- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

Recenti Prog Med 2021; 112: e75-e84

Terapia della malattia di Fabry: focus su agalsidasi alfa e agalsidasi beta

ROBERT NISTICÒ[1], ANTONIO PISANI[2]

[1]Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata"; European Brain Research Institute (EBRI) "Rita Levi-Montalcini" Foundation, Roma; [2]Cattedra di Nefrologia, Dipartimento di Sanità Pubblica, Università Federico II, Napoli.

Pervenuto il 3 settembre 2021. Accettato il 14 settembre 2021.

Riassunto. La malattia di Fabry (MF) è una malattia da accumulo lisosomiale X-linked, dovuta al deficit dell'enzima α-galattosidasi A (α-Gal A) con conseguente accumulo di glicosfingolipidi in gran parte di cellule e tessuti, che determina una malattia multisistemica. I maschi emizigoti presentano la forma classica della malattia, con tutti i caratteristici segni neurologici (dolore), cutanei (angiocheratomi), renali (proteinuria e insufficienza renale), cardiovascolari (cardiomiopatia e aritmie) e cerebrovascolari (attacchi ischemici transitori, ictus), mentre le femmine eterozigoti possono presentare un coinvolgimento variabile da forme asintomatiche a forme severe. L'insufficienza renale terminale e le complicanze cardiache e cerebrovascolari riducono le aspettative di vita dei pazienti non trattati. Nel maschio la diagnosi si pone con la dimostrazione del difetto enzimatico dell'α-Gal A, mentre nella donna tale metodo non è conclusivo a causa della lyonizzazione, per cui è necessario il test genetico. Le opzioni terapeutiche per la malattia di Fabry comprendono la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) e la terapia chaperonica orale con migalastat. Due differenti prodotti, agalsidasi alfa e beta, sono utilizzati in Europa da ormai 20 anni per la ERT. Diversi trial clinici, studi osservazionali e dati dei registri hanno dimostrato la sicurezza e l'efficacia della ERT nel controllo dei sintomi e della progressione della malattia. Agalsidasi alfa e beta sono due proteine ricombinanti pressoché identiche sebbene siano utilizzate clinicamente con un diverso schema posologico. In questo articolo ci proponiamo di chiarire le differenze tra le due ERT e come queste possano influire sulle caratteristiche farmacocinetiche/farmacodinamiche (PK/PD) e in ultimo sul profilo rischio/beneficio. La molecola chaperonica migalastat, disponibile in Europa dal 2016, è l'unica terapia orale per la FD, che agisce stabilizzando specifiche forme mutate di enzima definite "amenable". Numerose terapie sono in corso di studio in diverse fasi di trial clinici. Queste includono la forma PEGilata dell'α-Gal A (pegunigalsidasi alfa), la terapia genica (con metodiche sia *in vivo* che *ex vivo*), la terapia con mRNA e la terapia di riduzione del substrato (inibitori della glucosilceramide sintasi).

Parole chiave. Agalsidasi alfa, agalsidasi beta, chaperone, farmacocinetica, immunogenicità, malattia di Fabry, terapia enzimatica sostitutiva.

The treatment for Fabry disease: focus on agalsidase alpha and beta

Summary. Fabry disease (FD) is an X-linked lysosomal storage disorder resulting from the deficiency of the hydrolytic enzyme α-galactosidase A (α-Gal A), with consequent accumulation of globotrioasoylceramide in cells and tissues of the body, resulting in a multi-system pathology. Classically affected hemizygous males may display all the characteristic neurological (pain), cutaneous (angiokeratoma), renal (proteinuria, kidney failure), cardiovascular (cardiomyopathy, arrhythmia), and cerebrovascular (transient ischemic attacks, strokes) signs of the disease, while heterozygous females have symptoms ranging from very mild to severe. End-stage renal disease and cardiovascular or cerebrovascular complications limit life-expectancy of untreated patients. Demonstration of α-Gal A deficiency is the definitive method for the diagnosis of hemizygous males, while it's often inconclusive due to random X-chromosomal inactivation so that molecular testing (genotyping) of females is mandatory. The treatment options for FD are enzyme replacement therapy (ERT), and the oral pharmacological chaperone migalastat. Two different products, agalsidase alfa and agalsidase beta, have been commercially available in Europe for 20 years and they are both indicated for long-term ERT. In fact, clinical trials, observational studies and registry data have provided abundant evidence for the safety and efficacy of ERT in improving symptoms and disease progression. Agalsidase alpha and beta are two almost identical recombinant proteins although they are used clinically with a different dosage regimen. In this chapter we aim to clarify the differences between the two ERTs and how these can affect the pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) characteristics and ultimately the risk/benefit profile. The chaperone migalastat, available in Europe since 2016, is the only oral treatment for FD, and acts stabilizing specific mutant forms of α-Gal, defined "amenable" to migalastat. A multitude of therapies are now under investigation in various phases of clinical trials. These include pegylated form of α-Gal (pegunigalsidase alpha), gene therapy (both in-vivo and ex-vivo methods), mRNA therapy (inducing production of α-Gal) and substrate reduction therapy (inhibitors of glucosylceramide synthase leading to reduction of Gb-3).

Key words. Agalsidase alfa, agalsidase beta, chaperone, enzyme replacement therapy, Fabry disease, immunogenicity, pharmacokinetics.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

Definizione, patogenesi ed epidemiologia

La malattia di Fabry (MF) è un disordine legato al cromosoma X, in cui mutazioni del gene GLA determinano un deficit dell'enzima α-galattosidasi A (α-Gal A) e conseguente progressivo accumulo lisosomiale di glicosfingolipidi (GL) non degradati, principalmente globotriaosilceramide (Gb3), in cellule e tessuti dell'organismo[1]. L'accumulo di Gb3 all'interno dei lisosomi dei diversi tipi cellulari provoca una patologia multisistemica, con prevalente coinvolgimento di cuore, reni e sistema nervoso[1]. Il processo di accumulo lisosomiale inizia precocemente in epoca fetale[2]; tuttavia, i primi sintomi appaiono solitamente tra i 3 e i 10 anni nei maschi, e più tardi nelle femmine[3].

Esistono oltre 1000 mutazioni note del gene GLA, e la maggior parte dei pazienti presenta mutazioni "private" (famiglia-specifiche).

La malattia colpisce uomini e donne di tutti i gruppi etnici con un'incidenza di 1:40.000-1:117.000, sebbene studi di screening neonatale abbiano evidenziato un'incidenza variabile tra 1:3100[2] e 1:1250 nei maschi[4].

Quadro clinico

La MF è una malattia mutisistemica, con prevalente coinvolgimento cardiaco, renale e del sistema nervoso centrale. Le attuali conoscenze sul corso della patologia suggeriscono che sarebbe più appropriato descrive la malattia di Fabry come una patologia con un ampio spettro di fenotipi clinici con progressione variabile. Questo spettro varia dai fenotipi "classici" severi nei maschi a forme apparentemente asintomatiche osservate talvolta nelle femmine, con una ampia varietà di fenotipi intermedi[1].

