiamo, altresì evidenziare come l'uso di talidomide potrebbe essere efficace anche nel trattamento di un'altra patologia associata a cachessia ossia la sindrome da immunodeficienza acquisita.

Il TNF α , infatti, è implicato nella patogenesi della perdita di peso e massa muscolare nei pazienti con infezione da HIV e il trattamento con talidomide sembrerebbe in grado di invertire la sindrome da deperimento senza aver alcun effetto avverso sull'immunità del paziente.¹⁸⁰

Infine, la talidomide ha dimostrato di essere efficace nel trattamento delle malattie mucocutanee come le ulcere aftose della bocca e dell'orofaringe nei pazienti con infezione da HIV e nella sindrome di Behcet.

¹⁷⁹ TRAMONTANA, J.M., [et al.], *Thalidomide Treatment Reduces Tumor Necrosis Factor α Production and Enhances Weight Gain in Patients with Pulmonary Tuberculosis*, «Mol Med», 1995, Vol. 1, Pag. 384–397

¹⁸⁰ REYES-TERÁN G. [et al.], *Effects of thalidomide on HIV-associated wasting syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial*, «AIDS (London, England)», 1996, Vol. 10, Issue 13, Pag. 1501-1507.

Conclusioni

Autorizzato nel 1957 per il trattamento della nausea gravidica, la talidomide ha segnato indelebilmente la storia del '900.

Sin dai primissimi anni di commercializzazione, infatti, si evidenziarono possibili correlazioni tra l'impiego del farmaco e la nascita di bambini con malformazioni, specialmente a carico degli arti superiori.

Le prime evidenze circa la presunta teratogenicità del farmaco e la poca chiarezza in merito al meccanismo d'azione dello stesso, spinsero la dr.ssa Frances Oldham Kelsey, farmacologa della FDA, a negare l'immissione in commercio del farmaco negli Stati Uniti.

Questa scelta si rivelò lungimirante, da lì a pochi anni; furono oltre 10.000 i bambini nati con malformazioni in tutto il mondo, un dato talmente sconcertante che portò, nel 1961, al ritiro formale dal commercio del farmaco.

Le ragioni per cui non fu evidenziato il potenziale teratogeno della talidomide sono molteplici. In primo luogo, la sperimentazione del farmaco era stata effettuata su modelli animali, nello specifico su topi, i quali non avevano mostrato nessun effetto teratogeno; all'epoca dei test di valutazione in materia di sicurezza ed efficacia, infatti, non era stato tenuto in considerazione un fattore fondamentale; la risposta ad un farmaco è fortemente specie-specifica.

Secondariamente, la vera comprensione dei meccanismi molecolari del farmaco arriverà solo decenni dopo la commercializzazione dello stesso e di conseguenza, la non piena conoscenza degli stessi, ha determinato l'approvazione dell'uso della talidomide in gravidanza.

Nel corso degli anni sono state avanzate varie ipotesi circa i meccanismi d'azione del farmaco; nel corso dell'elaborato sono state analizzate tre delle più accreditate volte a spiegare, da un lato, come il farmaco incida negativamente sulla crescita degli arti, determinando la sua azione teratogena, dall'altro, come il suddetto meccanismo e di conseguenza il farmaco stesso, possa essere impiegato a fini terapeutici.

La talidomide, infatti, oltre ad essere un potente inibitore dell'angiogenesi, è implicato nell'inibizione del *pathway* di NF-κB e, di conseguenza, dei geni coinvolti nella risposta immunitaria e infiammatoria.

Queste caratteristiche farmacodinamiche lo rendono potenzialmente efficace nel trattamento di patologie in cui vi sia un'alterata attivazione del *pathway* di NF-κB o, come nel caso dei tumori, una spiccata attività angiogenica coerente con la crescente richiesta metabolica da parte dello stesso.

Il primo riscontro circa l'efficacia della talidomide in clinica risale al 1964 quando, un dermatologo israeliano, decise di somministrare il farmaco, ad un paziente malato di lebbra, per il trattamento delle caratteristiche lesioni cutanee proprie della patologia.

L'inaspettata efficacia spinse ad ulteriori sperimentazioni portando alla sua ufficiale approvazione, nel 1998, per il trattamento dell'eritema nodoso lepromatoso; una reazione di tipo 2 che si manifesta nei pazienti con lebbra multibacillari, con un'incidenza del 50% nelle forme lepromatose.