I segni e i sintomi iniziali della MF insorgono durante l'infanzia e l'adolescenza e includono tipicamente: dolore, che può essere di 2 tipi, cronico con acroparestesie o crisi dolorose neuropatiche, prevalentemente localizzate alle estremità, e tipicamente scatenate da esercizio fisico, stress, febbre e rapidi cambiamenti di temperatura[5]; angiocheratomi, prevalentemente localizzati nelle aree sottombelicali, che tendono ad aumentare di numero e dimensioni con l'età[6]; ipoidrosi o anidrosi, con ridotta tolleranza a caldo e freddo e all'esercizio fisico[7]; problemi gastrointestinali, tra cui diarrea, costipazione, dolori addominali, nausea e vomito[8]; e cornea verticillata, un segno considerato patognomonico[9].

Il maggior coinvolgimento d'organo tipicamente ha un esordio clinico tra i 20 e i 30 anni.

Il danno renale si presenta pressoché in tutti i maschi affetti da MF, con proteinuria moderata seguita da una riduzione progressiva del filtrato glomerulare, fino al raggiungimento della fase dialitica, intorno ai 40 anni[10]. La malattia cardiaca, che comprende lo sviluppo progressivo di ipertrofia ventricolare sinistra, ispessimento valvolare e anomalie della conduzione, è anch'essa comune[11]. L'ictus è frequente con una prevalenza maggiore del 7% nei registri dei pazienti Fabry[12], e altrettanto frequenti sono le alterazioni evidenziate alla risonanza magnetica dell'encefalo[13]. Altri sintomi riportati nella MF sono cefalea[14], tinnito[14], vertigini[15], ipoacusia neurosensoriale bilaterale[15], coinvolgimento respiratorio (con respiro sibilante, tosse e dispnea durante lo sforzo)[16], facies caratteristica[17], alterazioni endocrinologiche, osteopenia[18], depressione e riduzione della qualità della vita[19]. Le patologie d'organo sono progressive e sono le principali cause di morbilità e di morte precoce nei pazienti con MF. Il coinvolgimento d'organo comporta anche una significativa riduzione della qualità di vita con un'aspettativa di vita ridotta di circa 15-20 anni[1].

Diagnosi

La presentazione della MF è generalmente eterogenea, i sintomi sono spesso sfumati e prevalentemente aspecifici, per cui si possono riscontrare in differenti altre patologie; inoltre, la maggior parte dei principali danni d'organo si manifesta in età adulta, per cui la diagnosi è spesso tardiva e i pazienti sono costretti a visitare vari specialisti prima di arrivare alla diagnosi corretta. Diversi dati della letteratura mostrano che il ritardo diagnostico per entrambi i generi è di circa 15 anni[20]. In caso di sospetto di MF, per confermare la diagnosi sono necessari il dosaggio enzimatico dell'α-Gal A e l'esame genetico[21]. La dimostrazione del difetto dell'attività dell'enzima α-Gal A nel plasma o nei leucociti dovrebbe essere utilizzata sistematicamente per confermare la diagnosi nei maschi, nei quali i risultati possono essere ritenuti conclusivi[22]. Al contrario, le donne possono presentare anche un'attività enzimatica nei range di normalità[23] a causa dell'inattivazione random del cromosoma X per il fenomeno della lyonizzazione[24], per cui la conferma diagnostica necessita del test genetico[25]. Del resto, nel maschio, la conferma con l'analisi molecolare è fondamentale per la definizione della mutazione responsabile, poiché oltre a genotipi noti e riconducibili a varianti classiche, è possibile riscontrare altri genotipi associati a fenotipi atipici tardivi (*late-onset*) e altri ancora del tutto sconosciuti, di cui quindi non si sa come possano evolvere sotto l'aspetto fenotipico (variants of uncertain significance - VUS)[26]. L'analisi molecolare diretta è semplice date le piccole dimensioni del gene GLA, e consente la precisa caratterizzazione della mutazione.

Anche se non utili per la diagnosi, i livelli plasmatici di un metabolita del Gb3, globotriaosilsfingosina o Lyso-Gb3, rivestono un ruolo molto importante come biomarcatori di malattia[27]. In particolare, il Lyso-Gb3 è pressoché assente nella popolazione non affetta, così come in gran parte dei casi riportati di polimorfismi, mentre è elevato nelle varianti patogene, dove è strettamente correlato con la severità della malattia[28,29]. In questo secondo caso, è più elevato nei maschi che nelle femmine e nelle forme classiche ri-

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

spetto alle varianti atipiche o tardive[30-32]. Nelle varianti classiche, la sua concentrazione tende ad aumentare con l'età e con la comparsa dei sintomi[33]. Inoltre, il Lyso-Gb3 è anche un marcatore di efficacia della terapia, poiché diminuisce sensibilmente nei pazienti in trattamento con la terapia enzimatica o chaperonica già nelle prime settimane dall'avvio del trattamento, e tale riduzione si mantiene nel tempo.

Diagnosi differenziale

Nell'infanzia, la MF entra in diagnosi differenziale con le altre patologie caratterizzate dal dolore, come artrite reumatoide, febbre reumatica, lupus eritematoso sistemico, malattia di Raynaud e "dolori della crescita". Nell'età adulta, la celiachia e la sclerosi multipla sono le diagnosi differenziali più frequenti, soprattutto nelle donne.

Terapia

Due distinte proteine ricombinanti sono disponibili dal 2001 per la terapia enzimatica sostitutiva dei pazienti con MF: l'agalsidasi alfa (Replagal®) e l'agalsidasi beta (Fabrazyme®). Numerosi studi hanno mostrato che i due enzimi ricombinanti possiedono identiche proprietà biochimiche e sono paragonabili per composizione amminoacidica, attività specifica, stabilità e uptake da parte di fibroblasti in coltura, e presentano alcune differenze nel tipo di glicosilazione e nell'uptake cellulare mediato dal recettore del mannosio-6-fosfato. Sia l'agalsidasi alfa che l'agalsidasi beta contengono α-Gal A umana ricombinante, ma sono prodotte differentemente e sono approvate per la somministrazione a dosi diverse[34]. L'agalsidasi alfa è prodotta in una linea cellulare umana mediante attivazione genica, ed è somministrata in infusione endovenosa alla dose di 0,2 mg/kg a settimane alterne, mentre l'agalsidasi beta è prodotta in cellule ovariche di criceto cinese mediante tecniche ricombinanti ed è somministrata in infusione endovenosa alla dose di 1,0 mg/kg ogni 2 settimane[34].

Le evidenze accumulate in questi 20 anni dall'introduzione della terapia enzimatica sostitutiva hanno confermato che essa sia in grado di prevenire o al limite arrestare la progressione della malattia, e che la sua efficacia dipenda principalmente dalla tempestività con cui viene iniziata[35,36]. Dati più recenti dimostrano, inoltre, che l'efficacia della terapia enzimatica dipenda anche dalla dose somministrata, e che una maggior quantità di enzima biodisponibile possa determinare una maggiore stabilizzazione della malattia, non soltanto in termini di segni cardiaci o renali (spessore del setto, proteinuria, istologia renale) ma anche in termini di marcatori di malattia (come i livelli di Lyso-Gb3)[37,38]. Dal 2016 è disponibile la terapia chaperonica con migalastat, in grado di stabilizzare l'enzima endogeno residuo, presente nel siero ma non biodisponibile perché destrutturato e incapace di entrare nella cellula. Correggendo il misfolding dell'enzima, il migalastat si è dimostrato in grado di ripristinare la sua capacità di entrare nella cellula attraverso un meccanismo chaperonico e di ripristinare la funzione di degradazione dei glicolipidi. Tale farmaco, somministrato per via orale, è indicato quindi nei pazienti con mutazioni missenso definite "amenable"[39]. Le evidenze disponibili a oggi hanno mostrato che il farmaco è sicuro e ben tollerato, e la sua efficacia è in gran parte sovrapponibile alla terapia enzimatica sostitutiva[40].