La talidomide, infatti, mediante inibizione di TNFα e riduzione dell'espressione di IL-1β e IFN-γ è in grado di prevenire la formazione di lesioni cutanee e di noduli eritematosi, promuovere la guarigione delle lesioni preesistenti e di ridurre la sintomatologia dolorifica.

La scoperta dell'attività antiangiogenica della talidomide, ha aperto poi le porte per la sperimentazione del farmaco come agente antitumorale; Bart Barlogie, uno dei medici più esperti di mieloma multiplo dell'epoca, fu il primo ad effettuare un vero e proprio trial clinico per valutarne l'efficacia.

I risultati da lui ottenuti mostravano una chiara attività antitumorale in pazienti affetti da mieloma multiplo in stadio avanzato, una forma tumorale a carico del midollo osseo che provoca un'eccessiva proliferazione di plasmacellule.

Così, qualche anno dopo, nel 2006, la talidomide viene approvata dalla FDA per il trattamento del mieloma multiplo e due anni dopo, nel 2008, viene approvata anche dall'EMA.

Alla luce di quanto detto, la talidomide rappresenta, quindi, un chiaro esempio di come la conoscenza dei meccanismi d'azione dei farmaci sia di fondamentale importanza; un

farmaco che fino a 50 anni fa era ricordato per i suoi effetti devastanti oggi rappresenta il trattamento primario per la lebbra e una valida terapia contro il mieloma multiplo.

Inoltre, la storia della talidomide, ha segnato il punto di svolta per la definizione di un sistema di farmacovigilanza volto a raccogliere tutte le segnalazioni di effetti avversi riferibili ad un determinato farmaco.

Nonostante in fase di sperimentazione si possano evidenziare degli effetti avversi ad un farmaco, il bacino di analisi risulta, per forza di cose, estremamente ristretto; avere un sistema che consente, dunque, di monitorare a livello globale, tutti i possibili effetti avversi in fase post-marketing è necessario e imprescindibile.

In conclusione, dunque, il caso della talidomide, per quanto ancora ad oggi tristemente ricordato, è il chiaro esempio di come una tragedia di portata mondiale possa fungere da insegnamento e possa altresì essere il punto di partenza verso il progresso scientifico.

Bibliografia

- ALREHAILI J, *Leprosy Classification, Clinical Features, Epidemiology, and Host Immunological Responses: Failure of Eradication in 2023*, «Cureus», 2023, Vol. 15, Issue 9
- AVET-LOISEAU H. [et al.], *Oncogenesis of multiple myeloma*, «Blood», 2002, Vol.99, Pag. 2185-2191
- BALDUINI W., COSTA G.L., *Tossicologia generale e applicata ai farmaci*, Edra S.p.A., Milano, 5 ottobre 2015, pag 64, 101, 279-280
- BARLOGIE B. [et al.], *Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma*, «N Engl J Med.», November 1999, Vol 34, Issue 21, Pag.1565-1571.
- BARLOGIE B. [et al.], *Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients*, «Blood», 2001, Vol. 98, Issue 2, Pag. 492-494
- BARLOGIE B [et al.], *Treatment of multiple myeloma*, «Blood», 2004, Vol. 103, Pag. 20-32
- BARNES J.P. *Transcription Factors and Inflammatory Disease*, «Hospital Practise», 1996, Vol.31 Issue 6 Pag. 93-106
- BEGUIN Y. [et al.], *Erythropoiesis in multiple myeloma: defective red cell production due to inappropriate erythropoietin production*, «Br J Haematol», 1992, Vol. 82, n. 4, Pag. 648-653
- BERGSAGEL P.L, KUEHL W.M., *Molecular pathogenesis and a consequent classification of Multiple Myeloma*, «J Clin Oncol. », 2005, Vol. 23, Issue 26, Pag. 6333-6338
- BHAT, RAMESH M., [et al.], *What is New in the Pathogenesis and Management of Erythema Nodosum Leprosum*, «Indian Dermatology Online Journal», 2020, Vol. 11, Issue 4, Pag. 482-492
- BLIMARK C. [et al.], *Multiple myeloma and infections: a population-based study on 9253 multiple myeloma patients*, «Haematologica», 2015, Vol. 100, Pag. 107–113
- BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1560