Oltre ai farmaci attualmente disponibili in commercio, vi sono diverse terapie in fase di trial clinico.

Il pegunigalsidase alfa, una forma PEGilata dell'agalsidasi di origine vegetale e a somministrazione endovenosa, è attualmente oggetto di un trial di fase 3. In uno studio su 16 pazienti per 12 mesi, il pegunigalsidase ha dimostrato la capacità di stabilizzare la funzione renale e la massa ventricolare sinistra. Inoltre, esso presenterebbe, rispetto alle due formulazioni di agalsidasi alfa e beta attualmente in commercio, il vantaggio di avere una più lunga emivita con conseguente maggiore biodisponibilità tissutale, e soprattutto una minore immunogenicità (solo il 19% dei pazienti presentava la comparsa di anticorpi neutralizzanti)[41]. In corso di studio è il lucerastat, un iminozucchero che, attraverso l'inibizione dell'enzima glucosilceramide sintetasi, riduce la produzione dei glicosfingolipidi. Il vantaggio di tale terapia orale è che può essere utilizzata indipendentemente dal tipo di mutazione. L'impiego preliminare di lucerastat in una limitata coorte di pazienti con MF ha dimostrato una significativa riduzione di Lyso-Gb3 nel plasma[42]. Infine, sono in corso sperimentazioni con la terapia genica[43], che potrebbe cambiare radicalmente la storia naturale della malattia.

Agalsidasi alfa e agaslidasi beta

Sebbene le sequenze polipeptidiche di agalsidasi alfa (Replagal®) e agalsidasi beta (Fabrazyme®) siano identiche, le due terapie enzimatiche sostitutive (ERT) sono state approvate dalla European Medicines Agency (EMA) con un diverso schema posologico. In particolare, agalsidasi alfa viene somministrata alla dose di 0,2 mg/kg di peso corporeo una volta ogni due settimane, mediante infusione endovena della durata di 40 minuti[44]. Agalsidasi beta viene somministrata alla dose di 1,0 mg/kg di peso corporeo una volta ogni due settimane, per infusione endovenosa a una velocità non superiore a 15 mg/ora durante la prima infusione. Dopo aver stabilito la tolleranza del paziente, la velocità di infusione può essere aumentata gradualmente con le infusioni successive[45].

Di conseguenza, si è creata confusione sul perché due composti pressoché "identici" possiedano differenti dosaggi raccomandati. Ciò potrebbe in linea teorica portare alla erronea deduzione che si possa utilizzare lo stesso schema posologico per entrambi i prodotti.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

Su tali premesse, risulta importante chiarire le differenze tra le due proteine e come esse possano influire sul profilo PK/PD, e in ultimo sul profilo rischio/beneficio; e come questo in definitiva spieghi perché i due prodotti hanno regimi di dosaggio diversi.

Di seguito analizzeremo, per le due terapie enzimatiche sostitutive, i processi di produzione, le strutture molecolari, il potenziale immunogenico e le principali caratteristiche farmacodinamiche e farmacocinetiche.

Processi di produzione e strutture molecolari

I due enzimi sono prodotti in diverse linee cellulari e utilizzano diversi approcci di modulazione genica[46,47]. Agalsidasi alfa è la proteina α-Gal A umana prodotta con tecniche di ingegneria genetica in linee cellulari umane[44]. Ciò porta all'attivazione della trascrizione *in situ* e all'espressione della proteina endogena, aggirando dunque la necessità di clonazione e inserimento del gene umano in un vettore esogeno[48]. Oltre ad avere sequenze di amminoacidi identiche all'enzima nativo, i prodotti di attivazione genica dovrebbero altresì possedere gli stessi pattern di glicosilazione, e ciò potrebbe avere implicazioni cliniche sulla sicurezza ed efficacia rispetto all'agaslidasi beta[49,50].

L'agalsidasi beta è una forma ricombinante della α-Gal A umana ed è prodotta mediante tecnologia del DNA ricombinante, ovvero attraverso l'inserzione del gene α-Gal A nelle colture cellulari di ovaio di criceto cinese (CHO)[45]. La sequenza di amminoacidi della forma ricombinante, così come la sequenza di nucleotidi che l'ha codificata, sono identiche alla forma naturale della α-Gal A. Questo è un sistema ben consolidato di espressione proteica, che produce in modo efficiente la sequenza di amminoacidi nativa. Tuttavia, l'uso di una linea cellulare non umana porta a un diverso profilo di glicosilazione[51].

I differenti processi di produzione sono rappresentati in figura 1[46].

Le diverse linee cellulari utilizzate per produrre agalsidasi alfa e agalsidasi beta portano a differenze nella loro struttura molecolare. Nello specifico, i due prodotti possiedono diversi residui amminoacidici nel dominio C-terminale, ma sequenze amminoacidiche identiche nei siti attivi[46,47,50] e un diverso pattern di glicosilazione nei siti di attacco dei carboidrati legati a dominio N-terminale che può influenzare la composizione di carboidrati complessi e le diverse proporzioni di carboidrati sialilati e fosforilati[52-55].

I due sistemi utilizzati per produrre agalsidasi alfa e agalsidasi beta portano a diversità molecolari significative tra i due enzimi che in ultimo possono influenzare la risposta alla dose. Tra esse ricordiamo differenze nel pattern di glicosilazione, nella catena di amminoacidi della catena C-terminale[46,47,50,52-55], nella purezza della preparazione[46,47,50] e nelle caratteristiche farmacocinetiche[44,45,50].

I profili di glicosilazione dei due prodotti proteici sono mostrati nella tabella 1[56].

Dal punto di vista della produzione, il grado di sialilazione di una glicoproteina è cruciale poiché la sialilazione influisce sulla sua funzione. Per esempio, la sialilazione può condizionare l'assorbimento, l'emivita sierica e la clearance delle glicoproteine dal siero

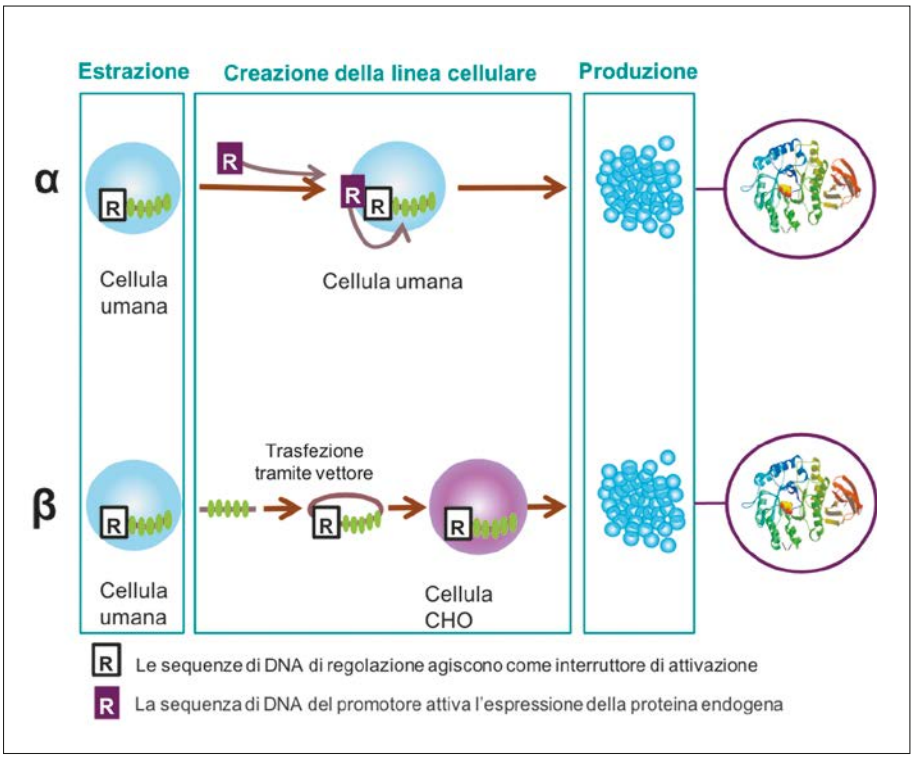

Figura 1. Processi di produzione per agalsidasi alfa e agalsidasi beta. *Modificata da*: Garman e Garboczi[46].

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

Tabella 1. Differenti profili di glicosilazione del prodotto proteico.

Profilo umano di glicosilazione naturale	Impatto	Cellula CHO	Cellula umana
Sialilazione	Sensibilità alla proteolisi; eliminazione	Variabile	35-40%
Acido N-acetilneuraminico	Struttura glucidica umana	Elevato	100%
Acido N-glicolilneuraminico	Immunogenico	Basso	Assente
Legame 2-6	Sconosciuto	Assente	Variabile
α1-3Gal	Aumento della velocità di eliminazione	Variabile	Assente
N-acetil-D-glucosamine nei punti di ramificazione	Inibisce la fucosilazione del core	Assente	100%
Mancanza di fucosilazione del core	Aumento della tossicità cellulare mediata da anticorpi e del legame di Fcγ	5%	5%
Strutture G0	Aumento della dimerizzazione; G2 aumenta la tossicità dal sistema del complemento	Variabile	Basso

Modificata da: Rose et al.[56].

e alterarne le proprietà fisiche, chimiche e immunogeniche[57]. In particolare, la sialilazione delle glicoproteine aumenta la biodisponibilità agli organi bersaglio proteggendo l'enzima dall'essere internalizzato negli epatociti tramite i recettori asialoglicoproteici presenti su queste cellule[47]. Sebbene entrambi gli enzimi sintetici abbiano la stessa quantità di acido sialico sul rapporto molare, agalsidasi beta è considerato più altamente sialilato semplicemente a causa del rapporto acido sialico/galattosio più elevato rispetto ad agalsidasi alfa. Inoltre, a differenza di agalsidasi alfa, agalsidasi beta contiene l'acido N-glicolilneuraminico (NGNA), un acido sialico che si trova nella maggior parte dei mammiferi, pur essendo assente nei tessuti umani[58-60].

La sovraespressione nelle cellule CHO e l'analisi strutturale degli oligosaccaridi *N-linked* hanno rivelato che gli oligosaccaridi dell'enzima agalsidasi beta secreto erano notevolmente eterogenei e differivano anche dal pool intracellulare[61]. Difatti, l'enzima secreto aveva strutture ad alto mannosio (63%), complesse (30%) e ibride (5%). Circa il 30% delle strutture complesse era mono- o disialilato, rappresentate principalmente da NGNA. Al contrario, l'enzima intracellulare aveva solo piccole quantità di catene complesse (8%) e aveva elevati oligosaccaridi di mannosio (92%). Nessuno degli oligosaccaridi complessi era sialilato. Pertanto, la sovraespressione dell'α-Gal A umana nelle cellule CHO ha portato a diverse strutture di oligosaccaridi sulle glicoforme secrete e intracellulari. Le forme secrete altamente eterogenee sono sorte presumibilmente a causa della sovraespressione nelle cellule CHO unitamente alla ridotta glicosilazione nell'apparato di Golgi[61].

L'agalsidasi alfa e l'agalsidasi beta inoltre differiscono per i loro residui nel dominio C-terminale, con specie troncate prive di uno o due residui[46,47,50]. Per l'agalsidasi alfa, la specie molecolare predominante (73%) è una variante priva di una leucina C-terminale[50]. Per l'agalsidasi beta invece, la specie predominante (70%) è la proteina a lunghezza intera[50]. Sebbene sia stato dimostrato che la delezione di amminoacidi nel dominio C-terminale dell'α-Gal A ne influenzi l'attività enzimatica[62,63], non è possibile stabilire precise differenze tra le due terapie enzimatiche sostitutive. Difatti, risultati di studi *in vitro* che esaminano le attività enzimatiche specifiche di agalsidasi alfa e beta presentano una serie di limitazioni, e dalla letteratura emergono risultati discordanti[50,64,65].

Immunogenicità

Le diverse tecniche di produzione utilizzate per produrre agalsidasi alfa e agalsidasi beta portano a differenze nei loro profili di immunogenicità, inclusa la formazione di anticorpi anti-farmaco[66,67]. In particolare, la maggior parte dei pazienti sviluppa anticorpi IgG alla agaslidasi beta, normalmente entro 3 mesi dalla prima infusione di Fabrazyme®[45], mentre il 24% circa dei pazienti di genere maschile in terapia ha sviluppato un basso titolo di anticorpi IgG anti-Replagal®[44]. La presenza di questi anticorpi può avere un impatto negativo sul profilo rischio/beneficio[68-70]. Gli anticorpi contro le ERT possono anche neutralizzare gli enzimi endogeni in pazienti che presentano un'attività enzimatica residua (soprattutto in pazienti di genere femminile). È stato riportato che NGNA può comportarsi da xenoantigene causando importanti reazioni immunitarie; inoltre, si ritiene che gli anticorpi anti-NGNA possano causare infiammazione cronica[58-60] e rigetto acuto di xenotrapianti[71]. In generale, le risposte anticorpali di base contro i glicani non umani possono portare alla formazione di immunocomplessi, all'attivazione del complemento, e a uno stato di infiammazione cronica sistemica[59]. Inoltre,

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

potrebbero provocare una risposta immunitaria secondaria, tardiva e più specifica, contro la struttura proteica dell'enzima terapeutico somministrato per infusione[59].