- BONADONNA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA G., VALAGUSSA P., *Medicina oncologica*, Elsevier S.r.l, Milano, 1 Dicembre 2007, pag. 1563.
- BOSI A., DE STEFANO V., DI RAIMONDO F., LA NASA G., *Manuale di malattie del sangue*, Elsevier S.r.l., Milano, 2012, pag 139-151
- BOSI A., DE STEFANO V., DI RAIMONDO F., LA NASA G., *Manuale di malattie del sangue*, Elsevier S.r.l, Milano, 2012, pag. 154
- BRIGLE K., ROGERS B., *Pathobiology and Diagnosis of Multiple Myeloma*, «Seminars in Oncology Nursing», 2017, Vol. 33, Issue 3, Pag. 225-236
- CABRERA G., *Pharmacovigilance* «CINAHL Nursing Guide EBSCO Publishing», 2018
- CRONSTEIN B.N. [et al.], *Interleukin-6*, «Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases», 2007, Vol. 65, Pag. S12-13
- D'AMATO RJ, LOUGHNAN MS, FLYNN E, FOLKMAN J. *Thalidomide is an inhibitor of angiogenesis*, «Proc Natl Acad Sci U S A», 1994, 26;91(9):4082-5
- DEFRONZO R.A. [et al.], *Acute renal failure in multiple myeloma*, «Medicine (Baltimore)», 1975 Vol. 54, Pag. 209-23.
- DENNERY P.A., *Effects of oxidative stress on embryonic development*, «Birth Defects Research», 2007, Vol.81 Issue 3, pag. 155-162
- DIMOPOULOS M. [et al.], Pathogenesis and treatment of renal failure in multiple myeloma, «Leukemia», 2008, Vol. 22, Pag. 1485–1493
- DISPENZIERI A, KYLE A.R., *Multiple myeloma: clinical features and indications for therapy*, «Best Practice & Research Clinical Haematology», 2005, Vol.18, Issue 4, Pag. 553-568
- DRAKE J.C. *Embryonic and adult vasculogenesis*, «Embryo Today: Reviews», 2003, Vol.69, Issue 1, Pag. 73-82
- DUDLEY A.C., GRIFFIOEN A.W. *Pathological angiogenesis: mechanisms and therapeutic strategies*. «Angiogenesis» 2003 Vol.26, Pag. 313–347
- EDWARDS C.M. [et al.], *The pathogenesis of the bone disease of multiple myeloma*, «Bone», 2008, Vol. 42, Issue 6, Pag. 1007-1013
- ERIKSSON T., BJÖURKMAN S., ROTH B., FYGE A., HÖUGLUND P., *Stereospecific determination, chiral inversion in vitro and pharmacokinetics in humans of the enantiomers of thalidomide*, «Chirality», 1995, Vol 7, pag 44-52

- GADÓ, K., DOMJÁN, G., HEGYESI, H. AND FALUS, A., *Role of interleukin-6 in the pathogenesis of multiple myeloma*, «Cell Biology International», 2000, Vol. 24, Pag. 195-209
- GALSON D.L. [et al.], *Mechanisms of multiple myeloma bone disease*, «Bonekey Reports», 2012, 1:135
- GATZOULIS M. A., THERRIEN G. J., SWAN L., PANTELY G.A., *Cardiopatie congenite dell'adulto*, Springer Milano, 2007, Pag. 73-74
- GATZOULIS M. A., THERRIEN G. J., SWAN L., PANTELY G.A., *Cardiopatie congenite dell'adulto*, Springer Milano, 2007, Pag. 89-94
- GATZOULIS M. A., THERRIEN G. J., SWAN L., PANTELY G.A., *Cardiopatie congenite dell'adulto*, Springer Milano, 2007, Pag. 157-164
- GHOBRIAL IM, RAJKUMAR SV. *Management of thalidomide toxicity*, «J Support Oncol», 2003 Sep-Oct, 1(3): pag 194-205.
- HARRIS C. [[et al.]] *Misregulation of gene expression in the redox-sensitive NF- κ b-dependent limb outgrowth pathway by thalidomide*, «Developmental Dynamics», 05 September 2002, Vol.225, issue 2, pag. 186-194
- HALLENE K.L., OBY E. [et al.], *Prenatal exposure to thalidomide, altered vasculogenesis, and CNS malformations*, «Neuroscience», 2006, Vol 142, Issue 1, Pag. 267-283.
- HIGGINS JJ, PUCILOWSKA J, LOMBARDI RQ, ROONEY JP., *A mutation in a novel ATP-dependent Lon protease gene in a kindred with mild mental retardation*, «Neurology», November 2004, Vol. 63, Issue 10, Pag. 1927-31
- IYER CG, LANGUILLON J, [et al.], *co-ordinated short-term double-blind trial with thalidomide in the treatment of acute lepra reactions in male lepromatous patients*, «Bulletin of the World Health Organization», 1971; 45(6):719-32
- JACOBSON, J.M. [et al.], *Thalidomide for the treatment of oral aphthous ulcers in patients with human immunodeficiency virus infection*, «New England Journal of Medicine», 1997, Vol. 336, Issue 21, Pag. 1487-1493.
- KAORU MIYAZAKI, NAOKO NARITA, MASAOKI NARITA, *Maternal administration of thalidomide or valproic acid causes abnormal serotonergic neurons in the offspring: implication for pathogenesis of autism*, «ISDN», 02 July 2004, Vol. 23, Issue 2-3, Pag. 287-297