Non esistono studi comparativi su larga scala che confrontino l'immunogenicità di entrambe le terapie sostitutive in pazienti naïve al trattamento. Inoltre mancano standard internazionali per valutare i test anticorpali; difatti studi clinici hanno utilizzato criteri diversi per valutare la formazione di anticorpi in risposta alle due preparazioni di agalsidasi. La migliore evidenza comparativa fino a oggi proviene da due studi clinici condotti con metodologia comparabile nella stessa popolazione di pazienti; uno di essi è rappresentato da uno studio comparativo in aperto[66,72]. Pazienti trattati con agalsidasi beta mostrano generalmente un'incidenza statisticamente più alta di anticorpi anti-ERT rispetto a quelli trattati con agalsidasi alfa[44,45,68]. Inoltre, la presenza di anticorpi IgE risulta meno frequente rispetto ad anticorpi IgG e comunque non è stata riscontrata in pazienti che ricevevano agalsidasi alfa. Occorre tener presente che non è possibile effettuare confronti diretti tra i due prodotti sulla base dei risultati di questi studi individuali a singolo braccio. In un altro studio di confronto, l'agalsidasi beta si associava a tassi di sieroconversione più elevati e a un numero maggiore di reazioni correlate all'infusione rispetto all'agalsidasi alfa alle dosi approvate[73]. Ulteriori dati clinici suggeriscono che le due ERT producono comparabili livelli di anticorpi anti-farmaco, sebbene questi studi presentino limiti metodologici[74,75]. In generale, si raccomanda il monitoraggio periodico degli anticorpi IgG anti-agalsidasi, soprattutto in pazienti di genere maschile che presentano mutazioni più severe (specialmente in quelli con assenza di α-Gal A)[68]. Tuttavia l'impatto clinico di anticorpi anti-farmaco rimane poco chiaro e merita ulteriori indagini.

Farmacocinetica: studi clinici di dose-finding

Replagal®

Replagal® è indicato come terapia enzimatica sostitutiva a lungo termine in pazienti con diagnosi confermata di MF (carenza di α-Gal A). Replagal® viene somministrato a settimane alterne a una dose di 0,2 mg/kg di peso corporeo mediante infusione endovenosa della durata di 40 minuti[44].

I principali studi clinici *dose-finding* che hanno portato allo schema posologico stabilito sono di seguito riportati. Il primo studio effettuato, TKT001, è uno studio di fase I che ha studiato gli effetti di una dose ascendente singola di agalsidasi alfa, somministrata a cinque diversi livelli di dose (0,3, 0,6, 1,2, 2,3 e 4,7 unità/kg di peso corporeo). In nove pazienti su dieci, l'agalsidasi alfa ha ridotto significativamente i livelli di globotriaosilceramide (Gb3) nel fegato e nelle cellule epiteliali tubulari renali nel sedimento urinario. Questi risultati hanno dimostrato che singole infusioni di agalsidasi alfa preparate da fibroblasti umani trasfettati – essendo tale studio eseguito antecedentemente alla formulazione commerciale – risultavano ben tollerate e biochimicamente attive[76]. Tale studio ha inoltre stabilito la dose/frequenza ottimale per ottenere la massima riduzione di Gb3a, ovvero 0,2 mg/kg somministrato a settimane alterne (every other week - EOW). Occorre notare che il razionale per le infusioni EOW derivava dalla precedente esperienza con Replagal® nella malattia di Gaucher.

Il seguente studio TKT027 era uno studio di fase I/II, della durata di 10 settimane, che mirava a determinare le proprietà farmacocinetiche di cinque diverse dosi di agalsidasi alfa: 0,1, 0,2 o 0,4 mg/kg a settimana; e 0,2 mg/kg EOW, 0,4 mg/kg EOW. Lo studio ha anche valutato gli effetti della dose e della frequenza di dosaggio sui livelli plasmatici di Gb3. I risultati dello studio hanno mostrato che la riduzione di Gb3 plasmatica era indipendente dalla dose o dalla frequenza della dose. In ogni caso, tali risultati hanno indicato che la dose approvata di agalsidasi alfa (0,2 mg/kg EOW) era sufficiente per fornire la massima riduzione dei livelli plasmatici di Gb3[77].

Più recentemente, lo studio TKT028[78] ha ulteriormente confermato gli studi TKT001 e TKT027, sebbene lo studio TKT028 non era stato disegnato per rilevare differenze statistiche fra i tre bracci di trattamento considerati (0,2 mg/kg a settimana, 0,2 mg/kg EOW e 0,4 mg/kg a settimana). Difatti, tale studio è stato condotto come parte di un impegno post-marketing con l'EMA ed è stato progettato per valutare l'efficacia e la sicurezza dell'agalsidasi alfa alla dose di 0,2 mg/kg a settimana rispetto a 0,2 mg/kg EOW. Sono state eseguite solo analisi esplorative per la dose settimanale di 0,4 mg/kg. I risultati di questo studio mostrano che 0,2 mg/kg EOW è efficace e ben tollerato.

Pochi studi hanno esaminato gli effetti dell'agalsidasi alfa utilizzando regimi di dosaggio che differiscono dalle dosi approvate. Per esempio la dose di 0,2 mg/kg a settimana e 0,4 mg/kg a settimana hanno entrambi migliorato la progressione di alcune manifestazioni cliniche della MF[77]. Tuttavia, non si notava alcuna differenza significativa negli esiti cardiaci tra i regimi di dosaggio di 0,2 mg/kg settimanali e 0,2 mg/kg EOW; pertanto l'aumento della dose a settimana potrebbe non fornire ulteriori benefici cardiaci, anche in base alle caratteristiche di ciascun paziente. Inoltre, la funzione renale era stabile in tutti i gruppi di trattamento, tuttavia il tasso di filtrazione glomerulare stimato (eGFR) si normalizzava solo nei pazienti con malattia renale cronica di stadio 1A. L'agalsidasi alfa è risultata generalmente sicura e ben tollerata, con percentuali di pazienti che hanno manifestato reazioni correlate all'infusione e hanno sviluppato anticorpi anti-agalsidasi alfa paragonabili alle precedenti evidenze[77].

In conclusione, per agalsidasi alfa, i dati clinici confermano che 0,2 mg/kg EOW risulta essere la dose ottimale dal punto di vista del rischio-beneficio per la maggior parte dei pazienti[77,78]. Alcuni studi hanno inoltre indicato che alcuni pazienti non responder possono trarre beneficio da una dose più elevata (0,2 mg/kg a settimana)[79].

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

Fabrazyme®

Fabrazyme® è indicato per la terapia enzimatica sostitutiva a lungo termine nei pazienti con diagnosi confermata di MF (deficit di α-Gal A). La dose consigliata di Fabrazyme® è 1 mg/kg di peso corporeo, somministrato una volta ogni 2 settimane come infusione endovenosa[45].

Eng et al.[80] hanno condotto uno studio di fase I/II, monocentrico, in aperto, con intervallo di dose, condotto su 15 pazienti maschi adulti con MF. Lo scopo dello studio era studiare gli effetti delle infusioni endovenose di cinque diversi regimi di dosaggio di agalsidasi beta. I pazienti in ciascun gruppo di trattamento (n=3 per gruppo) hanno ricevuto cinque infusioni consecutive di agalsidasi beta alle seguenti dosi/frequenze (Gruppo A: 0,3 mg/kg EOW; Gruppo B: 1,0 mg/kg EOW; Gruppo C: 3,0 mg/EOW; kg EOW; Gruppo D: 1,0 mg/kg ogni 48 ore; Gruppo E: 3,0 mg/kg ogni 48 ore). Sono stati valutati vari parametri farmacocinetici, istologici, clinici e di sicurezza.