- KAPLAN, G., *Potential of thalidomide and thalidomide analogues as immunomodulatory drugs in leprosy and leprosy reactions*, «Lepr Rev», 2000, Vol. 71, suppl: S117
- KAPLAN, G., *Potential of thalidomide and thalidomide analogues as immunomodulatory drugs in leprosy and leprosy reactions*, «Lepr Rev», 2000, Vol. 71, suppl: S119
- KEATS J.J. [et al.], *In multiple myeloma, t(4;14) (p16;q32) is an adverse prognostic factor irrespective of FGFR3 expression*, «Blood», 2003, Vol. 101 (4), Pag. 1520–1529
- KEIFER J.A. [et al.] *Inhibition of NF-κB Activity by Thalidomide through Suppression of IκB Kinase Activity*, «Journal of Biological Chemistry», 2001, Vol. 276, Issue 25, Pag. 22382-22387
- KYLE R.A. [et al.], *The treatment of multiple myeloma using vincristine, carmustine, melphalan, cyclophosphamide, and prednisone (VBMCP) alternating with high-dose cyclophosphamide and alpha(2)beta interferon versus VBMCP: results of a phase III Eastern Cooperative Oncology Group Study E5A93*, «Cancer», 2009, Vol. 115, Pag. 2155-64.
- KUMAR V., ABBAS A. K., FAUSTO N., ASTER J.C., *Robbins e Cotran, Le basi patologiche delle malattie, patologia generale*, Elsevier, Milano, 2010, Pag. 98-100
- LASTÓRIA JC, MORGADO DE ABREU MAM. *Leprosy (part 1): review of the epidemiological, clinical and etiopathogenic aspects*, «An Bras Dermatol», 2014, Vol. 89, Issue 2, Pag. 205-218
- LECK I. M, MILLAR EL., *Incidence of malformations since the introduction of thalidomide*, «Br Med J.», Jul 1962, 7;2(5296): pag. 16-20
- LEE J. D. [et al.], *Integrated Pathways for Neutrophil Recruitment and Inflammation in Leprosy*, «The Journal of Infectious Diseases», 2010, Vol. 201, No. 4, Pag. 558-569
- LENZ W., *Malformations caused by drugs in pregnancy*, «Am J Dis Child», Volume 112, 1966, pag 99–106
- LENZ W., *A personal perspective on the thalidomide tragedy*, «Teratology», Volume 46, 1992, pag. 417–418

- LINGAPPAN K., *NF- κ B in oxidative stress*, «Current Opinion in Toxicology», 2018, Vol.7, pag. 81-86
- LOKAU J. [et al.], *Chapter seven – Activating mutations of the gp130/JAK/STAT pathway in human diseases*, Rossen Donev, Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, Academic Press, 2019, Vol. 116, Pag. 283-309
- LOKHORST H.M. *VAD chemotherapy for refractory multiple myeloma*, «British Journal of Haematology», 1989, Vol. 71, Pag. 25-30
- MANSOUR S., BAPLE E. [et al.] *A clinical review and introduction of the diagnostic algorithm for thalidomide embryopathy (DATE)*, «J Hand Surg Eur», Jan 2018, Vol. 44(1): 96-108
- MCBRIDE W. G., *Thalidomide and Congenital Abnormalities, Letter to the Editor*, «The Lancet 2», December 16, 1961: 1358.
- MICHELS TC, PETERSEN KE, *Multiple Myeloma: Diagnosis and Treatment*. «Am Fam Physician», 2017, Vol. 95, Issue 6, Pag. 373-383
- MITSIADES C.S., [et al.], *Focus on Multiple Myeloma*, «Cancer Cell», November 2004, Vol. 6 Num. 5, Pag. 439-444.
- MITTELMAN M, *The implications of anemia in multiple myeloma*, «Clin Lymphoma», 2003, Vol.4, Suppl 1, Pag. S23-9.
- MOORE K. L., PERSAUD T.V.N., TORCHIA M. G., *Lo sviluppo prenatale dell'uomo: Embriologia ad orientamento clinico*, Edra S.p.A. Milano, 2020, Pag. 363-367, 468
- MOREAU P. [et al.], *Frontline therapy of multiple myeloma*, «Blood», 2015, Vol. 125, Pag. 3076-3084
- MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 354
- MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 356
- MORONI M., ESPOSITO R., ANTINORI S., *Malattie infettive*, Edra S.p.A., Milano, 2014, Pag. 357
- NATSIS K., PIAGKOU M., SKOTSIMARA A. [et al.] *Horseshoe kidney: a review of anatomy and pathology* «Surg Radiol Anat», 2014, 36, pag 517–526

- NAVAS-APARICIO M.D.C., HERNÁNDEZ-CARMONA SJ. *Anoftalmía y microftalmía: descripción, diagnóstico y conducta de tratamiento. Revisión bibliográfica.* «Revista Mexicana de Oftalmología», 2008; 82(4):205-209.
- OANCEA M, MANI A, HUSSEIN MA, ALMASAN A., *Apoptosis of multiple myeloma*, «Int J Hematol», 2004, Vol. 80, Issue 3, Pag 228
- OCHONISKY S, VERROUST J, BASTUJI-GARIN S, GHERARDI R, REVUZ J., *Thalidomide neuropathy incidence and clinico-electrophysiologic findings in 42 patients*, «Arch Dermatol», January 1994 130(1):66-9
- OKAFOR M.C., *Thalidomide for erythema nodosum leprosum and other applications*, «Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy», 2003, Vol. 23, issue.4, Pag. 481-493.
- OLSON KB, HALL TC, HORTON J, KHUNG CL, HOSLEY HF. *Thalidomide (n-phthaloylglutamimide) in the treatment of advanced cancer*, «Clin Pharmacol Ther.», May 1965, Vol.6 Pag. 292-297
- PALUMBO A. [et al.], *Low-dose thalidomide plus dexamethasone is an effective salvage therapy for advanced myeloma*, «Haematologica», 2001, Vol. 86, No. 4
- PALUMBO A., FACON T. [et al.], *Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later*, «Blood», April 2008, Vol. 111, Issue 8, Pag. 3968–3977.
- PAPASEIT E., GARCÍA-ALGAR O., FARRÉ Y. M., *Thalidomide: an unfinished history*, «Helsevier Doyma», 2013; 78(5): pag. 283-287
- PRANAV M., TASNEEM A., *Crocodile Tears Syndrome*, «StatPearls Publishing»; Jan 2023
- RAMSENTHALER C. [et al.], *Prevalence of symptoms in patients with multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis*, «European Journal of Haematology», 2016, Vol. 97, Issue 5, Pag. 416-429
- RANG H. P., RITTER J.M., FLOWER R.J., HENDERSON G., *Farmacologia*, Edra S.p.A., Milano, 8 settembre 2016, pag. 777-778
- REYES-TERÁN G. [et al.], *Effects of thalidomide on HIV-associated wasting syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial*, «AIDS (London, England)», 1996, Vol. 10, Issue 13, Pag. 1501-1507.
- ROY P., SARKAR U.A, BASAK S., *The NF- κ B Activating Pathways in Multiple Myeloma.* «Biomedicines», 2018, Vol. 6 Pag. 59