In relazione ai parametri farmacocinetici, la clearance plasmatica era dose-dipendente, mentre l'emivita terminale non era influenzata dalla dose. Inoltre, la clearance plasmatica di Gb3 era dose dipendente per le dosi EOW, ma la sua clearance risultava inferiore nel gruppo in cui Fabrazyme® veniva somministrato ogni 48 ore rispetto allo schema EOW.

In relazione ai parametri clinici, in 13 pazienti i livelli di Gb3 nel fegato si sono ridotti dell'84% rispetto al basale. In 4 pazienti su 5, i livelli di Gb3 erano notevolmente ridotti anche nel rene. In 4 pazienti su 7, i livelli di Gb3 erano modestamente ridotti nell'endomiocardio. In generale, il trattamento causava meno dolore e affaticamento, una maggiore capacità di sudare e una migliore qualità della vita correlata alla salute (HRQoL) rispetto al basale. Occorre notare che 8 pazienti (53%) hanno sviluppato anticorpi IgG (non neutralizzanti), 4 pazienti hanno manifestato reazioni allergiche e 2 hanno interrotto il trattamento.

Le implicazioni cliniche di questo studio *dose-finding* sono che il dosaggio ogni 48 ore era nel complesso meno efficace del dosaggio EOW, il che contraddice l'ipotesi che un dosaggio più frequente e una dose cumulativa più elevata portino a risultati migliori. Tuttavia, tale studio presenta una serie di limitazioni. Per esempio, le biopsie renali erano disponibili solo nel gruppo di dosaggio EOW di 3,0 mg/kg ma non nel gruppo di dosaggio EOW di 1,0 mg/kg (ovvero la dose approvata). Inoltre, solo un numero limitato di pazienti aveva campioni di biopsia tissutale (fegato, n=13; rene, n=5, cuore, n=7). L'unico effetto dose-dipendente era la clearance del Gb3 plasmatico. Inoltre, non è stato condotto alcuno studio a dosi crescenti multiple (per es., aumento della dose da 0,6 a 1,0 a 1,6 mg/kg).

Pochi studi hanno esaminato gli effetti dell'agalsidasi beta utilizzando regimi di dosaggio che differiscono dalle dosi approvate. Tali studi hanno comunque dimostrato che dosi inferiori a 1,0 mg/kg EOW sono associate al peggioramento dei sintomi della malattia[74,81]. Uno studio ha mostrato come la riduzione o la clearance di Gb3 in diversi tipi di cellule renali è stata ottenuta con 1,0 mg/kg di agalsidasi beta EOW ed è stata mantenuta nel 70-90% dei pazienti trattati con 0,3 mg/kg EOW[82]. Tali prove sono però limitate; difatti la maggiore incidenza degli eventi avversi corrispondeva all'aumento del numero di pazienti che ricevevano la dose ridotta. In effetti, alla dose di 0,3 mg/kg EOW è stato osservato un aumento delle manifestazioni cliniche indicative della progressione della malattia. Pertanto, l'agalsidasi beta a basso dosaggio deve essere generalmente limitata ai pazienti che rimangono stabili.

Conclusioni

Le sopracitate differenze tra le due terapie enzimatiche sostitutive relative ai processi di produzione, chimica farmaceutica e farmacologia (farmacocinetica) ne giustificano il diverso profilo PK/PD che si riflette sul differente regime di dosaggio registrato in relazione all'ottimale rapporto rischio/beneficio. Difatti, se tali differenze possono da un lato giustificare effetti clinici comparabili alle diverse dosi approvate, dall'altro esse possono anche spiegare il diverso impatto nel potenziale immunogenico[68] e nell'incidenza di effetti avversi tra le due ERT[83].

Attualmente, non esistono studi testa a testa che abbiano confrontato l'efficacia clinica a lungo termine dei due preparati enzimatici in popolazioni ben caratterizzate e fenotipicamente omogenee. Peraltro, essendo la MF una malattia rara, è inverosimile che tali studi vengano effettuati su campioni sufficientemente grandi da consentire una significatività statistica attendibile. I due ERT sono attualmente considerati la terapia gold standard per la MF e l'esperienza clinica ventennale ha ampiamente dimostrato come Replagal® e Fabrazyme®, alle dosi registrate, abbiano ottenuto risultati paragonabili in termini di efficacia e sicurezza, offrendo a medici e pazienti un'arma terapeutica affidabile. Rimane sempre importante il timing di inizio della terapia onde evitare situazioni compromesse. In presenza di una mancata o non ottimale risposta, o laddove siano presenti effetti avversi, sono anche ipotizzabili switch tra i due farmaci soprattutto in fase precoce, evitando dunque situazioni troppo avanzate. Occorre considerare che nuovi approcci terapeutici sono attualmente in sperimentazione; tra questi, ricordiamo terapie basate sulla deprivazione del substrato o terapia genica.

Conflitto di interessi: gli autori dichiarano l'assenza di conflitto di interessi.

Bibliografia

1. Germain DP. Fabry disease. Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 30.
2. Popli S, Leehey DJ, Molnar ZV, Nawab ZM, Ing TS. Demonstration of Fabry's disease deposits in placenta. Am J Obstet Gynecol 1990, 162: 464-5.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