- RUS C. [et al.], *Thalidomide in front line treatment in multiple myeloma: serious risk of venous thromboembolism and evidence for thromboprophylaxis*, «J Thromb Haemost», 2004, Vol. 2, Pag. 2063–5.
- SAKHUJA V. [et al.], *renal involvement in multiple myeloma: a 10-year study*, «Renal Failure», 2000, Vol. 22, Pag. 465-477
- SEN R., BALTIMORE D. *Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences*, «Cell», 1986, Vol.46 Issue 5, pag. 705-716
- SHESKIN J. *Thalidomide in lepra reaction*, «Int.J. Dermatol», 1975, Vol. 14, Issue 8, Pag. 575-576
- SIMONET W.S. [et al.], *Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density*, «Cell», 1997, Vol. 89, Issue 2, Pag. 309-319
- SMITHELLS RICHARD, NEWMAN CGH, *Recognition of thalidomide defects*, «J Med Genet». Oct 1992; 29(10): pag. 716–723.
- SOMERS GF. *Pharmacological properties of thalidomide (alpha-phthalimido glutarimide), a new sedative hypnotic drug*, «British Journal of Pharmacology and Chemotherapy», 1960 Mar; 15(1):111-6
- STEVE K. TEO [et al.], *Thalidomide in the treatment of leprosy*, «Microbes and Infection», 2012, Vol. 4, Issue 11, Pag. 1193-1202
- STEWART, J.P. [et al.], *Correlation of TACC3, FGFR3, MMSET and p21 expression with the t(4;14) (p16.3;q32) in multiple myeloma*, « British Journal of Haematology», 2004, Vol. 126, Issue 1, Pag. 72-76
- SWERDLOW S.H., [et al.] *The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms*, «Blood», 2016, Vol. 127, Pag. 2375-2390
- TAKUMI I., HIDEKI A., HIROSHI H., *Teratogenic effects of thalidomide: molecular mechanisms*, «Cell. Mol. Life Sci», 2011, 68, 1569–1579
- TAKUMI I., HIROSHI H., *Deciphering the mystery of thalidomide teratogenicity*, «Congenit Anom», Kyoto, 2012, Vol.52, Issue 1 Pag. 1-7.
- TAKUMI I., HIROSHI H., *Molecular mechanisms of thalidomide and its derivatives*. «Proceedings of the Japan Academy, Ser. B, Physical and Biological Sciences», 2020; 96(6):189-203

- TEO S. K., COLBURN WAYNE A., TRACEWELL W. G. [et al.], *Clinical Pharmacokinetics of Thalidomide*, «Clinical Pharmacokinetics », 2004, vol. 43, pag. 311–327
- THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8573
- THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8574
- THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8575
- THERAPONTOS C, ERSKINE L, GARDNER ER, FIGG WD, VARGESSON N., *Thalidomide induces limb defects by preventing angiogenic outgrowth during early limb formation*, «Proc Natl Acad Sci USA», 2009, Vol. 106 no. 21, pag. 8576
- TOUFAN P., WILEY M. J., WELLS P., *Free radical-mediated oxidative DNA damage in the mechanism of thalidomide teratogenicity*. «Nat Med», May 1999, 5, 582–585
- TRAMONTANA, J.M., [et al.], *Thalidomide Treatment Reduces Tumor Necrosis Factor α Production and Enhances Weight Gain in Patients with Pulmonary Tuberculosis*, «Mol Med», 1995, Vol. 1, Pag. 384–397
- TSENG BA S. [et al.], *Rediscovering thalidomide: A review of its mechanism of action, side effects, and potential uses*, «Journal of the American Academy of Dermatology», December 1996, Vol. 35, Issue 6, Pag. 975
- VARGESSON N., *Thalidomide-induced teratogenesis: History and mechanisms*, «Birth Defects Research», 4 June 2015, Vol 105: pag. 140-156
- VARGESSON N., FRAGA L., *Teratogenesis*, «eLS journal», 15 Dec 2017, pag. 1-7.