3. Hopkin RJ, Bissler J, Banikazemi M, et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry. Pediatr Res 2008; 64: 550-5.
4. Spada M, Pagliardini S, Yasuda M, et al. High incidence of later-onset Fabry disease revealed by newborn screening. Am J Hum Genet 2006; 79: 31-40.
5. Charrow J. A 14-year-old boy with pain in hands and feet. Pediatr Ann 2009; 38: 190-2.
6. Orteu CH, Jansen T, Lidove O, et al. Fabry disease and the skin: data from FOS, the Fabry Outcome Survey. Br J Dermatol 2007; 157: 331-7.
7. Kang WH, Chun SI, Lee S. Generalized anhidrosis associated with Fabry's disease. J Am Acad Dermatol 1987; 17: 883-7.
8. Hoffmann B, Schwarz M, Mehta A, Keshav S. Gastrointestinal symptoms in 342 patients with Fabry disease: prevalence and response to enzyme replacement therapy. Clin Gastroenterol Hepatol 2007; 5: 1447-53.
9. Orssaud C, Dufier J, Germain DP. Ocular manifestations in Fabry disease: a survey of 32 hemizygous male patients. Ophthalmic Genet 2003; 24: 129-39.
10. Pisani A, Visciano B, Imbriaco M, et al. The kidney in Fabry disease. Clin Genet 2014; 86: 301-9.
11. Vardarli I, Weber M, Rischpler C, et al. Fabry Cardiomyopathy: current treatment and future options. J Clin Med 2021; 10: 3026.
12. Sims K, Politei J, Banikazemi M, Lee P. Stroke in Fabry disease frequently occurs before diagnosis and in the absence of other clinical events: natural history data from the Fabry Registry. Stroke 2009; 40: 788-94.
13. Fellgiebel A, Keller I, Marin D, et al. Diagnostic utility of different MRI and MR angiography measures in Fabry disease. Neurology 2009; 72: 63-8.
14. Keilmann A, Hajioff D, Ramaswami U. Ear symptoms in children with Fabry disease: data from the Fabry Outcome Survey. J Inherit Metab Dis 2009; 32: 739-44.
15. Germain DP, Avan P, Chassaing A, Bonfils P. Patients affected with Fabry disease have an increased incidence of progressive hearing loss and sudden deafness: an investigation of twenty-two hemizygous male patients. BMC Med Genet 2002; 3: 10.
16. Rosenberg DM, Ferrans VJ, Fulmer JD, et al. Chronic airflow obstruction in Fabry's disease. Am J Med 1980; 68: 898-905.
17. Cox-Brinkman J, Vedder A, Hollak C, et al. Three-dimensional face shape in Fabry disease. Eur J Hum Genet 2007; 15: 535-42.
18. Germain DP, Benistan K, Khatchikian L, Mutschler C. [Bone involvement in Fabry disease]. Med Sci (Paris) 2005; 21: 43-4.
19. Sadek J, Shellhaas R, Camfield CS, Camfield PR, Burley J. Psychiatric findings in four female carriers of Fabry disease. Psychiatr Genet 2004; 14: 199-201.
20. Hayashi Y, Hanawa H, Jiao S, et al. Elevated endomyocardial biopsy macrophage-related markers in intractable myocardial diseases. Inflammation 2015; 38: 2288-99.
21. Linthorst GE, De Rie MA, Tjiam KH, Aerts JM, Dingemans KP, Hollak CE. Misdiagnosis of Fabry disease: importance of biochemical confirmation of clinical or pathological suspicion. Br J Dermatol 2004; 150: 575-7.
22. Mayes JS, Scheerer JB, Sifers RN, Donaldson ML. Differential assay for lysosomal alpha-galactosidases in human tissues and its application to Fabry's disease. Clin Chim Acta 1981; 112: 247-51.
23. Linthorst GE, Vedder AC, Aerts JM, Hollak CE. Screening for Fabry disease using whole blood spots fails to identify one-third of female carriers. Clin Chim Acta 2005; 353: 201-3.
24. Lyon MF. Gene action in the X-chromosome of the mouse (mus musculus L.). Nature 1961; 190: 372-3.
25. Germain DP, Benistan K, Angelova L. [X-linked inheritance and its implication in the diagnosis and management of female patients in Fabry disease]. Rev Med Int 2010; 31: S209-S214.
26. Ortiz A, Germain DP, Desnick RJ, et al. Fabry disease revisited: management and treatment recommendations for adult patients. Mol Genet Metab 2018; 123: 416-27.
27. Aerts JM, Groener JE, Kuiper S, et al. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2008; 105: 2812-7.
28. Rombach SM, Dekker N, Bouwman MG, et al. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestations of Fabry disease. Biochim Biophys Acta 2010; 1802: 741-8.
29. Maruyama H, Miyata K, Mikame M, et al. Effectiveness of plasma lyso-Gb3 as a biomarker for selecting highrisk patients with Fabry disease from multispecialty clinics for genetic analysis. Genet Med 2019; 21: 44-52.
30. Lukas J, Giese AK, Markoff A, et al. Functional characterisation of alpha-galactosidase A mutations as a basis for a new classification system in Fabry disease. PLoS Genet 2013; 9: e1003632.
31. Smid BE, van der Tol L, Biegstraaten M, et al. Plasma globotriaosylsphingosine in relation to phenotypes of Fabry disease. J Med Genet 2015; 53: 262-8.
32. Noeak A, Mechtler T, Kasper DC, Desnick RJ. Correlation of Lyso-Gb3 levels in dried blood sposts and sera from patients with classic and Later-Onset Fabry disease. Mol Genet Metab 2017; 121: 320-4.
33. Spada M, Kasper D, Pagliardini V, et al. Metabolic progression to clinical phenotype in classic Fabry disease. Ital J Pediatr 2017; 43: 1.
34. Pisani A, Visciano B, Roux GD, et al. Enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: state of the art and review of the literature. Mol Genet Metab 2012; 107: 267-75.
35. Ramaswami U, Beck M, Hughes D, et al. FOS Study Group. Cardio-renal outcomes with long-term agalsidase alfa enzyme replacement therapy: a 10-year Fabry Outcome Survey (FOS) analysis. Drug Des Devel Ther 2019; 13: 3705-15.
36. Bichet DG, Torra R, Wallace E, et al. Long-term follow-up of renal function in patients treated with migalastat for Fabry disease. Mol Genet Metab Rep 2021; 28: 100786.
37. Warnock DG, Mauer M. Fabry disease: dose matters. J Am Soc Nephrol 2014; 25: 653-5.
38. Lenders M, Neußer LP, Rudnicki M, et al. Dose-dependent effect of enzyme replacement therapy on neutralizing antidrug antibody titers and clinical outcome in patients with Fabry disease. J Am Soc Nephrol 2018; 29: 2879-89.
39. Johnson FK, Mudd PN, Bragat A, et al. Pharmacokinetics and safety of migalastat HCl and effects on agalsidase activity in healthy volunteers. Clin Pharmacol Drug Dev 2013; 2: 120-32.
40. Hughes DA, Nicholls K, Shankar SP, et al. Oral pharmacological chaperone migalastat compared with enzyme replacement therapy in Fabry disease: 18-month results from the randomised phase III ATTRACT study. J Med Genet 2017; 54: 288-96.
41. Schiffmann R, Goker-Alpan O, Holida M, et al. Pegunigalsidase alfa, a novel PEGylated enzyme replacement therapy for Fabry disease, provides sustained plasma concentrations and favorable pharmacodynamics: a 1-year Phase 1/2 clinical trial. J Inherit Metab Dis 2019; 42: 534-44.
42. Guérard N, Oder D, Nordbeck P, et al. Lucerastat, an iminosugar for substrate reduction therapy: tolerability, pharmacodynamics, and pharmacokinetics in patients with Fabry disease on enzyme replacement. Clin Pharmacol Ther 2018; 103: 703-11.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