- VON MOOS R., STOLZ R., CERNY T., GILLESSEN S., *Thalidomide: from tragedy to promise*, «Swiss Medical Weekly», 2003; 133: pag. 77–87
- WATTS G., *Frances Oldham Kelsey* «Lancet», 3 Oct 2015; Vol 386 (10001).
- WITTSCHIEBEN B.Ø., WOOD R.D., *DBB complexities*, «DNA Repair», September 2003, Vol. 2, Issue 9, Pag. 1065-1069

Sitografia

- Centro nazionale per l'informazione biotecnologica. *Riepilogo del composto PubChem per CID 5426, Thalidomide*, PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thalidomide> (Accesso effettuato il 22 novembre 2023)
- Drugbank, *Thalidomide*, <https://go.drugbank.com/drugs/DB01041>. (Accesso effettuato il 22 novembre 2023)
- EU/3/01/067 - orphan designation for treatment of multiple myeloma: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu-3-01-067> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)
- International Agency for Research of Cancer: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/35-Multiple-myeloma-fact-sheet.pdf> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)
- MSD Manual, Julia Benedetti, <https://www.msdmanuals.com/it-it/casa/patologie-della-cute/patologie-della-cute-da-ipersensibilita-e-di-tipo-reattivo/sindrome-di-stevens-johnson-sjs-e-necrolisi-epidermica-tossica-net> (Accesso effettuato il 18 gennaio 2024)
- MSD Manual, Lee B. Beerman, <https://www.msdmanuals.com/it-it/professionale/pediatria/disturbi-cardiovascolari-congeniti/difetto-del-setto-atrioventricolare> (Accesso effettuato il 16 dicembre 2023)
- MSD Manual, Simeon A. Boyadjiev Boyd, Cleft Lip and Cleft Palate, <https://www.msdmanuals.com/home/children-s-health-issues/birth-defects-of-the-face,-bones,-joints,-and-muscles/cleft-lip-and-cleft-palate> (Accesso effettuato il 22 novembre 2023).
- National Cancer Institute: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/mulmy.html> (Accesso effettuato il 20 dicembre 2023)
- Regolamento UE 1235/2010 entrato in vigore il 2 luglio 2012, https://www.aifa.gov.it/documents/20142/808717/regolamento_ue_12352010_0.pdf/4d7145e5-6b9c-95e5-6eb3-8603eaf995b?t=1560838154298
- Thalidomide <https://www.vigiaccess.org> (Accesso effettuato il 18 dicembre 2023)

- V. art. 1, comma 1, lett. a) Direttiva n. 2010/84/UE entrata in vigore 21 luglio 2012,
https://www.aifa.gov.it/documents/20142/648668/dir_2010_84_it_0.pdf/b9932078-18b6-011c-8780-1e703514041c
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, *International drug monitoring: the role of national centres, report of a WHO meeting*, 1972
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/40968/WH?sequence=1>
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Leprosy, <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leprosy> (Accesso effettuato il 20 gennaio 2024)
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, Weekly epidemiological record, 15 settembre 2023, No 37, Pag. 409-430
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372812/WER9837-eng-fre.pdf?sequence=1> (Accesso effettuato il 20 gennaio 2024).

Ringraziamenti

Vorrei dedicare queste righe finali a coloro che, in questo lungo percorso, mi hanno accompagnata e sostenuta.

Mi riferisco in primo luogo ai miei genitori e a mia sorella Martina, poiché senza di loro non sarei qui a scrivere queste parole; vorrei ringraziare la mia mamma, colei che ha sempre creduto in me e mi è stata vicina, in ogni mio momento di sconforto, con una parola di incoraggiamento. Al mio papà, il quale mi ha sempre spronata a dare il meglio e a non arrendermi di fronte agli ostacoli.

Vorrei ringraziare le mie amiche; in particolare Elena, con la quale ho condiviso, seppur per poco tempo, le ore di studio più divertenti, oltre che tanti momenti spensierati e le amiche dell'università, che sono state di supporto e hanno reso questi lunghi anni più piacevoli.

Desidero altresì spendere due parole per il prof. Salvatore Terrazzino, il relatore del presente elaborato, il quale, con estrema gentilezza e disponibilità, mi ha accompagnata in quest'ultima importante fase del mio percorso accademico.

Non posso non ringraziare la persona che mi è stata accanto in questi ultimi due anni, la cui comprensione, incoraggiamento e i preziosi consigli sono stati fondamentali; parlo di Antonio. Non mi dilungherò con frasi troppo sdolciate, lo sai che non mi appartiene; tuttavia, voglio ringraziarti per essere arrivato lungo il mio percorso e averlo riempito di amore.

In conclusione, un doveroso ringraziamento va a me stessa in quanto, nonostante tutto, sei riuscita a dimostrarti che se vuoi puoi.

Giorgia Radaelli