43. Autologous stem cell transplantation of cells engineered to express alpha-galactosidase A in patients with Fabry disease. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02800070.
44. Replagal®. Summary of Product Characteristics, Takeda.
45. Fabrazyme®. Summary of Product Characteristics, Genzyme Therapeutics.
46. Garman SC, Garboczi DN. The molecular defect leading to Fabry disease: structure of human alpha-galactosidase. J Mol Biol 2004; 337: 319-35.
47. Bekri S. Importance of glycosylation in enzyme replacement therapy. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G (eds). Fabry disease: perspectives from 5 years of FOS. Oxford: Oxford PharmaGenesis, 2006.
48. Moran N. Shire's replacement enzymes validate gene activation. Nat Biotechnol 2010; 28: 1139-41.
49. Datta P, Linhardt RJ, Sharfstein ST. An -omics approach towards CHO cell engineering. Biotechnol Bioeng 2013; 110: 1255-71.
50. Lee K, Jin X, Zhang K, et al. A biochemical and pharmacological comparison of enzyme replacement therapies for the glycolipid storage disorder Fabry disease. Glycobiology 2003; 13: 305-13.
51. Iannou YA, Bishop DF, Desnick RJ. Overexpression of human alfa-galactosidase A results in its intracellular aggregation, crystallization in lysosomes, and selective secretion. J Cell Biol 1992; 119: 1137-50.
52. Togawa T, Takada M, Aizawa Y, Tsukimura T, Chiba Y, Sakuraba H. Comparative study on mannose 6-phosphate residue contents of recombinant lysosomal enzymes. Mol Genet Metab 2014; 111: 369-73.
53. Zhou Q, Kyazike J, Edmunds T, Higgins E. Mannose 6-phosphate quantitation in glycoproteins using high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. Anal Biochem 2002; 306: 163-70.
54. Zhu Y, Jiang JL, Gumlaw NK, et al. Glycoengineered acid alpha-glucosidase with improved efficacy at correcting the metabolic aberrations and motor function deficits in a mouse model of Pompe disease. Mol Ther 2009; 17: 954-63.
55. Barbey F, Hayoz D, Widmer U, Burnier M. Efficacy of enzyme replacement therapy in Fabry disease. Curr Med Chem Cardiovasc Hematol Agents 2004; 2: 277-86.
56. Rose T, Winkler K, Brundke E, Ingo J, Sandig V. Alternative strategies and new cell lines for high-level production of biopharmaceuticals. In: Knäblein J (ed). Modern biopharmaceuticals: design, development and optimization. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2008.
57. Bork K, Horstkorte R, Weidemann W. Increasing the sialylation of therapeutic glycoproteins: the potential of the sialic acid biosynthetic pathway. J Pharm Sci 2009; 98: 3499-508.
58. Varki A. Uniquely human evolution of sialic acid genetics and biology. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107: 8939-46.
59. Ghaderi D, Taylor RE, Padler-Karavani V, Diaz S, Varki A. Implications of the presence of N-glycolylneuraminic acid in recombinant therapeutic glycoproteins. Nat Biotechnol 2010; 28: 863-7.
60. Samraj AN, Pearce OM, Laubli H, et al. A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression. Proc Natl Acad Sci U S A 2015; 112: 542-7.
61. Matsuura F, Ohta M, Ioannou YA, Desnick RJ. Human alpha-galactosidase A: characterization of the N-linked oligosaccharides on the intracellular and secreted glycoforms overexpressed by Chinese hamster ovary cells. Glycobiology 1998; 8: 329-39.
62. Meghdari M, Gao N, Abdullahi A, Stokes E, Calhoun DH. Carboxyl-terminal truncations alter the activity of the human alpha-galactosidase A. PLoS One 2015; 10: e0118341.
63. Miyamura N, Araki E, Matsuda K, et al. A carboxy-terminal truncation of human alpha-galactosidase A in a heterozygous female with Fabry disease and modification of the enzymatic activity by the carboxy-terminal domain. Increased, reduced, or absent enzyme activity depending on number of amino acid residues deleted. J Clin Invest 1996; 98: 1809-17.
64. Sakuraba H, Murata-Ohsawa M, Kawashima I, et al. Comparison of the effects of agalsidase alfa and agalsidase beta on cultured human Fabry fibroblasts and Fabry mice. J Hum Genet 2006; 51: 180-8.
65. Blom D, Speijer D, Linthorst GE, Donker-Koopman WG, Strijland A, Aerts JM. Recombinant enzyme therapy for Fabry disease: absence of editing of human alpha-galactosidase A mRNA. Am J Hum Genet 2003; 72: 23-31.
66. Vedder AC, Breunig F, Donker-Koopman WE, et al. Treatment of Fabry disease with different dosing regimens of agalsidase: effects on antibody formation and GL-3. Mol Genet Metab 2008; 94: 319-25.
67. Hollak CE, Vedder AC, Winchester B, et al. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: towards a better understanding of the implications of antibody formation and dose. Mol Genet Metab 2008; 95: 239-40.
68. Deegan PB. Fabry disease, enzyme replacement therapy and the significance of antibody responses. J Inherit Metab Dis 2012; 35: 227-43.
69. Linthorst GE, Hollak CEM, Donker-Koopman WE, et al. Enzyme therapy for Fabry disease: neutralizing antibodies toward agalsidase alpha and beta. Kidney Int 2004; 66: 1589-95.
70. Ohashi T, Sakuma M, Kitagawa T, et al. Influence of antibody formation on reduction of globotriaosylceramide (GL-3) in urine from Fabry patients during agalsidase beta therapy. Mol Genet Metab 2007; 92: 271-3.
71. Zhu A, Hurst R. Anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies identified in healthy human serum. Xenotransplantation 2002; 9: 376-81.
72. Vedder AC, Linthorst GE, Houge G, et al. Treatment of Fabry disease: outcome of a comparative trial with agalsidase alfa or beta at a dose of 0.2 mg/kg. PLoS One 2007; 2: e598.
73. Smid BE, Hoogendijk SL, Wijburg FA, et al. A revised home treatment algorithm for Fabry disease: Influence of antibody formation. Mol Genet Metab 2013; 108: 132-7.
74. Lenders M, Canaan-Kühl S, Krämer J, et al. Patients with Fabry disease after enzyme replacement therapy dose reduction and switch: 2-year follow-up. J Am Soc Nephrol 2016; 27: 952-62.
75. Goker-Alpan O, Gambello MJ, Maegawa GH, et al. Reduction of plasma globotriaosylsphingosine levels after switching from agalsidase alfa to agalsidase beta as enzyme replacement therapy for Fabry disease. JIMD Rep 2016; 25: 95-106.
76. Schiffmann R, Murray GJ, Treco D, et al. Infusion of alpha-galactosidase A reduces tissue globotriaosylceramide storage in patients with Fabry disease. Proc Natl Acad Sci U S A 2000; 97: 365-70.
77. Clarke JT, West ML, Bultas J, et al. The pharmacology of multiple regimens of agalsidase alfa enzyme replacement therapy for Fabry disease. Genet Med 2007; 9: 504-9.
78. Goláň L, Goker-Alpan O, Holida M, et al. Evaluation of the efficacy and safety of three dosing regimens of agalsidase alfa enzyme replacement therapy in adults with Fabry disease. Drug Des Devel Ther 2015; 9: 3435-44.
79. Schiffmann R, Swift C, Wang X, Blankenship D, Ries M. A prospective 10-year study of individualized, intensified enzyme replacement therapy in advanced Fabry disease. J Inherit Metab Dis 2015; 38: 1129-36.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.145.178.106 Sun, 28 Apr 2024, 18:45:57

80. Eng CM, Banikazemi M, Gordon RE, et al. A phase 1/2 clinical trial of enzyme replacement in Fabry disease: pharmacokinetic, substrate clearance, and safety studies. Am J Hum Genet 2001; 68: 711-22.
81. Weidemann F, Kramer J, Duning T, et al. Patients with Fabry disease after enzyme replacement therapy dose reduction versus treatment switch. J Am Soc Nephrol 2014; 25: 837-49.
82. Lubanda JC, Anijalg E, Bzduch V, Thurberg BL, Benichou B, Tylki-Szymanska A. Evaluation of a low dose, after a standard therapeutic dose, of agalsidase beta during enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease. Genet Med 2009; 11: 256-64.
83. El Dib R, Gomaa H, Ortiz A, Politei J, Kapoor A, Barreto F. Enzyme replacement therapy for Anderson-Fabry disease: a complementary overview of a Cochrane publication through a linear regression and a pooled analysis of proportions from cohort studies. PLoS One 2017; 12: e0173358.

Indirizzo per la corrispondenza:
Prof. Robert Nisticò
E-mail: robert.nistico@gmail.com
Prof. Antonio Pisani
E-mail: antonio.pisani13@gmail.com